

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Facultad de Ciencias de la Vida

Evaluación de la potencial actividad benéfica del rizobioma de banano sobre la
sanidad del cultivo en plantaciones de El Oro

Proyecto de Titulación

Previo la obtención del Título de:

Máster en Sanidad Vegetal

Presentado por:

Francisco Andres Ugarte Barco

Guayaquil - Ecuador

Año: 2025

Declaración Expresa

Yo, Francisco Andres Ugarte Barco, acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al autor que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 8 de abril del 2025.

Francisco Andres Ugarte Barco

Evaluadores

Ing. Diego Fernando Quito Ávila, PhD

Tutor de proyecto

Ing. Adriana Patricia Santos Ordoñez, PhD

Profesor de materia

Resumen

El microbioma rizosférico del banano cumple funciones clave en la promoción del crecimiento vegetal y la supresión de enfermedades del suelo. Se plantea un estudio con el objetivo de analizar la diversidad funcional y taxonómica del microbioma en suelos rizosféricos de diez fincas bananeras en la provincia de El Oro, Ecuador, considerando dos estados fenológicos de la planta. La propuesta tiene un enfoque metagenómico shotgun, complementado con anotaciones funcionales (eggNOG), análisis de redundancia (RDA) y redes funcionales y de correlación con el estado sanitario de la planta. Además del levantamiento de datos metagenómicos asociados al microbioma de la rizósfera del banano, se espera la identificación de genes promotores del crecimiento vegetal (PGPG), como *glnA*, *phoD*, *acdS* e *ipdC*, distribuidos en múltiples taxones. Se espera también identificar taxones microbianos específicos cuya presencia o abundancia correlacione con incidencia de *Dickeya dadantii* y *Pectobacterium carotovorum*, lo que podría sugerir un rol protector del microbioma. Estos organismos podrían constituir candidatos para estrategias futuras de biocontrol o biofertilización.

Palabras clave: rizosfera, metagenómica, KEGG, PGPG, supresividad.

Abstract

*The rhizospheric microbiome of banana plays key roles in promoting plant growth and suppressing soil-borne diseases. This study proposes to analyze the functional and taxonomic diversity of the microbiome in rhizospheric soils from ten banana farms located in the province of El Oro, Ecuador, considering two phenological stages of the plant. The approach is based on shotgun metagenomics, complemented with functional annotations (eggNOG), redundancy analysis (RDA), and the construction of functional and correlation networks in relation to the plant's health status. In addition to generating metagenomic data associated with the banana rhizosphere microbiome, the study aims to identify plant growth-promoting genes (PGPG), such as *glnA*, *phoD*, *acdS*, and *ipdC*, distributed across multiple taxa. It is also expected to identify specific microbial taxa whose presence or abundance correlates with the incidence of *Dickeya dadantii* and *Pectobacterium carotovorum*, which could suggest a protective role of the microbiome. These organisms could represent candidates for future biocontrol or biofertilization strategies.*

Keywords: rhizosphere, metagenomics, KEGG, PGPG, suppressiveness.

Índice general

Evaluadores	3
Resumen	I
<i>Abstract</i>	II
Abreviaturas	V
Índice de figuras	VII
Capítulo 1	1
1.1 Introducción`	2
1.2 Descripción del Problema	2
1.3 Justificación del Problema	3
1.4 Objetivos	3
1.4.1 <i>Objetivo general</i>	3
1.4.2 <i>Objetivos específicos</i>	3
1.5 Marco teórico	4
1.5.1 <i>Aspectos ecológicos del cultivo del banano y relaciones entre las etapas fenológicas</i>	4
1.5.2 <i>Análisis de genes funcionales, supresivos y promoción del crecimiento vegetal</i>	4
Capítulo 2	7
2. Materiales y métodos	8
2.1 Sitio de estudio y recolección de muestras	8
2.2 Análisis metagenómico rizosférico mediante illumina shotgun	9
2.3 Procesamiento bioinformático de datos metagenómicos	9
2.5 Análisis estadístico	11
2.6 Análisis de datos metagenómicos versus respuesta de las plantas a enfermedades causadas por patógenos del suelo	11
Capítulo 3	13
3. Resultados esperados	14
3.1 Caracterización detallada del microbioma rizosférico de banano	14

3.2 Identificación de genes funcionales clave del rizobioma.....	14
3.3 Relación entre funcionalidad microbiana y sanidad del cultivo	14
3.4 Diferenciación funcional del microbioma entre estados fenológicos	14
3.5 Detección de taxones indicadores y potenciales biocontroladores	14
3.6 Generación de matrices funcionales y modelos exploratorios	15
4. Conclusiones y recomendaciones	17
Referencias	19

Abreviaturas

ABC_tran	Transportador ABC (ATP-Binding Cassette).
acdS	Gen que codifica ACC desaminasa.
AIA	Ácido indolacético
amp-binding	Dominio de unión a AMP, relacionado con síntesis de compuestos secundarios.
BBMap	<i>Bushnell BWA-like Mapper</i> (alineador para filtrado de lecturas).
BBTV	Banana Bunchy Top Virus.
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i> para comparación de secuencias.
Bracken	<i>Bayesian Reestimation of Abundance with Kraken2</i> .
Chao1	Índice de riqueza estimada basado en OTUs raros.
Cutadapt	Herramienta para recorte de adaptadores en secuencias FASTQ.
eggNOG	<i>Evolutionary genealogy of genes: Non-supervised Orthologous Groups</i> .
FastQC	Herramienta para control de calidad de secuencias de alto rendimiento.
Foc	Refiere a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> R4T
glnA	Glutamina sintetasa (enzima promotora del crecimiento vegetal).
IPDC	Gen involucrado en la síntesis de auxinas (ácido indolacético).
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes.
Kraken2	Herramienta para clasificación taxonómica por k-mers.
luxR/luxI	Genes del sistema de quorum sensing bacteriano.
MEGAHIT	Ensamblador de metagenomas de alto rendimiento.
MFS_1	<i>Major Facilitator Superfamily</i> (familia de transportadores de membrana).
MO	Materia orgánica.
MFS_1	<i>Major Facilitator Superfamily</i> (familia de transportadores de membrana).
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NRPS	Non-Ribosomal Peptide Synthetases

OTU	Unidad Taxonómica Operacional
PALP	Pyridoxal phosphate-dependent enzyme.
PCoA	Principal Coordinates Analysis.
PGPG	Plant Growth Promoting Genes.
PKS	Polyketide Synthases.
Prodigal	Herramienta para predicción de genes en metagenomas.
RDA	Redundancy Analysis.
Shannon	Índice de diversidad que considera riqueza y equitatividad.
Sigma54	Factor sigma 54, regulador transcripcional bacteriano.
trpA	Gen de la subunidad A de triptófano sintetasa

Índice de figuras

Figura 1 <i>Estados fenológicos del cultivo de banano.</i>	8
--	---

Capítulo 1

1.1 Introducción

El banano es uno de los cultivos de mayor importancia para Ecuador. A nivel mundial existen varios patógenos de importancia que ponen en riesgo a este cultivo, como *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense R4T (Foc), *Ralstonia solanacearum* filotipo II raza 2 (agente causal de la enfermedad llamada Moko), *Banana Bunchy Top Virus* (BBTV), *Dickeya dadantii*, *Pectobacterium carotovorum*, entre otros (Zheng et. al., 2024). Estudios sobre el microbioma de suelo agrícolas han evidenciado que ciertos suelos poseen mecanismos que modulan la presencia y expresión de microorganismos que son agentes causales de enfermedades de importancia para los cultivos (Borsetto et. al., 2019; Arif, Batool & Schenk, 2020; De Corato, 2020; Ding et. al., 2021; Zhang et. al., 2021; Mitsuboshi et. al., 2022; Couso et. al., 2023, Fan et. al., 2024; Spooren et. al., 2025), por lo tanto, el comprender cuales son los procesos involucrados en estos mecanismos se han convertido en un reto en la lucha contra los fitopatógenos (Zhong et. al., 2018; Lv et. al., 2024).

La variación del microbioma a lo largo del ciclo fenológico del cultivo, su diversidad funcional (KEGG), y la presencia de genes asociados a la promoción del crecimiento vegetal (PGPG) o supresividad son líneas de investigación emergentes (Santoyo, 2022; García et al., 2024). Si bien se ha reportado el efecto positivo de microorganismos bioestimulantes, persiste una brecha de conocimiento respecto al impacto de las prácticas agrícolas sobre el microbioma funcional del suelo, en especial a lo largo de los estados fenológicos.

1.2 Descripción del Problema

El crecimiento y sanidad del cultivo de banano está influenciado por factores fisicoquímicos del suelo, el manejo agronómico y, en particular, por la composición y funcionalidad del microbioma rizosférico. En fincas bananeras de El Oro, la principal provincia productora de banano de Ecuador, se ha observado una variabilidad significativa en el microbioma rizosférico debido en gran parte a las diferencias en cuanto a prácticas de fertilización, riego,

rotación de cultivos y control biológico. Sin embargo, aún se desconoce cuál es el grado de influencia de estas variables sobre la diversidad microbiana y sus funciones asociadas al estado sanitario de la plantación.

1.3 Justificación del Problema

Comprender la estructura y funciones del microbioma rizosférico del banano en diferentes contextos agrícolas y estados fenológicos permite identificar estrategias potenciales para mejorar la salud del suelo y de la planta, y así promover la productividad sostenible del cultivo. Este estudio busca generar información clave sobre la abundancia y diversidad del microbioma rizosférico en fincas de El Oro, así como investigar los mecanismos microbianos asociados a la potencial actividad supresiva o promotora en banano. Además, el estudio plantea caracterizar redes funcionales que podrían aplicarse en el desarrollo de insumos biológicos adaptados al cultivo.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar la funcionalidad del rizobioma de plantas de banano mediante análisis metagenómico para determinar el potencial benéfico sobre la sanidad del cultivo.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Analizar la composición taxonómica y funcional del microbioma rizosférico de plantas de banano mediante secuenciación Illumina, identificando genes clave asociados a funciones PGP, supresivas (NRPS/PKS) y rutas metabólicas (KEGG).
2. Determinar el impacto del microbioma rizosférico sobre el estado sanitario de plantas de banano a través de evaluaciones de presencia/ausencia de patógenos y sus síntomas.

1.5 Marco teórico

1.5.1 Aspectos ecológicos del cultivo del banano y relaciones entre las etapas fenológicas

El banano (*Musa spp.*) es un cultivo que requiere suelos con buena estructura, drenaje adecuado, alto contenido de materia orgánica y un pH cercano a la neutralidad. Su desarrollo está fuertemente influenciado por la disponibilidad de nutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y micronutrientes, los cuales deben aportarse a lo largo de sus cinco etapas fenológicas: yema, F10, diferenciación, floración y cosecha. En cada una de estas etapas se modifican las demandas fisiológicas del cultivo, así como la actividad del sistema radical, lo cual influye directamente sobre la interacción con el microbioma del suelo. Diversos estudios han demostrado que el microbioma rizosférico responde dinámicamente a estas fases, modulando la disponibilidad de nutrientes y la resistencia a patógenos (García et al., 2024). Por tanto, el análisis conjunto del microbioma en cada estado fenológico permite identificar momentos clave para intervenciones agrícolas y/o aplicaciones de bioestimulantes. Además, se ha observado que ciertos genes funcionales del microbioma, como los relacionados a la fijación de nitrógeno y solubilización de fósforo, pueden activarse diferencialmente a lo largo del ciclo fenológico, lo cual representa una oportunidad para sincronizar el manejo del suelo con la fisiología del cultivo (Cao et. al., 2024). Esta sinergia temporal puede ser clave para optimizar la eficiencia en el uso de bioinsumos y reducir la dependencia de fertilizantes sintéticos.

1.5.2 Análisis de genes funcionales, supresivos y promoción del crecimiento vegetal

El análisis funcional del microbioma mediante anotaciones KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) permite identificar rutas metabólicas asociadas a funciones ecológicas clave. Entre ellas se incluyen procesos como el ciclado de nitrógeno, síntesis de sideróforos, producción de hormonas vegetales, resistencia a estrés y transporte de nutrientes (Wang et. al., 2023). Estas rutas no solo permiten evaluar el potencial ecológico del microbioma, sino también compararlo entre ambientes agrícolas y fases fenológicas.

Los genes NRPS (*Non-Ribosomal Peptide Synthetases*) y PKS (*Polyketide Synthases*) están asociados a la síntesis de metabolitos secundarios con efectos antibióticos y de biocontrol, como iturinas, surfactinas o fenazinas, los cuales contribuyen a la supresividad del suelo frente a patógenos (Fan et al., 2024; Spooren et al., 2025). Por lo tanto, estos genes pueden ser considerados marcadores funcionales de la potencial actividad biocontroladora de los microbiomas.

Por otro lado, los genes considerados como marcadores PGP (*Plant Growth-Promoting Genes*), como *nifH*, *phoD*, *acdS*, *budA*, *glnA*, *trpA*, *Sigma54*, *amp-binding*, *ABC_tran*, *PALP* e *ipdC*, están relacionados con la fijación biológica de nitrógeno, solubilización de fósforo, síntesis de fitohormonas, producción de sideróforos o compuestos volátiles beneficiosos. La presencia de estos genes en el microbioma permite inferir su rol en la promoción del crecimiento vegetal y su posible uso como indicador de salud del suelo.

A este grupo funcional también se suman los hongos promotores del crecimiento vegetal (PGPF), los cuales no solo actúan en la solubilización de nutrientes, sino también en la activación de respuestas de defensa en plantas. Géneros como *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium* y *Talaromyces* han sido reconocidos por mejorar la resistencia sistémica y favorecer el crecimiento en condiciones de estrés, a través de la producción de ácido indolacético (AIA), sideróforos, y enzimas como la fosfatasa ácida. En el contexto del cultivo de tomate afectado por *Fusarium oxysporum*, los PGPF han demostrado capacidad para mitigar la enfermedad y promover el desarrollo vegetal al modular las comunidades microbianas y activar mecanismos sistémicos de defensa (Attia et. al., 2022).

La identificación y cuantificación de estos genes permite evaluar el potencial funcional del microbioma rizosférico, comparando entre ambientes agrícolas distintos o entre etapas del cultivo. Asimismo, el análisis de su redundancia funcional y coocurrencia con otros genes clave posibilita construir redes funcionales que reflejan la complejidad y robustez ecológica del sistema rizosférico

en banano. En conjunto, estas aproximaciones permiten avanzar hacia una agricultura más precisa, basada en el conocimiento funcional del ecosistema suelo-planta-microorganismo.

Capítulo 2

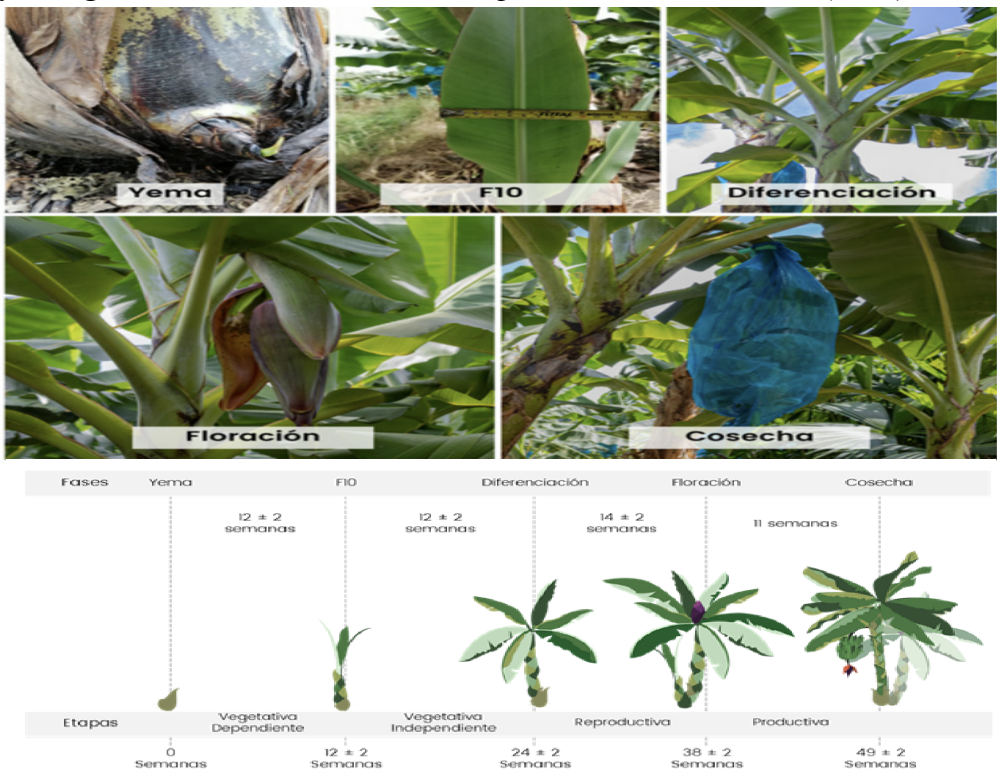
2. Materiales y métodos

2.1 Sitio de estudio y recolección de muestras

El estudio se llevará a cabo en diez unidades de producción agrícola ubicadas en la provincia de El Oro, Ecuador. Dichos sitios serán seleccionados en base a los distintos sistemas de manejo del cultivo de banano (*Musa acuminata* sp.) y a distintas condiciones edafoclimáticas. En cada finca se seleccionarán plantas representativas en cinco etapas fenológicas distintas (yema, F10, diferenciación, floración y cosecha, Figura 1). En cada finca se marcarán 180 plantas para evaluación destructiva en estado fenológico 2 al 5 (en estado 1 solo se muestrea el suelo frente a la yema).

Figura 1

Estados fenológicos del cultivo de banano, adaptado de CENIBANANO (2023).



Para cada combinación de finca y estado fenológico se recolectarán tres muestras compuestas, cada una formada por 12 submuestras de suelo rizosférico de plantas marcadas para

evaluación destructiva, siguiendo la metodología de McPherson et al. (2018) adaptado para cultivo de banano. Al momento del muestreo, se registrará el nivel de incidencia de plantas afectadas (no marcadas) cuyos síntomas visuales indiquen presencia de *Dickeya dadantii* y *Pectobacterium carotovorum*, las cuales son ampliamente reportadas en cultivos de banano a nivel nacional y causan pudriciones blandas en el cultivo. Las submuestras serán extraídas a 30 cm de profundidad a una distancia de 30 cm de la base del pseudotallo, en la zona de raíces activas, y se homogeneizarán en condiciones axénicas para formar cada muestra compuesta. Las muestras serán almacenadas a -80°C hasta la extracción de ADN metagenómico.

2.2 Análisis metagenómico rizosférico mediante Illumina Shotgun

El ADN total será extraído a partir del suelo rizosférico usando el kit comercial DNeasy PowerSoil® (Qiagen, Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante para maximizar el rendimiento y la pureza del ADN. La calidad y concentración del ADN extraído se verificará mediante espectrofotometría usando un NanoDrop™. Las bibliotecas metagenómicas serán preparadas a partir de las muestras de cada estado fenológico y finca. La secuenciación masiva tipo shotgun será realizada usando la plataforma Illumina NovaSeq (lectura paired-end de 150 pb), empleando los servicios de Macrogen Inc. (Corea del Sur).

2.3 Procesamiento bioinformático de datos metagenómicos

Las secuencias crudas obtenidas serán sometidas a control de calidad y análisis bioinformático, siguiendo un pipeline estructurado reproducible. En primer lugar, las lecturas FASTQ serán descargadas y la calidad de éstas evaluada mediante FastQC (v0.11.9) y visualizadas usando MultiQC (v1.14). Para la eliminación de adaptadores y el recorte de baja calidad en las lecturas crudas, se utilizará la herramienta Cutadapt v4.4 aplicando un límite mínimo de longitud de 25 pb para conservar lecturas informativas y un filtro de calidad con umbral Q20. Para eliminar posibles contaminantes vegetales, particularmente secuencias del genoma del banano, se empleará

BBMap (v39.01), alineando las lecturas contra un el genoma de referencia de *Musa acuminata*. Las lecturas no alineadas serán utilizadas como entrada para el ensamblaje de contigs mediante el ensamblador metagenómico MEGAHIT (v1.2.9), empleando una longitud máxima de lectura de 150 pb y una estrategia de ensamblaje multinivel con k-mers de longitud 21, 29, 39, 59, 79, 99, 119 y 141. A partir de los contigs ensamblados, se realizarán predicciones de marcos abiertos de lectura (ORFs) utilizando Prodigal (v2.6.3) en modo metagenómico. Las proteínas resultantes serán anotadas funcionalmente mediante eggNOG-mapper (v2.1.10), empleando el database eggNOG 5.0. En paralelo, se realizará la clasificación taxonómica de las lecturas utilizando Kraken2 (v2.1.2) con la base de datos Estándar PlusPF 16Gb, y posteriormente se refinarán las abundancias mediante Bracken (v2.6.0), generando reportes a nivel de especie, género y filo. Los datos resultantes serán procesados y analizados en RStudio (v4.3.1). Para validar la exactitud de las asignaciones taxonómicas obtenidas por Kraken2 y Bracken, se implementará un procedimiento adicional que incluya la extracción de lecturas asociadas a taxones de interés, su ensamblaje con MEGAHIT, y posterior verificación mediante BLASTn contra la base de datos nt de NCBI en el entorno de RStudio.

2.4 Análisis funcional del microbioma

Las anotaciones funcionales obtenidas mediante eggNOG-mapper serán procesadas para identificar funciones de interés relacionadas a genes de promoción del crecimiento vegetal (PGPG), supresividad del suelo (genes de biocontrol), y funcionalidad metabólica general basada en rutas KEGG. Se definirán como genes funcionales PGPG aquellos involucrados en fijación biológica de nitrógeno (*nifH*), solubilización de fósforo (*phoD*), producción de fitohormonas (*acdS*, *ipdC*, *budA*), transporte de nutrientes (*ABC_tran*, *Sigma54*, *PALP*), biosíntesis de aminoácidos (*trpA*, *glnA*), y síntesis de compuestos bioactivos (*amp-binding*). Por su parte, los genes de supresividad incluirán aquellos asociados a síntesis de metabolitos antimicrobianos (*NRPS*, *PKS*, *phz*, *chiA*), quorum sensing (*luxR*, *luxI*, *quorum*), transporte de compuestos y

resistencia (*ABC_membrane*, *MFS_1*, *Aldeh*, *adh_short*). Además, se agruparán rutas KEGG relacionadas a procesos ecológicos relevantes como fijación de nitrógeno, metabolismo del azufre, biosíntesis de sideróforos, exopolisacáridos, biofilm, motilidad bacteriana (flagelina, quimiotaxis), transducción de señales (*cheA*, MCPs), estrés oxidativo, resistencia a antibióticos y movilidad genética (transposasas, integrasas). La abundancia relativa de estas funciones será normalizada por muestra y analizada por categorías (PGPG, supresiva, KEGG). Se evaluarán patrones diferenciales entre fincas y estados fenológicos, y se calcularán índices de redundancia funcional, coocurrencia y distribución diferencial.

2.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos del análisis taxonómico y funcional del microbioma, así como de las variables edáficas y fisiológicas del cultivo, serán procesados en el entorno estadístico R (v4.3.1). Para el análisis de diversidad se calculará la diversidad alfa (Shannon, Chao1) a partir de la abundancia y se compararán entre grupos mediante pruebas de Kruskal-Wallis. La diversidad beta se evaluará mediante análisis de coordenadas principales (PCoA) usando distancias Bray-Curtis, y se contrastarán grupos mediante análisis de disimilitud permutacional (PERMANOVA). En lo que refiere al análisis funcional, las funciones KEGG, PGPG y supresivas se analizarán mediante matrices de abundancia relativa por función, segmentados por finca y estado fenológico. Se calcularán índices de redundancia funcional (número de funciones por categoría presentes en cada grupo) y su comparación estadística se realizará con pruebas no paramétricas.

2.6 Análisis de datos metagenómicos versus respuesta de las plantas a enfermedades causadas por patógenos del suelo

A partir de los datos generados por los análisis metagenómicos, se construirán matrices de abundancia microbiana y funcional, considerando taxones a nivel de género o especie por muestra, así como sus respectivas rutas metabólicas. Estos datos se correlacionarán con matrices fenotípicas que reflejan el nivel de daño causado por *Dickeya dadantii* y *Pectobacterium carotovorum*, junto

con estado fenológico. Para identificar taxones asociados positiva o negativamente con la incidencia de la enfermedad, se aplicarán análisis de correlación de Spearman entre las matrices de abundancia microbiana y las variables fenotípicas.

Capítulo 3

3. Resultados esperados

3.1 Caracterización detallada del microbioma rizosférico de banano

Se anticipa la identificación de una comunidad microbiana diversa y diferenciada entre fincas y estados fenológicos, tanto a nivel taxonómico (filo, género, especie) como funcional. La diversidad alfa (Shannon, Chao1) y beta (Bray-Curtis) permitirán establecer patrones de estructuración microbiana en función del manejo agrícola y las condiciones edafoclimáticas.

3.2 Identificación de genes funcionales clave del rizobioma

A través de las anotaciones con eggNOG y KEGG, se espera detectar genes asociados a la promoción del crecimiento vegetal (PGPG), tales como *nifH*, *phoD*, *acdS*, *ipdC*, y a funciones de supresividad del suelo, incluyendo genes como *NRPS*, *PKS*, *phz*, *luxR*, *chiA*. La abundancia y distribución de estos genes permitirá inferir el potencial funcional del microbioma rizosférico.

3.3 Relación entre funcionalidad microbiana y sanidad del cultivo

Se espera encontrar correlaciones estadísticamente significativas entre la abundancia de ciertos taxones y funciones microbianas con los niveles de incidencia de *Dickeya dadantii* y *Pectobacterium carotovorum*. Estas relaciones permitirán proponer mecanismos microbianos asociados a tolerancia o susceptibilidad a enfermedades.

3.4 Diferenciación funcional del microbioma entre estados fenológicos

Se prevé que las distintas etapas de desarrollo de la planta influyan en la composición y funcionalidad del rizobioma. Por ejemplo, podrían observarse funciones PGPG más abundantes en etapas vegetativas tempranas, y funciones de defensa o supresividad más representadas en etapas reproductivas o de mayor estrés.

3.5 Detección de taxones indicadores y potenciales biocontroladores

Se espera identificar taxones microbianos específicos cuya presencia o abundancia correlacione negativamente con la incidencia de plantas con pudrición blanda, lo que podría

sugerir un rol protector del microbioma. Estos organismos podrían constituir candidatos para estrategias futuras de biocontrol o biofertilización.

3.6 Generación de matrices funcionales y modelos exploratorios

Los datos permitirán construir matrices multivariadas que integren abundancia taxonómica, funcionalidad microbiana y estados fenológicos del cultivo. Estas matrices podrían usarse para modelar el impacto del rizobioma sobre la sanidad de las plantas por estado fenológico.

Capítulo 4

4. Conclusiones y recomendaciones

Uno de los aportes más relevantes será la identificación de taxones microbianos y funciones génicas (PGPG y supresivas) que se correlacionen con niveles de incidencia de pudrición blanda. Esto podría sugerir un efecto protector del microbioma rizosférico y abrir nuevas líneas para el desarrollo de consorcios microbianos con fines de biocontrol. Asimismo, la detección de genes asociados a la supresividad del suelo —como *NRPS*, *PKS* o *luxR*— puede aportar información valiosa sobre los mecanismos moleculares implicados en la competencia microbiana, inhibición de patógenos y estimulación de respuestas defensivas en la planta.

La diferenciación funcional del microbioma a lo largo de los estados fenológicos permitirá discutir cómo la planta regula o selecciona su comunidad rizosférica en función de sus requerimientos fisiológicos, y cómo esta comunidad responde a factores de estrés biótico. Esta perspectiva holística podría demostrar que el microbioma no es estático, sino dinámico y coevolutivo con el hospedero, influenciado por su desarrollo y el entorno edáfico.

Además, la integración de datos metagenómicos con variables agronómicas y sanitarias permitirá establecer modelos multivariados que expliquen parte de la variabilidad observada en la severidad de la enfermedad. Esto no solo contribuirá al conocimiento científico sobre microbiomas funcionales, sino que también puede tener aplicaciones prácticas. Por ejemplo, las fincas que presenten perfiles microbianos más sanos podrían servir como referencia para prácticas agrícolas regenerativas o estrategias de transferencia microbiana dirigida.

El estudio aquí propuesto no solo contribuirá al avance del conocimiento científico sobre la funcionalidad del microbioma rizosférico, sino que también tendrá implicaciones directas para el sector bananero ecuatoriano, uno de los pilares económicos del país. Al identificar microorganismos y funciones asociadas a una menor incidencia de enfermedades por patógenos de suelo, se podrán proponer estrategias innovadoras de manejo biológico del cultivo, adaptadas a las condiciones locales. Además, los perfiles microbianos caracterizados podrían emplearse como

indicadores de salud del suelo, facilitando diagnósticos más precisos y sostenibles. Estos hallazgos abrirán la puerta al desarrollo de prácticas agrícolas más resilientes, con menor dependencia de pesticidas, y orientadas a preservar la productividad y sanidad del cultivo de banano en Ecuador a largo plazo. El proyecto aquí propuesto tiene aún más relevancia debido a los recientes brotes de la enfermedad Moko, así como el riesgo actual de una primera incursión de *Foc*, tanto en banano como en plátano en Ecuador. La ejecución de este proyecto podría brindar luces sobre interacciones existentes entre microbiomas benéficos y es importante patógeno asociado al suelo.

Referencias

Arif, I., Batool, M., & Schenk, P. M. (2020). Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience. In *Trends in Biotechnology* (Vol. 38, Issue 12, pp. 1385–1396). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.04.015>

Attia, M. S., Abdelaziz, A. M., Al-Askar, A. A., Arishi, A. A., Abdelhakim, A. M., & Hashem, A. H. (2022). Plant Growth-Promoting Fungi as Biocontrol Tool against Fusarium Wilt Disease of Tomato Plant. *Journal of Fungi*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/jof8080775>

Borsetto, C., Amos, G. C. A., da Rocha, U. N., Mitchell, A. L., Finn, R. D., Laidi, R. F., Vallin, C., Pearce, D. A., Newsham, K. K., & Wellington, E. M. H. (2019). Microbial community drivers of PK/NRP gene diversity in selected global soils. *Microbiome*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0692-8>

Cao, Y., Shen, Z., Zhang, N., Deng, X., Thomashow, L. S., Lidbury, I., Liu, H., Li, R., Shen, Q., & Kowalchuk, G. A. (2024). Phosphorus availability influences disease-suppressive soil microbiome through plant-microbe interactions. *Microbiome*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01906-w>

Cenibanano. (2023). USO DE SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICOS (SIG) COMO HERRAMIENTA PARA EL MONITOREO Y MEJORAMIENTO DE PRODUCTIVIDAD. In *Fruits* (Vol. 66, Issue 4). https://www.researchgate.net/publication/375689253_Aspectos_fenologicos_del_cultivo_de_banano

Couso, L. L., Soler-Bistué, A., Aptekmann, A. A., & Sánchez, I. E. (2023). Ecology theory disentangles microbial dichotomies. *Environmental Microbiology*, 25(12), 3052–3063. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16495>

De Corato, U. (2020). Disease-suppressive compost enhances natural soil suppressiveness against soil-borne plant pathogens: A critical review. In *Rhizosphere* (Vol. 13). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100192>

Deng, X., Zhang, N., Li, Y., Zhu, C., Qu, B., Liu, H., Li, R., Bai, Y., Shen, Q., & Falcao Salles, J. (2022). Bio-organic soil amendment promotes the suppression of *Ralstonia solanacearum* by inducing changes in the functionality and composition of rhizosphere bacterial communities. *New Phytologist*, 235(4), 1558–1574. <https://doi.org/10.1111/nph.18221>

Fan, P., Li, J., Chen, P., Wei, D., Zhang, Q., Jia, Z., He, C., Ullah, J., Wang, Q., & Ruan, Y. (2024). Mitigating soil degradation in continuous cropping banana fields through long-term organic fertilization: Insights from soil acidification, ammonia oxidation, and microbial communities. *Industrial Crops and Products*, 213. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118385>

Lv, N., Ravanbakhsh, M., Ling, S., Ou, Y., Tao, C., Liu, H., Li, R., Shen, Z., & Shen, Q. (2024). Harnessing key bacteria from suppressive soil to mitigate banana Panama disease. *Biology and Fertility of Soils*, 60(6), 845–862. <https://doi.org/10.1007/s00374-024-01836-7>

McPherson, M. R., Wang, P., Marsh, E. L., Mitchell, R. B., & Schachtman, D. P. (2018). Isolation and analysis of microbial communities in soil, rhizosphere, and roots in perennial grass experiments. *Journal of Visualized Experiments*, 2018(137). <https://doi.org/10.3791/57932>

Mitsuboshi, M., Kioka, Y., Noguchi, K., & Asakawa, S. (2022). Evaluation of Disease Suppressiveness of Soils in Croplands by Co-Cultivation of Pathogenic *Fusarium oxysporum* and Indigenous Soil Microorganisms. *Microbes and Environments*, 37(4). <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME21063>

Santoyo, G. (2022). How plants recruit their microbiome? New insights into beneficial interactions. In *Journal of Advanced Research* (Vol. 40, pp. 45–58). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.11.020>

Spooren, J., van Bentum, S., Thomashow, L. S., Pieterse, C. M. J., Weller, D. M., & Berendsen, R. L. (2025). Plant-Driven Assembly of Disease-Suppressive Soil Microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, 36, 11. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-021622>

Wei, Z., Hu, J., Gu, Y., Yin, S., Xu, Y., Jousset, A., Shen, Q., & Friman, V. P. (2018). *Ralstonia solanacearum* pathogen disrupts bacterial rhizosphere microbiome during an invasion. *Soil Biology and Biochemistry*, 118, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.11.012>

Wang, B., Wang, X., Wang, Z., Zhu, K., & Wu, W. (2023). Comparative metagenomic analysis reveals rhizosphere microbial community composition and functions help protect grapevines against salt stress. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1102547>

Zhang, J., Cook, J., Nearing, J. T., Zhang, J., Raudonis, R., Glick, B. R., Langille, M. G. I., & Cheng, Z. (2021). Harnessing the plant microbiome to promote the growth of agricultural crops.

In Microbiological Research (Vol. 245). Elsevier GmbH.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126690>

Zheng, Si-Jun, Hu, H., & Li, Y. (2024). Editorial: Microbial interaction with banana: mechanisms, symbiosis, and integrated diseases control. *Frontiers in Microbiology*, 15.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1390969>