**1 Experimento 1 palitos**

Este experimento se realiza con el objetivo de analizar comportamiento de cepa silvestre y mutante ante la presencia de una barra de madera natural sumergida en medio rico en diferentes concentraciones, esta barra de madera provee la única fuente de carbono para el crecimiento bacteriano. El medio del agar donde se encuentra posada la barra es medio MS ½ sin fuente de carbono.

La observación del experimento se realiza durante 6 días o tiempos consecutivos

**Nomenclatura de imágenes:**

**BpI.1** : cepa mutante (sin percepción de pares)

**PsJN WT / WT** : cepa silvestre

**Conc 0 / Conc 0,5 / Conc 1** : son las diferentes concentraciones de sustrato que fue sumergida la barra de madera 0 es el control negativo que fue sumergida en agua, concentración 0,5 es sumergida a una dilución al 50% del sustrato y la concentración 1 es el sustrato o medio rico de forma directa.

**BpI 1 1 / BpI 1 2:** En estos casos es el mismo experimento pero con diferentes zoom de la lupa en cepa mutante. El objetivo fué que se viera mas evidentemente el halo que se hace. **Considerar sólo las 1 1** ya que son el mismo zoom de todas las imágenes

**Datos de interés para este experimento (en cada tiempo)**

1. Tamaño promedio de colonia
2. Distancia promedio entre colonias
3. Distancia a la barra de madera ( esto con el objetivo de demostrar esta en el caso de la BpI y su halo de inhibición en torno a la barra)

**\*\*** Solo si es posible, sería bueno además hacer los mismos análisis pero con la imagen dividida en dos secciones: una que este más cercana a la barra y otra más lejana. Esto seria bueno ya que efectivamente el patrón de las colonias se ve diferencia en estas dos regiones y como se considera el promedio, podría no mostrar una diferencia significativa.

**4 Experimento 2 AT %**

La incorporación de azucares como la sacarosa en el medio sólido donde se encuentra la planta es necesario para que las bacterias logren ser visibles a simple vista, si esto no se incorpora las bacterias crecen de igual manera en torno a la raíz pero estas no logran formar colonias visibles pues la planta en esta etapa de crecimiento no provee de forma suficiente los recursos necesarios para que la bacteria crezca de forma visible.

Este experimento fue diseñado para encontrar el porcentaje ideal de sacarosa que se debía incorporar al medio solido para que las colonias bacterianas que crezcan en torno a la planta de *Arabidopsis thaliana* (AT) fueran visibles sin sobre colonizar la raíz. Para ello se probó distintas concentraciones, para efecto de análisis de imágenes solo se guardaron 2 porcentajes 0,1% y 0,25 % los cuales lograban el objetivo planteado y es gracias a este experimento que finalmente se selecciona como protocolo oficial la incorporación de 01% de sacarosa.

La obtención de imágenes fue realizada durante 5 días/tiempos consecutivos

**Nomenclatura de imágenes:**

Tienen el siguiente orden:

Cepa – concentración de sacarosa – Número de zoom

**BpI.1** : cepa mutante (sin percepción de pares)

**PsJN WT / WT** : cepa silvestre

**Control neg:** control negativo el cual no se incorpora ningún tipo de bacteria

**0,1%/ 0,25% :** es el porcentaje de sacarosa incorporado en el medio sólido

**Numero de Zoom (1 / 2 / 3 / 4):** los diferentes números muestran a la planta con diferentes zoom, la idea del 1 es que se vea el tamaño total, el numero 2 con foco en las hojas e inicio de la raíz, 3 y 4 foco solo en la raíz con la colonización bacteriana.

**Datos de interés para este experimento (en cada tiempo)**

1. Tamaño promedio de colonia (zoom 3/4)
2. Distancia promedio entre colonias (zoom 3/4)
3. Existe algún patrón distinto? (zoom 3/4)
4. Cantidad de colonias por unidad de superficie (zoom 3/4)
5. Tamaño de la planta (si es que se puede) (zoom 1/2)
6. Área de roseta: es el área verde de la planta ( si es que se puede) (zoom 1/2)

\*\* Especial énfasis en las de 01%, si las que están con 0,25% presentan mucho ruido en torno a la raíz por sobre colonización omitirlas y concentrarse solo en los primeros tiempos

**5 Experimento AT**

Una vez que ya se había estandarizado el protocolo experimental para una obtención de imágenes más “limpia” se repitió el experimento con plantas de *Arabidopsis thaliana* (AT) sobre un medio solido de MS ½ incorporando un porcentaje de 0,1% de sacarosa. Con la intención de generar mayor robustez en el análisis estadístico del experimento se incorporó 10 replicas por condición con el objetivo de generar conclusiones generales de comportamiento de cada cepa.

Se establecen para el experimento 3 condiciones: Plantas inoculadas con BpI (mutante), otras con PsJN WT (silvestre) y unas que no fueron inoculadas con bacterias que corresponden al control negativo.

La obtención de imágenes se realizó durante 6 días/tiempos consecutivos.

**Nomenclatura de imágenes:**

Tienen el siguiente orden:

Cepa – Número de la replica – Número de zoom

**BpI.1** : cepa mutante (sin percepción de pares)

**WT** : cepa silvestre

**CN:** control negativo el cual no se incorpora ningún tipo de bacteria

**Número de replica (1..10):** se incorporó 10 replicas para las condiciones BpI y WT, en el caso del control negativo sólo se realizaron 5 replicas. El numero de la replica se mantiene en todos los tiempos medidos, esto quiere decir que la imagen de la replica 1 en el tiempo 1 es la misma replica que se captura en el tiempo 2, 3, 4 y así sucesivamente.

**Numero de Zoom (1 / 2 / 3 / 4):** los diferentes números muestran a la planta con diferentes zoom, la idea del 1 es que se vea el tamaño total, el numero 2 con foco en las hojas y en el área de roseta, 3 y 4 foco solo en la raíz con la colonización bacteriana.

**Datos de interés para este experimento (en cada tiempo)**

1. Tamaño promedio de colonia (zoom 3/4)
2. Distancia promedio entre colonias (zoom 3/4)
3. Existe algún patrón distinto? (zoom 3/4)
4. Cantidad de colonias por unidad de superficie (zoom 3/4)
5. Tamaño de la planta (si es que se puede) (zoom 1)
6. Área de roseta: es el área verde de la planta (zoom 2)

**7 Experimento palito Exudado**

Este experimento se orienta a repetir los experimentos con la barra de madera antes mencionada, con la diferencia que ésta vez el medio rico en que se sumerge dicha barra es en exudados reales de plantas. Por problemas técnicos de contaminación solo pudimos realizar el experimento en la cepa silvestre de PsJN.

Se realizaron dos replicas por condición y se consideran 3 condiciones: 0X, 0,5X y 1X

La obtención de imágenes se realizó durante 6 días/tiempos consecutivos.

**Nomenclatura de imágenes:**

Tienen el siguiente orden:

Cepa – Concentración de exudado – Replica -Número de zoom

**WT** : cepa silvestre

**Concentración de exudado (0X, 0,5X y 1X**): son las diferentes concentraciones de exudado en que fue sumergida la barra de madera 0X es el control negativo que fue sumergida en agua, concentración 0,5 es sumergida a una dilución al 50% del exudado y la concentración 1 es el exudado en forma directa

**Replicas**: se realizaron 2 replicas para cada condición de concentración de exudado

**Número de zoom: (1 / 2):** los diferentes zoom que fué sacada la imagen, 1 muestra el palito mas alejado y el 2 ya tiene foco en las colonias y en uno de los extremos del palito.

**Datos de interés para este experimento (en cada tiempo)**

1. Tamaño promedio de colonia
2. Distancia promedio entre colonias
3. Distancia a la barra de madera ( esto con el objetivo de demostrar esta en el caso de la BpI y su halo de inhibición en torno a la barra)

**\*\*** Solo si es posible, sería bueno al igual que en el experimento 1 hacer el análisis pero pero con la imagen dividida en dos secciones: una que este más cercana a la barra y otra más lejana. Esto seria bueno ya que efectivamente el patrón de las colonias se ve diferencia en estas dos regiones y como se considera el promedio, podría no mostrar una diferencia significativa.