

Effect of three different agronomic conditions on biochemical profile and diversity in the rhizosphere of banana plantations infected with *Fusarium oxysporum* Race 1

Efecto de tres condiciones agronómicas diferentes sobre el perfil bioquímico y la diversidad en la rizosfera de plantaciones de banano con *Fusarium oxysporum* Raza 1

Katherine Sánchez-Zúñiga*; Ana Tapia-Fernández; William Eduardo Rivera-Méndez

Instituto Tecnológico de Costa Rica. Av. 14, Calle 15, Basílica de los Ángeles, Cartago, Cartago, C. P. 30102, COSTA RICA.

*Corresponding author: katsanchez@itcr.ac.cr, tel. 506 2550 9162.

Abstract

Soil microorganisms play an important role as a link in the transfer of nutrients from the rhizosphere. The physical and chemical properties of soil, the metabolic profiles of microbial communities and different crop management practices can enhance our understanding of rhizospheric interactions. This study aimed to establish differences in microbial communities associated with banana crops and the biochemical profile in farms under different agronomic conditions. Seven farms with different levels of intervention, management, and fusariosis severity were analyzed. The biochemical profile of the microbial community was determined using EcoPlates and the main substrates consumed by the microbial communities were identified through multivariate principal component analysis (PCA). Seven microorganisms were selected as indicators of nutrient cycles, pathogenicity and soil health. Also, soil chemical indicators were determined through a complete mineral analysis. For the physiological profile of soil microbial populations, it was observed that farms with the same management tend to be metabolically very similar. In the PCA, two principal components explained 90 % of the variance in the data. It was also determined that the genus *Bacillus* is predominant in all farms and that farm 4 (medium intervention) presented the most favorable values in all factors analyzed. The effective cation exchange capacity values are highlighted in the chemical analyses, which determined that all farms have a high fertility level. The metabolic profile, diversity and richness of each of the different farms were affected by the type of agronomic management used.

Keywords: soil comparison, biological and chemical properties, soil microorganism communities, Gros Michel banana, metabolic profile.

Resumen

Los microorganismos del suelo cumplen un papel importante como enlace en la transferencia de nutrientes de la rizosfera. Las propiedades físicas y químicas del suelo, los perfiles metabólicos de las comunidades microbianas y las diferentes prácticas de manejo de los cultivos pueden mejorar nuestra comprensión de las interacciones rizosféricas. El objetivo de este estudio fue establecer las diferencias entre las comunidades microbianas asociadas a cultivos de banano, así como sus perfiles bioquímicos, en plantaciones con diferentes condiciones agronómicas. Se analizaron siete plantaciones con diferentes niveles de intervención, manejo e intensidad de fusariosis. El perfil bioquímico de las comunidades microbianas se determinó utilizando placas EcoPlates, y los sustratos consumidos por las comunidades microbianas se identificaron mediante un análisis de componentes principales (ACP) multivariado. Se seleccionaron siete microorganismos como indicadores de los ciclos de nutrientes, patogenicidad y sanidad del suelo. Los indicadores químicos del suelo se determinaron mediante un análisis mineral completo. Con el perfil fisiológico de las comunidades microbianas, se observó que las plantaciones con el mismo manejo tienden a presentar similitudes metabólicas. En el ACP, dos componentes principales explicaron 90 % de la varianza de los datos. Se determinó que el género *Bacillus* es predominante en todas las plantaciones, y que la plantación 4 (intervención media) presentó los valores más favorables en todos los factores analizados. Los valores de la capacidad de intercambio catiónico efectiva destacaron en el análisis químico, y determinaron que todas las plantaciones tienen nivel de fertilidad alto. El perfil metabólico, la diversidad y la riqueza de cada plantación se vieron afectadas por el tipo de manejo agronómico utilizado.

Palabras clave: comparación de suelos, propiedades biológicas y químicas, comunidades de microorganismos del suelo, banano Gros Michel, perfil metabólico.

Please cite this article as follows (APA 6): Sánchez-Zúñiga, K., Tapia-Fernández, A., & Rivera-Méndez, W. E. (2021). Effect of three different agronomic conditions on biochemical profile and diversity in the rhizosphere of banana plantations infected with *Fusarium oxysporum* Race 1. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 27(2), 55-70. doi: 10.5154/r.rchsh.2020.06.018



Revista Chapingo
Serie Horticultura

Introduction

The *Fusarium* wilt produced by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC1; discovered in 1874), caused great devastation in the banana sector during the first half of the 20th century, due to the sensitivity of the Gros Michel clone, which led to its replacement with the Grand Nain clone beginning in the 1950s and which remains as the predominant commercial variety worldwide (Wang et al., 2012). In the 1990s, a new fungus strain was identified in Southeast Asia called *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC R4T), which affects the Cavendish cultivar, cooking bananas, edible diploids, and plantains. Due to the increasing dispersion of FOC, one of the bases for integrated disease management is knowledge of the niche occupied by the new pathogen and how this affects the host's living conditions. Therefore, it is vital to know the soil microbiota and the phytobiome, particularly the species associated with the roots. In this context, it is important to analyze the communities of microorganisms that can interact with FOC under different farming systems (Shi et al., 2013).

Soil is an ecosystem with a great variety of microbial populations, which directly influence its activity and plant growth. Microorganisms are the first to react to physical and chemical changes in the environment; therefore, it is of vital importance to analyze their behavior and interactions. This enables establishing conditions where FOC can be suppressed from the rhizosphere of a banana crop pathosystem (Gryta, Fraç, & Oszust, 2014). Community physiological profiling has proven to be very effective in determining spatial and temporal changes in soil microorganism communities. The evaluation of data generated from miniaturized metabolic tests include average well color development (AWCD), the richness index and Shannon diversity (Fraç, Oszust, & Lipiec, 2012). AWCD is a general indicator of the metabolic activity of the microbial community and can be subdivided among the groups that have a similar chemical nature, allowing an evaluation of the microbial community's potential to degrade different carbon sources (Kenarova, Radeva, Traykov, & Boteva, 2014). Molecular identifications of soil indicators that are present in soil communities and their comparison is an adequate way to find differences in agroecosystem functions.

Soil organisms are an integral component of ecosystems, but their activities receive little recognition in management strategies. Land-use intensity is constantly increasing on a global scale with adverse effects on soil ecosystems (Stavi & Lal, 2015). One-quarter of all soils worldwide face degradation and an increasing number of studies show that intensive land use threatens soil biodiversity. To enhance soil

Introducción

La marchitez de *Fusarium*, producida por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC1; descubierto en 1874), devastó al sector bananero durante la primera mitad del siglo XX debido a la sensibilidad del clon Gros Michel; esto condujo a su reemplazo por el clon Gran Enano a partir de la década de 1950, el cual sigue siendo predominante a nivel mundial (Wang et al., 2012). En la década de 1990, se identificó una nueva cepa de dicho hongo en el sudeste asiático llamada *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC R4T), que afecta al cultivar Cavendish, los plátanos de cocción, los diploides comestibles y los plátanos verdes. Debido a la creciente diseminación de FOC, una de las bases para el manejo integrado de la enfermedad es el conocimiento del nicho que ocupa el nuevo patógeno y de la manera en que éste afecta las condiciones de vida del hospedero. Por ello, es vital conocer la microbiota del suelo y el fitobioma, especialmente las especies asociadas con las raíces. En este contexto, es importante analizar las comunidades de microorganismos que pueden interactuar con FOC bajo diferentes sistemas de cultivo (Shi et al., 2013).

El suelo es un ecosistema con una gran variedad de poblaciones microbianas, las cuales influyen directamente en su actividad y en el crecimiento de las plantas. Los microorganismos son los primeros en reaccionar ante cambios físicos y químicos en el medioambiente, de ahí la importancia de analizar su comportamiento y sus interacciones, ya que permite establecer condiciones en las que se puede suprimir el FOC de la rizosfera del patosistema de cultivo de banano (Gryta, Fraç, & Oszust, 2014). Se ha demostrado que la elaboración de perfiles fisiológicos de comunidades es muy eficaz para determinar los cambios espaciales y temporales en las comunidades de microorganismos del suelo. La evaluación de los datos generados a partir de pruebas metabólicas miniaturizadas incluye el desarrollo promedio del color (DPC), el índice de riqueza y la diversidad de Shannon (Fraç, Oszust, & Lipiec, 2012). El DPC es un indicador general de la actividad metabólica de las comunidades microbianas, y se puede subdividir entre los grupos que tienen una naturaleza química similar, lo cual permite evaluar el potencial de la comunidad microbiana para degradar diferentes fuentes de carbono (Kenarova, Radeva, Traykov, & Boteva, 2014). La identificación molecular de los indicadores que están presentes en las comunidades microbinas del suelo, así como su comparación, es una manera adecuada de encontrar diferencias entre las funciones de los agroecosistemas.

Los organismos del suelo son un componente integral de los ecosistemas, pero sus actividades son poco reconocidas en las estrategias de manejo. La intensidad en el uso de la tierra aumenta constantemente a escala

biodiversity, specific changes in soil community composition can complement each other to increase ecosystem sustainability (Tsiafouli et al., 2015) and also improve soil health, in terms of promoting soil resiliency and being more suppressive against some pathogens. In general, some studies demonstrated that soil microorganisms are involved in the nitrogen and carbon cycles and also enhance plant nutrition (Bommarco, Kleijn, & Potts, 2013).

In natural ecosystems, wild plants are dependent on the activity and function of their rhizosphere communities for defenses against soil pests and diseases (Huang et al., 2013). Over evolutionary time, plants developed intimate relationships with beneficial soil microorganisms, taking advantage of their ability to inhibit plant pathogens. Currently, there are a lot of molecular tools that allow scientists to improve our knowledge of the soil microbiome and the functions of the microorganisms associated with plants. Engineering plant-soil biota interactions (through soil inoculation), genome editing, metagenome sequencing and plant trait selection, offers a promising avenue to rapidly face the challenges in both natural and agricultural systems in the future (Mariotte et al., 2018).

A current challenge is to go beyond predictive understanding of genome function based on the genome and metagenome to understanding the actual functions carried out by the soil microbiome *in situ*. Some scientists discovered that to control or manage FOC R4T, it is necessary to apply other more efficient and effective management strategies (such as biological control), with the use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) possibly being needed to overcome the disease (Siamak & Zheng, 2018). Other authors suggest that the successful colonization of host rhizospheres is very important for effective control of soil-borne pathogens, and they have demonstrated that the combined application of endophytic and rhizospheric bacteria strains results in effective suppression of FOC (Ploetz, 2006; Thangavelu & Gopi, 2015).

The future of FOC control will be based on complete knowledge of the natural microbe soil which has a very important role in pathogen control and also improves plant growth, soil health and soil resiliency to all climate change. The microbial populations and community made the soil more disease-suppressive and beneficial to soil nutrient cycling and plant growth (Xinqi et al., 2015). Therefore, this study aimed to establish differences in microbial communities associated with crops of Gros Michel banana clone and biochemical profiles of these communities, in farms under different agronomic conditions, to improve our understanding of factors that can contribute to the effective control of banana fusariosis.

mundial, con efectos adversos en los ecosistemas del suelo (Stavi & Lal, 2015). Una cuarta parte del suelo a nivel mundial se enfrenta a la degradación, y cada vez más estudios muestran que el uso intensivo de la tierra amenaza la biodiversidad del suelo. Para aumentar la biodiversidad edáfica, los cambios específicos en la composición de la comunidad del suelo se pueden complementar entre sí para aumentar la sostenibilidad del ecosistema (Tsiafouli et al., 2015) y mejorar la sanidad del suelo, esto en términos de promover su resiliencia y ser más supresivo contra algunos patógenos. En general, algunos estudios han demostrado que los microorganismos del suelo participan en los ciclos del nitrógeno y el carbono, y que también mejoran la nutrición de las plantas (Bommarco, Kleijn, & Potts, 2013).

En los ecosistemas naturales, las plantas silvestres dependen de la actividad y la función de sus comunidades de la rizosfera para defenderse de las plagas y las enfermedades del suelo (Huang et al., 2013). A lo largo del tiempo evolutivo, las plantas desarrollaron relaciones estrechas con algunos microorganismos del suelo, beneficiándose de su capacidad para inhibir patógenos de las plantas. Actualmente, existen muchas herramientas moleculares que permiten mejorar nuestro entendimiento del microbioma del suelo y las funciones de los microorganismos asociados a las plantas. La ingeniería de las interacciones de la biota planta-suelo (a través de la inoculación del suelo), la modificación del genoma, la secuenciación del metagenoma y la selección de los rasgos de las plantas ofrecen una vía prometedora para hacer frente de manera rápida a los desafíos futuros, tanto de los sistemas naturales como de los agrícolas (Mariotte et al., 2018).

Un desafío actual es ir más allá de predecir la función del genoma, basándose en el genoma y el metagenoma, para comprender las funciones reales que realiza el microbioma del suelo *in situ*. Algunos científicos descubrieron que para controlar o manejar el FOC R4T es necesario aplicar estrategias de manejo más eficientes y eficaces (como el control biológico), siendo, posiblemente, necesario usar hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) para superar la enfermedad (Siamak & Zheng, 2018). Otros autores sugieren que el éxito de la colonización de las rizosferas hospederas es muy importante para el control eficaz de los patógenos transmitidos por el suelo, y han demostrado que la aplicación combinada de cepas de bacterias endófitas y rizosféricas conduce a una supresión eficaz del FOC (Ploetz, 2006; Thangavelu & Gopi, 2015).

El futuro de la lucha contra el FOC está basado en el conocimiento completo de los microbios naturales del suelo, los cuales desempeña un papel muy importante en el control de patógenos y mejoran el crecimiento

Materials and methods

Farm selection and location

Seven farms producing Gros Michel banana clone were selected in Turrialba, Costa Rica, where three different agricultural conditions were evaluated: organic (9° 53' 57.63" NL - 83° 41' 41.62" WL and 9° 52' 41.7" NL - 83° 42' 23.18" WL), intermediate conventional (9° 56' 43.75" NL - 83° 39' 44.4" WL and 9° 56' 3.28" NL - 83° 37' 51.07" WL) and abandoned (9° 56' 3.61" NL - 83° 37' 47.8" WL and 9° 56' 6.84" NL - 83° 37' 47.42" WL), with high or low fusariosis severity in each condition. A forest (9° 56' 46.22" NL - 83° 41' 25.07" WL) was used as the control. Organic farms were certified as organic according to international organisms, and following standards. Also, the farms must have had at least 2-3 years of applying the concepts of organic agriculture. Conventional farms apply conventional agronomic management, in which the agriculturist uses synthetic chemicals in order to control diseases and to fertilize. Abandoned farms were sown with banana in the past, but have been abandoned for at least 5 years. In this case the banana plants continued to grow without any human intervention.

Biochemical profile determination of microbial communities associated with FOC TR1

EcoPlates (Biolog®, USA) were used to measure microbial functional diversity. A similar protocol to that described by Velkeneers (2013) was followed, where 5 g of soil were resuspended in 50 mL of phosphate buffer (0.05 M, K₂HPO₄, pH 7), inoculated with 150 µL of dilution per well and kept at 26 °C. Readings were taken every 18 h. The AWCD (average well color development) was calculated using the formula:

$$AWCD = \frac{\sum OD_i}{31}$$

where OD_i is the optical density and 31 is the number of carbon substrates present in the EcoPlates. The richness index (RI) was obtained by counting the number of positive reactions (standardized OD higher than 0.25) with the following formula:

$$RI = \frac{R}{\ln(DO \geq 0.25)}$$

where R is the number of total carbon substrates (31). The Shannon-Weaver (SW) index was calculated using the formula:

$$SW \text{ index} = - \sum p_i \times (\ln(p_i))$$

$$p_i = \frac{\sum DO_i(31)}{\sum DO_i(96)}$$

de las plantas, la sanidad del suelo y su resiliencia frente a todos los cambios climáticos. Las poblaciones y las comunidades microbianas hacen que el suelo sea supresor de enfermedades, y son benéficas para el ciclo de nutrientes del suelo y el crecimiento de las plantas (Xinqi et al., 2015). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue establecer las diferencias entre las comunidades microbianas asociadas con los cultivos de banano clon Gros Michel, así como sus perfiles bioquímicos, en plantaciones bajo diferentes condiciones agronómicas, para comprender los factores que contribuyen al control efectivo de la fusariosis del bananero.

Materiales y métodos

Selección y localización de las plantaciones

Se seleccionaron siete plantaciones dedicadas a la producción de banano clon Gros Michel en Turrialba, Costa Rica, las cuales se encontraban bajo diferentes condiciones agrícolas: orgánica (9° 53' 57.63" latitud norte - 83° 41' 41.62" longitud oeste y 9° 52' 41.7" latitud norte - 83° 42' 23.18" longitud oeste), convencional intermedia (9° 56' 43.75" latitud norte - 83° 39' 44.4" longitud oeste y 9° 56' 3.28" latitud norte - 83° 37' 51.07" longitud oeste) y abandonada (9° 56' 3.61" latitud norte - 83° 37' 47.8" longitud oeste y 9° 56' 6.84" latitud norte - 83° 37' 47.42" longitud oeste), con severidad de fusariosis alta y baja en cada condición; como testigo se utilizó un bosque (9° 56' 46.22" latitud norte - 83° 41' 25.07" longitud oeste). Las fincas orgánicas estaban certificadas de acuerdo con organismos internacionales y seguían los estándares, por lo que dichas fincas debieron contar con al menos dos a tres años de aplicación de conceptos de agricultura orgánica. Las fincas convencionales utilizaban manejo agronómico convencional, bajo el cual el agricultor emplea químicos sintéticos con el objeto de controlar enfermedades y de fertilizar. Las plantaciones abandonadas se sembraron con banano en el pasado, pero han estado abandonadas por al menos cinco años, por lo que las plantas continuaron creciendo sin intervención humana.

Determinación del perfil bioquímico de las comunidades microbianas asociadas a FOC TR1

Para medir la diversidad funcional microbiana, se utilizaron placas EcoPlates (Biolog®, EUA) y se siguió un protocolo similar al descrito por Velkeneers (2013). Se resuspendieron 5 g de suelo en 50 mL de amortiguador de fosfato (0.05 M, K₂HPO₄, pH 7), inoculados con 150 µL de dilución por pozo y mantenidos a 26 °C. Las lecturas se tomaron cada 18 h. El desarrollo promedio del color (DPC) se calculó con la siguiente fórmula:

$$DPC = \frac{\sum DO_i}{31}$$

where $ODi(31)$ is the total carbon substrates in the EcoPlates and $ODi(96)$ is the total number of wells (three replicates of each substrate, three negative water controls) of the EcoPlates.

By grouping by substrates the AWCD values of each farm at 54 h, a principal component analysis (PCA) was conducted to determine the groups of substrates that are mostly metabolized. A similar analysis was performed by Ge, Du, Gao, and Qiu (2018).

Microbial indicators

For testing the presence of different important groups in the soil community, seven microorganisms were selected as indicators (Table 1). These microorganisms were selected according to the literature where the importance of some specific microorganism groups as indicators of soil health and the principal pathogens of banana plants are described (Xinqi et al., 2015). Primers were designed for indicator species using Primer 3Plus bioinformatics software. The microorganisms present in the soil were determined through PCR (polymerase chain reaction). The Power Soil® DNA Isolation (MoBio Laboratories Inc, UK) extraction kit was used. The integrity of the extracted DNA was corroborated by electrophoresis in agarose gel. Sanger sequencing of the amplified DNA bands was made to determine the specific identity of the microorganisms. Sequence comparisons were made with the NCBI (National Center for Biotechnology Information) database.

donde DOi es la densidad óptica y 31 es el número de sustratos de carbono presentes en las placas. El índice de riqueza (IR) se obtuvo mediante el conteo del número de reacciones positivas (DO estandarizada mayor que 0.25) con la siguiente fórmula:

$$IR = \frac{R}{\ln(DO \geq 0.25)}$$

donde R es el número de sustratos de carbono totales (31). El índice Shannon-Weaver (SW) se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Índice SW} = - \sum pi \times (\ln(pi))$$

$$pi = \frac{\sum DOi(31)}{\sum DOi(96)}$$

donde $DOi(31)$ es el total de sustratos de carbono en las placas y $DOi(96)$ es el número total de pozos (tres réplicas de cada sustrato más tres testigos negativos con agua) de las placas.

Se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) con los valores del DPC de cada plantación a las 54 h, para determinar los grupos de sustratos que son mayormente metabolizados. Un análisis similar fue realizado por Ge, Du, Gao, y Qiu (2018).

Indicadores microbianos

Con el fin de corroborar la presencia de diferentes grupos importantes en el suelo, se seleccionaron siete

Table 1. Microorganism groups selected for molecular identification.

Cuadro 1. Microorganismos seleccionados para la identificación molecular.

Microorganisms/ Microorganismos	Function/ Función	Primer sequence/ Secuencia de los cebadores	Tm (°C)
<i>Azospirillum</i> sp.	Phosphorus solubilizer/ Solubizadoras de fósforo	F: TCGGCCTTAGTGCGCACGGGT R: GGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGC	67.2
<i>Rhizobium</i> sp. / <i>Azotobacter tropicalis</i>	Nitrogen fixative/ Fijadoras de nitrógeno	F: TGAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAA R: TGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTT/ F: AAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGT R: TGAACCACCTACGCGCTTACGCCCA	66.7 / 66.2
<i>Nostoc</i> sp.	Photosynthesizers/ Fotosintetizadoras	F: ATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGT R: AGCGCTTCGCCACTGGTGTCTT	65.3
<i>Streptomyces</i> sp.	Producer antibiotic substances/ Productoras de sustancias antibióticas	F: GCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTT R: AAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTT	66.3
<i>Ralstonia syzygii</i>	Pathogen indicator/ Indicadoras de patógenos	F: AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT R: ATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGCA	67.1
<i>Bacillus subtilis</i>	Cellulose degrader/ Degradadoras de celulosa	F: ACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGT R: ACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTT	66.6

Chemical indicators

For the chemical characterization of the soil, a complete mineral, organic matter, and pH analysis was conducted using the Mehlich III extraction technique.

Statistical analysis

Mean comparisons of the results obtained with the Shannon-Weaver ($P \leq 0.004$) and richness ($P \leq 0.001$) indices were made using the Kruskal-Wallis non-parametric test, for which the InfoStat statistical program was used (Argentina, 2010).

Results

Biophysical and environmental diagnosis

Table 2 summarizes the predominant biophysical characteristics in each of the sampled farms. Disease severity was classified as high or moderate. Low severity was when less than the 50 % of the total plants in the farm presented moderate symptoms. High severity was assigned when more than 90 % of the total plants in the farm were diseased, presenting all the symptoms of *Fusarium* wilt in the last stage.

Biochemical profile of the microbial communities associated with FOC R1

AWCD values were transformed using \log_{10} and showed changes in microbial abundance and metabolic activity (Figure 1). An increment in absorbance was observed as the incubation time progressed. The abandoned farms (5 and 6) showed the fastest reaction and farm7 the slowest.

microorganismos (Cuadro 1), los cuales son indicadores de la sanidad del suelo y de los principales patógenos de las plantas de banana (Xinqi et al., 2015). Para cada especie se diseñaron cebadores utilizando el programa bioinformático Primer 3Plus. Los microorganismos presentes en el suelo se determinaron por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Se utilizó el kit de extracción de ADN Power Soil® (MoBio Laboratories Inc, Reino Unido), y la integridad del ADN extraído se corroboró por electroforesis en gel de agarosa. Para determinar la identidad específica de los microorganismos, se realizó una secuenciación tipo Sanger de las bandas amplificadas de ADN. Las secuencias se compararon en la base de datos del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*).

Indicadores químicos

Para la caracterización química del suelo, se realizó un análisis mineral completo, de materia orgánica y de pH mediante la técnica de extracción Mehlich III.

Análisis estadístico

Se realizaron comparaciones de medias de los valores obtenidos con los índices de Shannon-Weaver ($P \leq 0.004$) y de riqueza ($P \leq 0.001$) mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, para lo cual se utilizó el programa estadístico InfoStat (Argentina, 2010).

Resultados

Diagnóstico biofísico y medioambiental

El Cuadro 2 resume las características biofísicas predominantes en cada plantación muestreada. La

Table 2. Physical characteristics of each farms sampled.

Cuadro 2. Características físicas de plantación muestreada.

Farm/ Plantación	Fusariosis severity/ Severidad de fusariosis	Altitude (m)/ Altitud (m)	Temperature (°C)/ Temperatura (°C)	Soil type/ Tipo de suelo	Relative humidity (%)/ Humedad relativa (%)
1 – Organic/ 1 – Orgánica	Low/Baja	1,000.69	25	Andisol/Andosol	77
2 – Organic/ 2 – Orgánica	High/Alta	1,188	25	Andisol/Andosol	77
3 – Conventional/ 3 – Convencional	High/Alta	763.6	29	Andisol/Andosol	72
4 – Conventional/ 4 – Convencional	Low/Baja	465.19	22	Inceptisol	82
5 – Abandoned/ 5 – Abandonada	Low/Baja	524.01	20	Inceptisol	80
6 – Abandoned/ 6 – Abandonada	High/Alta	427.9	22	Inceptisol	82
7 – Forest / 7 – Bosque	-	1211	28	Andisol/Andosol	70

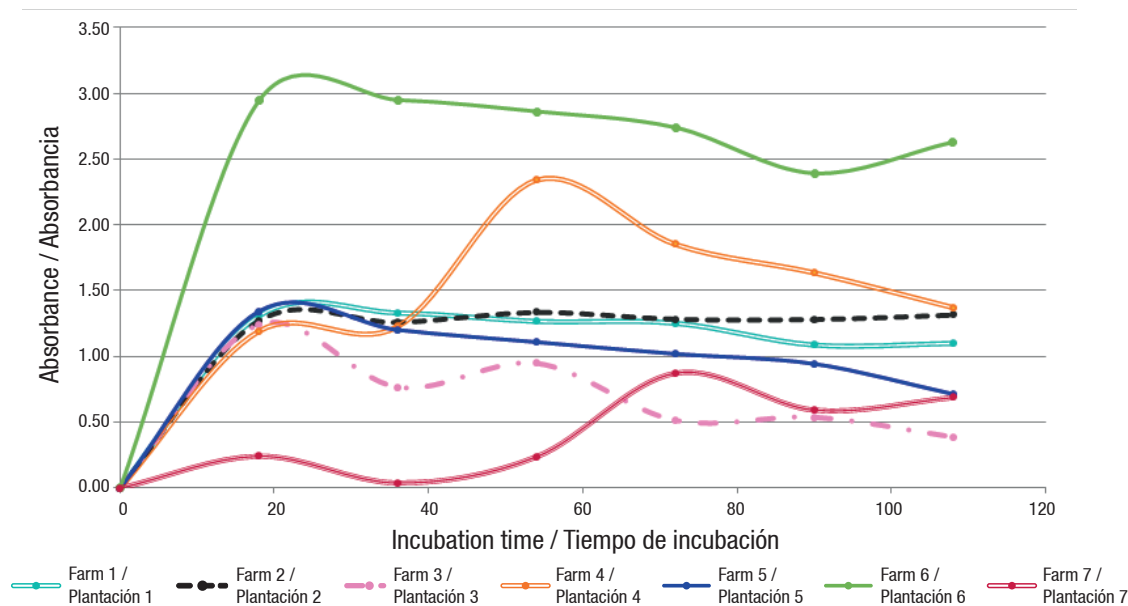


Figure 1. Average well color development (AWCD) of the seven tested farms until 108 h of incubation. Farms 1 y 2 = organic; Farms 3 y 4 = intermediate conventional agronomic management; Farms 5 y 6 = abandoned; Farm 7 = forest (negative control).

Figura 1. Desarrollo promedio del color (DPC) de las siete plantaciones estudiadas durante las 108 h de incubación. Plantaciones 1 y 2 = orgánicas; Plantaciones 3 y 4 = manejo agronómico convencional intermedio; Plantaciones 5 y 6 = abandonadas; Plantación 7 = bosque (testigo negativo).

Farm 6 had the greatest absorbance values from 20 to 108 h, which means a high metabolic response to the substrates. Farms 1, 2 and 5 had similar behavior in their profiles throughout the experiment. Farms 3 and 7 showed a profile under 1 in the absorbance value.

The total number of carbon sources metabolized by soil microorganisms relative to the total number of substrates shows the specific richness (Figure 2). It was observed that the largest number of metabolized substrates was obtained at 108 h, farm 6 (abandoned) being the one that presented the highest value. In terms of diversity, the results show that farm 2 had the largest functional diversity at 108 h of incubation (Figure 3).

A PCA was conducted. The first two components encompassed 88.8 % of the variance (Figure 4). PC1 shows an important positive correlation with amino acids, polymers, and carboxylic acids. At the same time, there is a strong negative correlation with amines. PC2 has a high and positive correlation with carbohydrates, moderately important with amines and a strong negative correlation with phenols. Farms 3 and 7 are positively influenced by PC1, while farms 2 and 3 are positively influenced by PC2. In the case of farms 1, 6, 5 and 4, they are very close to value 0 or graph axis. Farm 4 also appears to be more associated with phenolic compounds (Figure 4).

severidad de la enfermedad se clasificó como baja cuando menos de 50 % de las plantas presentaban síntomas moderados, mientras que la severidad alta se asignó cuando más de 90 % de las plantas estaban enfermas, presentando todos los síntomas de marchitez de *Fusarium* en la última etapa.

Perfil bioquímico de las comunidades microbianas asociadas a FOC R1

Los valores del DPC se transformaron utilizando el \log_{10} , y mostraron cambios en la abundancia microbiana y la actividad metabólica (Figura 1). Se observó un aumento en la absorbancia conforme avanzó el tiempo de incubación. Las plantaciones abandonadas (5 y 6) mostraron la reacción más rápida, y la plantación testigo (7), la más lenta.

La plantación 6 presentó los mayores valores de absorbancia entre las 20 y 108 h, lo cual indica una respuesta metabólica alta a los sustratos. Las plantaciones 1, 2 y 5 mostraron comportamientos similares en los perfiles a lo largo del experimento, y las plantaciones 3 y 7 presentaron un perfil menor a 1 en el valor de absorbancia.

El número total de fuentes de carbono metabolizadas por los microorganismos del suelo en relación con el número total de sustratos se observa mediante la

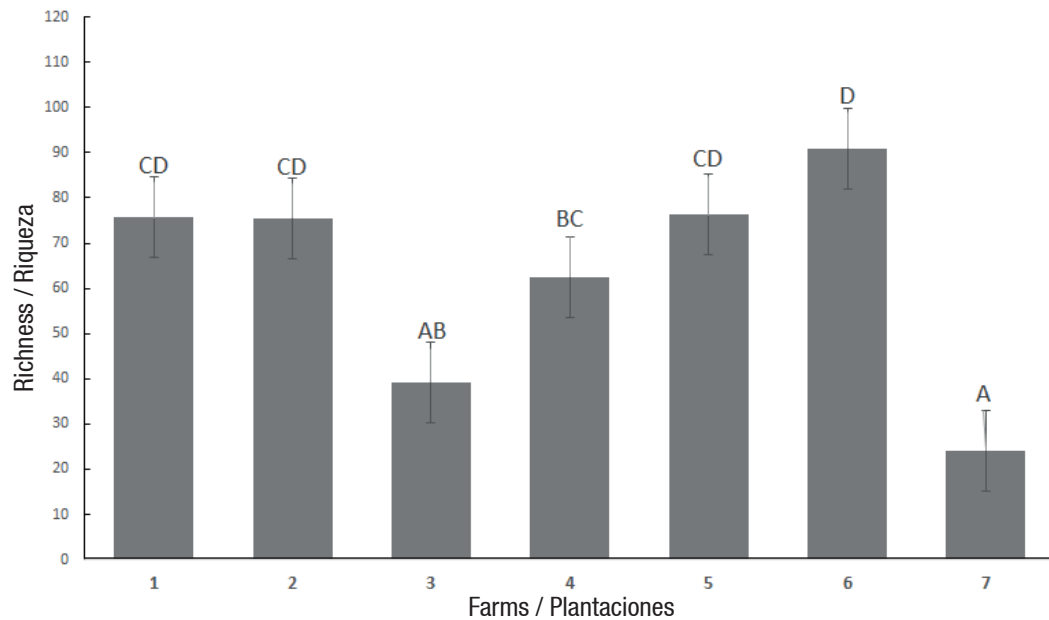


Figure 2. Richness index of the microbial community of the seven tested farms until 108 h of incubation in EcoPlates at 26 °C. Farms 1 y 2 = organic; Farms 3 y 4 = intermediate conventional agronomic management; Farms 5 y 6 = abandoned; Farm 7 = forest (negative control). ^aSame letter within each bar do not differ statistically (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.001$).

Figura 2. Índice de riqueza de las comunidades microbianas de las siete plantaciones estudiadas a las 108 h de incubación en placas EcoPlates a 26 °C. Plantaciones 1 y 2 = orgánicas; Plantaciones 3 y 4 = manejo agronómico convencional intermedio; Plantaciones 5 y 6 = abandonadas; Plantación 7 = bosque (testigo negativo). ^aLetras iguales entre barras no difieren estadísticamente (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.001$).

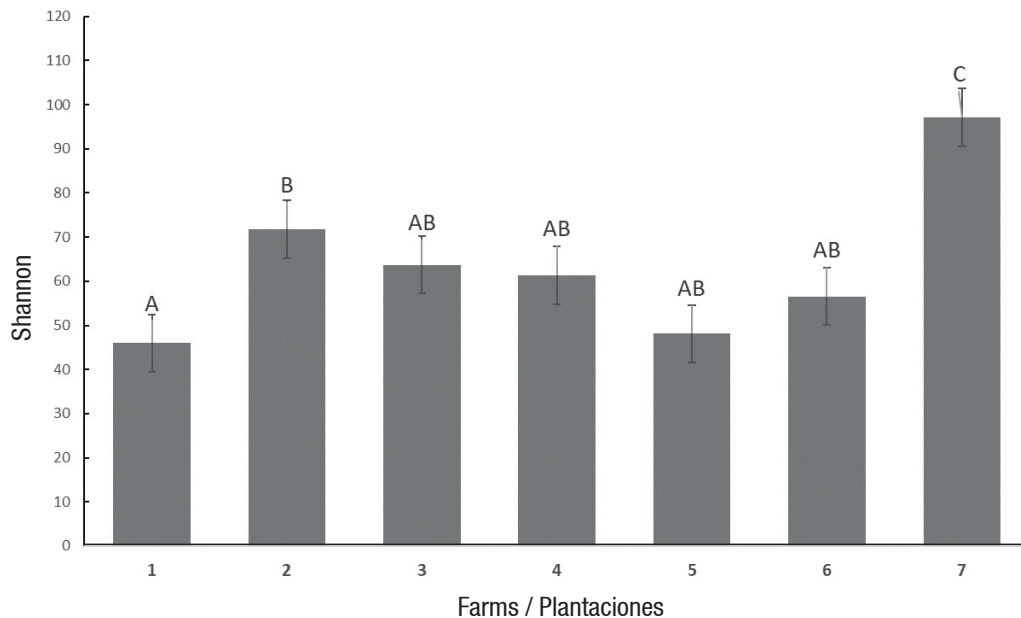


Figure 3. Shannon-Weaver index of the microbial community of the seven tested farms until 108 hours of incubation in EcoPlates at 26 °C. Farms 1 y 2 = organic; Farms 3 y 4 = intermediate conventional agronomic management; Farms 5 y 6 = abandoned; Farm 7 = forest (negative control). ^aSame letter within each bar do not differ statistically (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.004$).

Figura 3. Índice de Shannon-Weaver de las comunidades microbianas de las siete plantaciones estudiadas a 108 h de incubación en placas EcoPlates a 26 °C. Plantaciones 1 y 2 = orgánicas; Plantaciones 3 y 4 = manejo agronómico convencional intermedio; Plantaciones 5 y 6 = abandonadas; Plantación 7 = bosque (testigo negativo). ^aLetras iguales entre barras no difieren estadísticamente (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.004$).

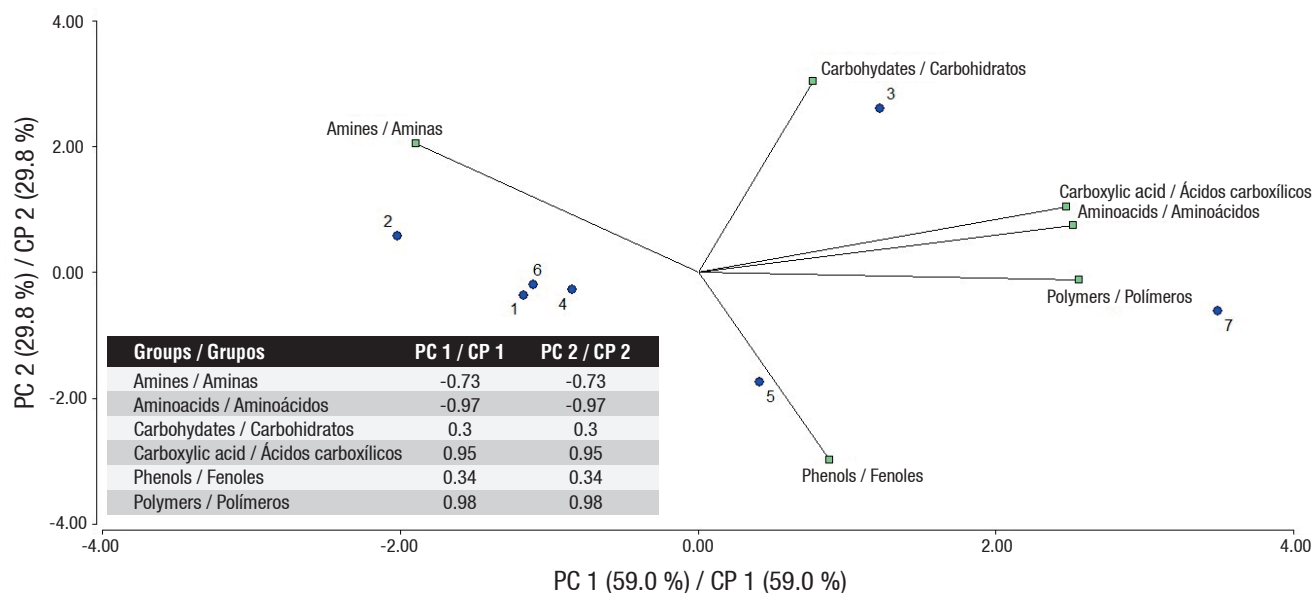


Figure 4. Bi-plot graph of the principal component analysis obtained from the analysis of average well color development (AWCD) at 54 h of incubation in EcoPlates. Farms 1 y 2 = organic; Farms 3 y 4 = intermediate conventional agronomic management; Farms 5 y 6 = abandoned; Farm 7 = forest (negative control).

Figura 4. Diagrama Biplot del análisis de componentes principales obtenido del análisis del desarrollo promedio del color (DPC) a las 54 h de incubación en placas EcoPlates. Plantaciones 1 y 2 = orgánicas; Plantaciones 3 y 4 = manejo agronómico convencional intermedio; Plantaciones 5 y 6 = abandonadas; Plantación 7 = bosque (testigo negativo).

Microbial indicators

All designed primers were evaluated with seven sampled farms to corroborate the presence or absence of different microorganisms. Microorganisms identified with an identity percentage above 95 % are shown in Table 3. It was observed that among farms with the same conditions, different species of bacteria were found; although *Bacillus* was identified on all farms. The presence of *Ralstonia* in several of the analyzed soils indicates that they have ideal conditions for the development of root pathogens. In general, the soils are very diverse in terms of the indicator microorganisms that were found.

Chemical indicators

As can be seen in Table 4, farms 3 and 7 have acidity problems, while their percentages of organic matter are quite elevated. All effective cation exchange capacity (ECEC) and micronutrient values were found within the established range for moderately fertile soils (Estrada-Herrera et al., 2017).

Discussion

Metabolic analysis of microbial communities involves the characterization of biochemical patterns that enables establishing the consumption of carbon sources in a specific time. In general terms, the diversity-

riqueza específica (Figura 2), en donde el mayor número de sustratos metabolizados se obtuvo a las 108 h con la plantación 6 (abandonada). En términos de diversidad, los resultados muestran que la plantación 2 tuvo la mayor diversidad funcional a las 108 h de incubación (Figura 3).

En cuanto al ACP, los dos primeros comprendieron el 88.8 % de la varianza (Figura 4). El CP1 muestra una importante correlación positiva con los aminoácidos, polímeros y ácidos carboxílicos y, al mismo tiempo, existe una fuerte correlación negativa con las aminas. El CP2 tiene una correlación alta y positiva con los carbohidratos, una importancia media con las aminas y una fuerte correlación negativa con los fenoles. Las plantaciones 3 y 7 están influenciadas positivamente por el CP1, mientras que las plantaciones 2 y 3 están influenciadas positivamente por el CP2. El resto de las plantaciones (1, 6, 5 y 4) están muy cerca del valor 0, o del eje del gráfico, aunque la plantación 4 también parece estar un poco asociada con los compuestos fenólicos (Figura 4).

Indicadores microbianos

Todos los cebadores diseñados se evaluaron en las siete plantaciones muestreadas para corroborar la presencia o ausencia de los diferentes microorganismos. Los microorganismos con un porcentaje de identidad mayor a 95 % se muestran en el Cuadro 3, en donde

Table 3. Microorganisms identified on each farm.**Cuadro 3. Microorganismos identificados en cada plantación.**

Farm/ Plantación	Microorganisms found/ Microorganismos encontrados	Identity (%)/ Identidad (%)	E-value/ E-value
1	<i>Nostoc</i>	94	2e-19
	<i>Bacillus</i> sp.	99	6e-64
2	<i>Ralstonia</i> sp.	97	6e-62
	<i>Rhizobium</i>	97	4e-08
	<i>Bacillus subtilis</i>	99	2e-51
3	<i>Ralstonia</i> sp.	94	1e-46
	<i>Streptomyces</i>	95	4e-08
	<i>Bacillus subtilis</i>	100	9e-63
4	<i>Azospirillum</i>	95	3e-21
	<i>Nostoc</i> sp.	100	5e-07
	<i>Bacillus</i> sp.	100	6e-60
5	<i>Ralstonia</i> sp.	95	1e-50
	<i>Bacillus subtilis</i>	100	7e-56
6	<i>Nostoc</i> sp.	100	3e-07
	<i>Bacillus</i> sp.	100	1e-56
7	<i>Ralstonia</i> sp.	98	1e-63
	<i>Bacillus subtilis</i>	100	4e-66

Table 4. Chemical analysis of the seven types of soil sampled.**Cuadro 4. Análisis químico del suelo de las siete plantaciones muestreadas.**

Farm/ Plantación	pH	Acidity/ Acidez	Ca	Mg	K	ECEC/ CICE	AS (%)/ SA (%)	(Ca+Mg)/K	P	Fe	Cu	Zn	Mn	B	OM (%)/ MO (%)
1	5.32	1.23	4.39	0.91	0.16	12.63	9.74	33.13	6	150	6.1	1.3	15	0.15	16.7
2	5.62	0.30	19.90	4.77	0.44	28.27	1.06	56.07	26	271	3.3	6.4	88	0.31	11.2
3	4.26	13.00	5.44	2.29	0.27	25.93	50.13	28.63	10	247	5.2	2.4	104	0.14	8.6
4	5.88	0.22	20.70	4.92	0.70	29.94	0.73	36.60	26	229	4.1	7.9	74	0.38	10.5
5	6.02	0.14	16.00	3.81	0.60	28.35	0.49	33.02	41	291	8.4	4.3	99	0.29	7.2
6	5.74	0.24	13.30	3.83	0.49	19.57	1.23	34.96	26	164	2.2	1.2	49	0.28	11.4
7	4.68	3.08	1.21	0.47	0.26	7.66	40.21	6.46	13	222	2.9	2.1	16	0.19	35.7

ECEC = effective cation exchange capacity; AS = acidity saturation ; OM = organic matter.

CICE = capacidad de intercambio catiónico efectiva; SA = saturación de acidez; MO = materia orgánica.

function relationship can be determined from the microbial community present (Arteaga-Garibay, Gómez-Estrada, Martínez-Peña, Cadena-Zamudio, & Avendaño-Arrazate, 2016).

The obtained metabolic profile showed that abandonment and agronomic intervention are two processes that make different microbial communities. In this case, the highest levels of AWCD were present in the conventional management (4) and abandoned (6) farms. However, in terms of richness and diversity, the organic farms (1 and 2) remained among the highest indices along with the abandoned (6) and control (7) farms.

se puede observar que entre las plantaciones con las mismas condiciones se encontraron diferentes especies de bacterias; aunque *Bacillus* se identificó en todas las plantaciones. La presencia de *Ralstonia* en muchos de los suelos analizados indica que tienen condiciones ideales para el desarrollo de patógenos radiculares. En general, los suelos fueron muy diversos en cuanto a los microorganismos indicadores encontrados.

Indicadores químicos

Como se puede observar en el Cuadro 4, las plantaciones 3 y 7 tienen problemas de acidez, y porcentajes de materia orgánica bastante elevados. Todos los valores

The AWCD profile from the two organic fields is similar, but they are very different from the other systems (conventional and abandoned systems). Some authors such as Liu, Tu, Hu, Gumpertz, and Beagle-Ristaino (2006) indicate that farms under organic management are the ones that show the largest differences relative to other types of management, which agrees with our observations, where farm 4 had higher AWCD values compared to the homogeneous behavior of the two organic farms. Nonetheless, this can be partly due to the extent of intervention on each farm.

Liu et al. (2006) found significant differences in the functional richness of microbial communities, obtaining higher richness values in organic farms when performing comparative analyses between different types of agronomic management systems. In this study, high richness values were obtained in the organic farms (1 and 2), and statistical differences were observed with farm 3 (Figure 2).

The similarities found in the Shannon index suggests that management practices have not exerted a major influence on the functional structure of the soil microbial community (Lopes et al., 2010). Low Shannon-Weaver values suggest that members of different communities are very analogous with each other, which does not allow them to have high levels of functional diversity.

Deltour et al. (2017) analyzed the impact of FOC at different locations on a single farm managed as an agroforestry system based on agroecological principles (without the use of synthetic fertilizers), and they found that the area with the highest levels of FOC suppression was the one managed on the basis of a total agroforestry management system since 1995; it has some specific characteristics, such as higher soil clay content, pH and electrical conductivity (EC) values. They also discovered that the areas with a higher degree of suppression had a higher diversity of other banana cultivars, a lower soil cover and a higher abundance of adult trees (Deltour et al., 2017).

It has been found that a mixture of at least two banana varieties, with different levels of *Fusarium* wilt resistance is associated with a higher degree of disease suppression (Karangwa, Blomme, Beedd, Niyongere, & Viljoen, 2016). As bananas differ in their biochemical root composition and root exudation, they might be colonized by different microbial communities and thus modulate the soil pathogens (Wuyts et al., 2007).

Shen et al. (2019) studied the use of synthetic fertilizers and chemical pesticides (such as ammonia) in conventional agronomic management and found that fumigated soils exhibited a lower abundance of

de la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) y de micronutrientes se encontraron dentro del rango establecido para suelos moderadamente fértiles (Estrada-Herrera et al., 2017).

Discusión

El análisis metabólico de las comunidades microbianas implica la caracterización de patrones bioquímicos que permiten establecer el consumo de las fuentes de carbono en un tiempo determinado. En términos generales, la relación diversidad-función se puede determinar a partir de la comunidad microbiana presente (Arteaga-Garibay, Gómez-Estrada, Martínez-Peña, Cadena-Zamudio, & Avendaño-Arrazate, 2016).

El perfil metabólico obtenido mostró que el abandono y la intervención agronómica son condiciones que hacen que las comunidades microbianas sean diferentes. En este caso, los niveles más altos de DPC estuvieron presentes en las plantaciones de manejo convencional (4) y la abandonada (6). No obstante, en términos de riqueza y diversidad, las plantaciones orgánicas (1 y 2) se mantuvieron entre los índices más altos junto con la plantación abandonada (6) y la testigo (7).

El DPC de las plantaciones orgánicas es similar en ambas, aunque son muy diferentes de los otros sistemas (sistemas convencionales y abandonados). Algunos autores como Liu, Tu, Hu, Gumpertz, y Beagle-Ristaino (2006) indican que las plantaciones orgánicas son las que muestran las mayores diferencias en relación con otros tipos de manejo, lo cual coincide con lo encontrado en este trabajo, en donde la plantación 4 presentó valores más altos en el DPC en comparación con el comportamiento de las plantaciones orgánicas. No obstante, esto se puede deber al alcance de la intervención en cada plantación.

Liu et al. (2006) encontraron diferencias significativas en cuanto a la riqueza funcional de las comunidades microbianas, obteniendo valores de riqueza más altos en las plantaciones orgánicas al realizar análisis comparativos entre los distintos tipos de sistemas de manejo agronómico. En este trabajo, se obtuvieron valores de riqueza altos en las plantaciones orgánicas (1 y 2), observándose diferencias estadísticas con la plantación 3 (Figura 2).

Las similitudes encontradas en el índice de Shannon sugieren que las prácticas de manejo no ejercen una influencia importante en la estructura funcional de las comunidades microbianas del suelo (Lopes et al., 2010). Los bajos valores del índice de Shannon-Weaver sugieren que los miembros de las diferentes comunidades son muy similares entre sí, lo cual no les permite tener niveles altos de diversidad funcional.

fungal microbes and FOC; however, there was a non-significant difference in the bacterial community in the two cases: fumigated soils and non-fumigated soils. Also, the Shannon diversity showed no significant effect on the microbial community in both soils.

Biofertilizer application after soil fumigation modified the disturbed soil microbial community induced by banana mono-cropping, leading to a unique soil microbial community. This is an indicator that in some cases organic amendments (like biofertilizers) applied to soil after fumigation, may be beneficial for diversification of microbial community, which was reported to result in reduced FOC in the soil (Shen et al., 2019; Wang et al., 2012).

The PCA showed a high positive correlation of carboxylic acids, polymers and amino acids found in PC1 denote the importance of these substances in soil microbial dynamics. These compounds are part of organic matter, which is constituted by animal and plant residuals in different degrees of decomposition; most of these compounds are carbohydrates, cellulose, lignin, proteins, amino acids, and waxes. All these substances are primary sources of nutrients for macro and microorganisms (Schmidt et al., 2011). Carboxylic acids can also be exuded by plants, through the roots (this can occur due to stress caused by lack of nutrients); with these exudates, in turn, providing food and energy for microorganisms in the soil (López-Reyes et al., 2012). In soil renewal processes, mainly the most complex polymers, carboxylic acids, and amino acids are metabolized (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2006).

Regarding the amines, in PC1 they are not consumed but in PC2 they are the second factor of consumption; this makes the points very close to the central axis in the graph, which may suggest that farms located close to it do not show a clear predilection for a given substrate. The two organic farms (1 and 2) did not show significant statistical differences between them, both in the physiological profile analysis as well as in one of the PC; therefore, it can be said that they have very homogeneous biochemical behavior.

Farm 7 (control) shows behavior highly affected by carboxylic acids, amino acids and polymers, therefore tending towards the positive values of PC1. Jangid et al. (2008) have detailed the chemical and biological differences with forests, which are frequently used as controls in agronomic studies of farms. Differences have been found in terms of carbon source usage by forest microorganisms relative to those of agricultural soils, and greater consumption of less energetic substrates such as carboxylic acids and amino acids has been observed. This is probably because forest

Deltour et al. (2017) analizaron el impacto del FOC en diferentes lugares de una plantación manejada bajo un sistema agroforestal basado en principios agroecológicos (sin el uso de fertilizantes sintéticos), y encontraron que el área con los niveles más altos de supresión de FOC era la manejada sobre la base de un sistema agroforestal total desde 1995. Dichas áreas tenían algunas características específicas, como valores más altos del contenido de arcilla en el suelo, del pH y de conductividad eléctrica (CE). Estos autores también observaron que las áreas con un mayor grado de supresión presentaban una mayor diversidad de otros cultivos de banano, una menor cobertura del suelo y una mayor abundancia de árboles adultos (Deltour et al., 2017).

Se ha comprobado que una combinación de al menos dos variedades de banano, con diferentes niveles de resistencia a la marchitez por *Fusarium*, se asocia con un mayor grado de supresión de la enfermedad (Karangwa, Blomme, Beedd, Niyongere, & Viljoen, 2016). Dado que los bananos difieren en la composición bioquímica de sus raíces y en la exudación de las mismas, estos pueden ser colonizados por diferentes comunidades microbianas y, por lo tanto, modular los patógenos edáficos (Wuyts et al., 2007).

Shen et al. (2019) estudiaron el uso de fertilizantes sintéticos y plaguicidas químicos (como el amoníaco) en el manejo agronómico convencional y encontraron que los suelos fumigados presentaban una menor abundancia de microbios fúngicos y de FOC; sin embargo, hubo una diferencia no significativa en la comunidad bacteriana en ambos casos: suelos fumigados y suelos no fumigados. Además, la diversidad de Shannon no mostró ningún efecto significativo en la comunidad microbiana de ambos suelos.

La aplicación de biofertilizantes después de fumigar el suelo modifica la comunidad microbiana del suelo perturbada por el monocultivo de banano, lo cual da lugar a una comunidad microbiana única. Esto indica que, en algunos casos, los mejoradores orgánicos (como los biofertilizantes) aplicados al suelo después de la fumigación pueden ser benéficos para la diversificación de la comunidad microbiana, lo que da lugar a una reducción del FOC en el suelo (Shen et al., 2019; Wang et al., 2012).

El ACP mostró una alta correlación positiva de los ácidos carboxílicos, polímeros y aminoácidos en el CP1, lo que denota la importancia de estas sustancias en la dinámica microbiana del suelo. Estos compuestos forman parte de la materia orgánica, que está constituida por residuos animales y vegetales en diferentes grados de descomposición; la mayoría de estos compuestos son carbohidratos, celulosa,

cover has high concentrations of organic matter and without soil mechanical alteration lower pH values are exhibited, so the microorganisms present will have a greater preference for acid substrates (Brackin, Robinson, Lakshmanan, & Schmidt, 2013).

Concerning the diverse roles played by microorganisms in the soil, those groups with major importance for banana farms were chosen. Results show the presence of *Bacillus* bacteria at all sites, something previously reported by other researchers in banana soils (Fu, Ruan, Tao, Rong, & Shen 2016), where *Bacillus* spp. is catalogued as one of the most predominant species even under different types of agricultural management (organic and conventional). One of the main functions of *Bacillus* spp. is to degrade cellulose; however, some authors indicate that these bacteria can also play other vital roles in soils such as urea solubilization, nitrogen compound oxidation and antibiotic production (Chaparro, Sheflin, Manter, & Vivanco, 2011).

Other organisms were also searched for, such as *Azospirillum* spp. and *Nostoc* spp., with variable results in terms of their presence in different sampled areas. Results show that there is no evenness in microbial communities of sites under the same agronomic management, which agrees with other studies that describe microbiological differences in farms with organic management. Wessén, Hallin, and Philippot (2010) found that conducting different activities and applying different organic amendments to this crop modality cause distinct effects on soil, with metabolic activity being promoted in some cases but not in others. Therefore, under the same type of agronomic management, farming activities could make an important difference in terms of microbiome composition.

The results show that the farm with the greatest presence of beneficial indicator microorganisms is the one with conventional management (farm 4), in which the microorganisms *Azospirillum* spp, *Nostoc* spp., and *Bacillus* spp. stood out (Table 3), while the presence of *Ralstonia* spp. was not detected. The absence of this pathogen could be a signal of effective crop protection practices, and the presence of several beneficial indicators could indicate good soil management. *Nostoc* spp is characterized by being a photosynthesizer with the ability to fix atmospheric nitrogen; these characteristics allow it to be one of the first colonizers of decomposing matter, by providing oxygen to the environment through photosynthesis and thus allowing other aerobic bacteria to grow later (Obana, Miyamoto, Morita, Ohmori, & Inubushi, 2007). In addition, *Azospirillum* spp. is associated with phosphorus-rich compounds, solubilization and atmospheric nitrogen fixation and secretion of plant

lignina, proteínas, aminoácidos y ceras. Todas estas sustancias son fuente primaria de nutrientes para macro- y microorganismos (Schmidt et al., 2011). Los ácidos carboxílicos también pueden ser exudados por las plantas a través de las raíces (esto puede ocurrir debido al estrés causado por la falta de nutrientes); estos exudados, a su vez, proporcionan alimento y energía para los microorganismos en el suelo (López-Reyes et al., 2012). En los procesos de renovación del suelo se metabolizan principalmente los polímeros más complejos, los ácidos carboxílicos y los aminoácidos (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2006).

En cuanto a las aminas, en el CP1 no son consumidas, pero en el CP2 son el segundo factor de consumo. Esto sitúa los puntos muy cercanos del eje central del gráfico, lo que puede sugerir que las plantaciones situadas cerca de él no muestran una predilección clara por un determinado sustrato. Las plantaciones orgánicas (1 y 2) no mostraron diferencias estadísticas significativas entre sí, tanto en el análisis del perfil fisiológico como en algunos de los CP; por lo tanto, se puede decirse que tienen un comportamiento bioquímico muy homogéneo.

La plantación 7 (testigo) muestra un comportamiento altamente influenciado por los ácidos carboxílicos, aminoácidos y polímeros; por ende, tiende a los valores positivos del CP1. Jangid et al. (2008) detallaron las diferencias químicas y biológicas de bosques que se utilizan frecuentemente como testigos en estudios agronómicos de plantaciones. Se han encontrado diferencias en el uso de fuentes de carbono por parte de los microorganismos forestales en comparación con los de suelos agrícolas, y se ha observado un mayor consumo de sustratos menos energéticos como los ácidos carboxílicos y los aminoácidos. Lo anterior debido, probablemente, a que la cobertura forestal tiene altas concentraciones de materia orgánica, y sin alteración mecánica del suelo se presentan valores de pH más bajos; por tanto, los microorganismos presentes tienen una mayor preferencia por sustratos ácidos (Brackin, Robinson, Lakshmanan, & Schmidt, 2013).

En cuanto a las diversas funciones desempeñadas por los microorganismos en el suelo, se eligieron los grupos de mayor importancia para las plantaciones bananeras. Los resultados muestran la presencia de la bacteria *Bacillus* en todos los sitios, situación que han informado otros investigadores (Fu, Ruan, Tao, Rong, & Shen 2016), donde *Bacillus* spp. está catalogada como una de las especies más predominantes en los suelos de explotaciones bananeras, incluso bajo diferentes tipos de manejo agronómico (orgánico y convencional). Una de las funciones principales de *Bacillus* spp. es degradar la celulosa; sin embargo, algunos

growth regulators (García-Orenes et al., 2010; Méndez-Gómez, Castro-Mercado, & García-Pineda, 2014).

Due to the high incidence of *Bacillus* found in the rhizosphere of all the sampled farms, it is considered a very important microorganism for soil health; it promotes plant growth and at the same time has an antibiotic effect against phytopathogens. Surprisingly, farm 7 (control) has the presence of *Ralstonia* and does not have the majority of cycle indicators.

The results obtained in soil chemical analysis show that all farms have an ECEC higher than the theoretical value established for a high fertility level (Estrada-Herrera et al., 2017). In zero tillage (abandoned) farms, high ECEC values can be seen. This characteristic favors the concentration of organic matter and nitrogen compounds; in addition, it prevents erosion, and decreases mineral leaching in the soil and general microbiological conditions (Sadzawka, 2011). The acidification that occurs in no-till systems does not necessarily mean an increase in interchangeable aluminum, because soil physical structure is not being altered, and the content of organic compounds increases, which are capable of catching Al ions, which decrease the toxicity of this compound for plants.

Conclusions

The metabolic profile, diversity and richness of each of the different farms were affected by the type of agronomic management used. But the composition of the communities in the rhizosphere of banana plants seems to be determined by a series of highly complex factors. Farm 4 (intermediate conventional) stood out, presenting the most favorable values in all factors analyzed, with all obtained values indicating that it is a metabolically very active soil under the presence of beneficial populations.

Differences in chemical and physical factors and the microbiome soil communities were observed under the different agronomic management systems. The sequencing analysis determined that genus *Bacillus* is the most predominant group in all farms, but differences were found regarding the presence of indicator microorganisms. There are important microorganism groups that reflect soil health and pathogen resistance (*Baccillus*, *Azospirillum*, *Nostoc*, and *Streptomyces*). Microorganism communities established in the banana rhizosphere and the factors that affect them are some of the most unknown aspects of developing good farming practices.

autores indican que estas bacterias también pueden desempeñar otras funciones vitales en los suelos, como la solubilización de la urea, la oxidación de compuestos nitrogenados y la producción de antibióticos (Chaparro, Sheflin, Manter, & Vivanco, 2011).

Otros organismos, como *Azospirillum* spp. y *Nostoc* spp., presentaron resultados variables en cuanto a su presencia en diferentes áreas de muestreo. Los resultados muestran que no hay uniformidad entre las comunidades microbianas de los sitios bajo el mismo manejo agronómico, lo cual coincide con otros estudios que describen diferencias microbiológicas en plantaciones orgánicas. Wessén, Hallin, y Philippot (2010) encontraron que realizar actividades diferentes y aplicar diferentes mejoradores orgánicos a esta modalidad de cultivo causan efectos distintos en el suelo, lo que promueve la actividad metabólica en algunos casos, pero en otros no. Por lo tanto, bajo el mismo tipo de manejo agronómico, las actividades agrícolas podrían marcar una diferencia importante en términos de la composición del microbioma.

Los resultados muestran que la plantación con mayor presencia de microorganismos indicadores benéficos es una de manejo convencional (plantación 4), en la cual se destacaron los microorganismos *Azospirillum* spp., *Nostoc* spp. y *Bacillus* spp. (Cuadro 3), mientras que no se detectó la presencia de *Ralstonia* spp. La ausencia de este patógeno podría ser una señal de prácticas eficaces de protección del cultivo, y la presencia de numerosos indicadores benéficos podría indicar un buen manejo del suelo. *Nostoc* spp. se caracteriza por ser un fotosintetizador con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico; estas características le permiten ser uno de los primeros colonizadores de la materia en descomposición, al proporcionar oxígeno al medioambiente por medio de la fotosíntesis, y con ello permitir el crecimiento de otras bacterias aeróbicas (Obana, Miyamoto, Morita, Ohmori, & Inubushi, 2007). Por su parte, *Azospirillum* spp. se asocia con compuestos ricos en fósforo, solubilización y fijación de nitrógeno atmosférico, y secreción de reguladores de crecimiento vegetal (García-Orenes et al., 2010; Méndez-Gómez, Castro-Mercado, & García-Pineda, 2014).

Debido a la alta incidencia de *Bacillus* en la rizosfera de todas las plantaciones muestreadas, se considera que es un microorganismo muy importante para la sanidad del suelo, ya que promueve el crecimiento vegetativo y, al mismo tiempo, tiene un efecto antibiótico contra fitopatógenos. Sorpresivamente, la plantación 7 (testigo) presenta *Ralstonia* sp. y no la mayoría de los indicadores de ciclo.

Los resultados obtenidos en el análisis químico del suelo muestran que todas las plantaciones tienen

End of English version

References / Referencias

- Arteaga-Garibay, R. I., Gómez-Estrada, M. M., Martínez-Peña, M. D., Cadena-Zamudio, J. D., & Avendaño-Arrazate, C. H. (2016). Diversidad metabólica funcional de comunidades microbianas asociadas a suelo rizosférico de maíz (*Zea mays* L.) razas amarillo-zamorano y jala. *Agro Productividad*, 9(8), 87-91. Retrieved from <http://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/807/671>
- Bommarco, R., Kleijn, D., & Potts, S. (2013). Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(4), 230-238. doi: 10.1016/j.tree.2012.10.012
- Brackin, R., Robinson, N., Lakshmanan, P., & Schmidt, S. (2013). Microbial function in adjacent subtropical forest and agricultural soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 57, 68-77. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.07.015
- Chaparro, J. M., Sheflin, A. M., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2011). Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biology and Fertility of Soils*, 48, 489-499. doi: 10.1007/s00374-012-0691-4
- Deltour, P., França, S. C., Liparini-Pereira, O., Cardoso, I., de Neve, S., Debode, J., & Höfte, M. (2017). Disease suppressiveness to Fusarium wilt of banana in an agroforestry system: influence of soil characteristics and plant community. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 239, 173-181. doi: 10.1016/j.agee.2017.01.018
- Estrada-Herrera, I. R., Hidalgo-Moreno, C., Guzmán-Plazola, R., Almaraz-Suárez, J. J., Navarro-Garza, H., Etchevers-Barra, J. D. (2017). Soil quality indicators to evaluate soil fertility. *Agrociencia*, 51(8), 813-831. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000800813&lng=es&tln=en
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2006). *Conservación de los recursos naturales para una agricultura sostenible. Materia orgánica y actividad biológica*. Retrieved November 2, 2017 from http://www.fao.org/ag/ca/training_materials/cd27-spanish/ba/organic_matter.pdf
- Fraç, M., Oszust, K., & Lipiec, J. (2012). Community level physiological profiles (CLPP), characterization and microbial activity of soil amended with dairy sewage sludge. *Sensors*, 12(3), 3253-3268. doi: 10.3390/s120303253
- Fu, L., Ruan, Y., Tao, C., Rong, L., & Shen, Q. (2016). Continuous application of bioorganic fertilizer induced resilient culturable bacteria community associated with banana Fusarium wilt suppression. *Scientific Reports*, 6(1), 27731. doi: 10.1038/srep27731
- García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdá, A., Campoy, M., Zornoza, R., Bárcenas, G., & Caravaca, F. (2010). Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil & Tillage Research*, 109(2), 110-115. doi: 10.1016/j.still.2010.05.005
- Ge, Z., Du, H., Gao, Y., & Qiu, W. (2018). Analysis on metabolic functions of stored rice microbial communities by Biolog EcoPlate microplates. *Frontiers in microbiology*, 9, 1375. doi: 10.3389/fmicb.2018.01375
- una CICE más alta que el valor teórico establecido para un nivel de fertilidad alto (Estrada-Herrera et al., 2017). En las plantaciones con labranzas cero (abandonadas), se pueden apreciar valores altos de CICE. Esta característica favorece la concentración de materia orgánica y compuestos de nitrógeno; además, evita la erosión, disminuye la lixiviación de minerales en el suelo y las condiciones microbiológicas generales (Sadzawka, 2011). La acidificación que se produce en los sistemas de labranza cero no necesariamente significa un aumento del aluminio intercambiable, ya que no se altera la estructura física del suelo y el contenido de compuestos orgánicos aumenta, los cuales son capaces de atrapar iones de Al y disminuir la toxicidad de este compuesto para las plantas.
- ### Conclusiones
- El perfil metabólico, la diversidad y la riqueza de cada plantación se vieron afectados por el tipo de manejo agronómico utilizado, aunque la composición de las comunidades en la rizosfera de las plantas de banano parece estar determinada por una serie de factores sumamente complejos. La plantación 4 (convencional intermedia) presentó los valores más favorables en todos los factores analizados; dichos valores indican que se trata de un suelo metabólicamente activo bajo la presencia de poblaciones benéficas.
- Se observaron diferencias en los factores químicos y físicos, y en las comunidades microbianas del suelo en los diferentes sistemas de manejo agronómico. El análisis de secuenciación determinó que el género *Bacillus* es el grupo que predominó en todas las plantaciones, pero se encontraron diferencias en cuanto a la presencia de otros microorganismos indicadores. Existen importantes grupos de microorganismos que reflejan la sanidad del suelo y la resistencia a patógenos (*Bacillus*, *Azospirillum*, *Nostoc* y *Streptomyces*). Las comunidades microbianas establecidas en la rizosfera del banano y los factores que las afectan son algunos de los aspectos menos conocidos en el desarrollo de buenas prácticas agrícolas.
- ### Fin de la versión en español
- =====
- Gryta, A., Fraç, M., & Oszust, K. (2014). The application of the Biolog EcoPlate approach in ecotoxicological evaluation of dairy sewage sludge. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174, 1434-1443. doi: 10.1007/s12010-014-1131-8
- Huang, L. F., Song, L. X., Xia, X. J., Mao, W. H., Shi, K., Zhou, Y. H., & Yu, J. Q. (2013). Plant-soil feedbacks and soil sickness: from mechanisms to application in agriculture. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 232-242. doi: 10.1007/s10886-013-0244-9

- Jangid, K., Williams, M. A., Franzluebbers, A. J., Sanderlin, J. S., Reeves, J. H., Jenkins, M. B., Endale, D. M., Coleman, D. C., & Whitman, W. B. (2008). Relative impacts of land use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(11), 2843-2853. doi: 10.1016/j.soilbio.2008.07.030
- Karangwa, P., Blomme, G., Beedd, F., Niyongere, C., & Viljoen, A. (2016). The distribution and incidence of banana Fusarium wilt in subsistence farming systems in east and central Africa. *Crop Protection*, 84, 132-140. doi: 10.1016/j.cropro.2016.03.003
- Kenarova, A., Radeva, G., Traykov, I., & Boteva, D. (2014). Community level physiological profiles of bacterial communities inhabiting uranium mining impacted sites. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100, 226-232. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.11.012
- Liu, B., Tu, C., Hu, S., Gumpertz, M., & Beagle-Ristaino, J. (2006). Effect of organic, sustainable and conventional management strategies in grower fields on soil physical, chemical and biological factors and the incidence of Southern blight. *Applied Soil Ecology*, 37(3), 202-214. doi: 10.1016/j.apsoil.2007.06.007
- Lopes, A. R., Faria, C., Prieto-Fernández, A., Trasar-Cepeda, C., Manaia, C. M., & Nunes, O. C. (2010). Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subject to organic and conventional farming. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(1), 115-125. doi: 10.1016/j.soilbio.2010.09.021
- López-Reyes, L., Hernández-Espinosa, M. A., Ruiz-Careaga, J., Carcaño-Montiel, M. G., Medina-de la Rosa, G., Portillo-Reyes, R., & Muñoz-Rojas, J. (2012). Adsorción de ácidos carboxílicos de origen vegetal y bacteriano en un suelo agrícola. *Terra Latinoamericana*, 30(3), 261-270. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792012000300261&lng=es&tlng=es
- Mariotte, P., Mehrabi, Z., Bezemer, M. de Deyn, G. B., Kulmatiski, A., Drigo, B., Veen, G. F., van der Heijden, M., & Kardol, P. (2018). Plant-soil feedback: bridging natural and agricultural sciences. *Trends in Ecology and Evolution*, 33(2), 129-142. doi: 10.1016/j.tree.2017.11.005
- Méndez-Gómez, M., Castro-Mercado, E., & García-Pineda, E. (2014). *Azospirillum* una rizobacteria con uso potencial en la agricultura. *Biológicas*, 16(1), 11-18. Retrieved from <https://www.biologicas.umich.mx/index.php?journal=biologicas&page=article&op=view&path%5B%5D=172&path%5B%5D=pdf>
- Obana, S., Miyamoto, K., Morita, S., Ohmori, M., & Inubushi, K. (2007). Effect of *Nostoc* sp. on soil characteristics, plant growth and nutrient uptake. *Journal of Applied Phycology*, 19, 641-646. doi: 10.1007/s10811-007-9193-4
- Ploetz, R. (2006). Panama disease: an old nemesis rears its ugly head part 2. The cavendish era and beyond. *Plant Health Progress*, 7(1), 1-19. doi: 10.1094/PHP-2006-0308-01-RV
- Sadzawka, A. (2011.). Cero labranza y características químicas del suelo. In: Rouanet, J. L. (Ed.), *Cero Labranza* (pp. 1-12). Chile: Carillanca. Retrieved from <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR16733.pdf>
- Schmidt, M. W., Torn, M. S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. A., ... Trumbore, S. E. (2011). Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478, 49-56. doi: 10.1038/nature10386
- Shen, Z., Xue, C., Penton, C. R., Thomashow, L. S., Zhang, N., Wang, B., Ruan, Y., Li, R., & Shen, Q. (2019). Suppression of banana Panama disease induced by soil microbiome reconstruction through an integrated agricultural strategy. *Soil Biology and Biochemistry*, 128, 164-174. doi: 10.1016/j.soilbio.2018.10.016
- Shi, Y., Lalonde, R., Hamel, C., Ziadi, N., Gagnon, B., & Hu, Z. (2013). Seasonal variation of microbial biomass, activity, and community structure in soil under different tillage and phosphorus management practices. *Biology and Fertility of Soils*, 49, 803-818. doi: 10.1007/s00374-013-0773-y
- Siamak, S. B., & Zheng, S. (2018). Banana fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) control and resistance, in the context of developing wilt-resistant bananas within sustainable production systems. *Horticultural Plant Journal*, 4(5), 208-218. doi: 10.1016/j.hpj.2018.08.001
- Stavi, I., & Lal, R. (2015). Achieving zero net land degradation: challenges and. *Journal of Arid Environments*, 112, 44-51. doi: 10.1016/j.jaridenv.2014.01.016
- Thangavelu, R., & Gopi, M. (2015). Field suppression of Fusarium wilt disease in banana by the combined application of native endophytic and rhizospheric bacterial isolates possessing multiple functions. *Phytopathologia Mediterranea*, 54(2), 241-252. doi: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-15160
- Tsiafouli, M. A., Thébault, E., Sgardelis, S. P., de Ruiter, P. C., van der Putten, W. H., Birkhofer, K., ... Hedlund, K. (2015). Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology*, 21(2), 973-985. doi: 10.1111/gcb.12752
- Velkeneers, E. (2013). *Suppression of Fusarium oxysporum f.sp cubense on banana in an agroforestry system in Brasil* (Master's dissertation). Universidad de Gante, Brasil. Retrieved from https://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/063/695/RUG01-002063695_2013_0001_AC.pdf
- Wang, Z., Zhang, J., Jia, C., Liu, J., Li, Y., Yin, X., Xu, B., & Jin, Z. (2012). *De novo* characterization of the banana root transcriptome and analysis of gene expression under *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* tropical race 4 infection. *BMC Genomics*, 13, 650. doi: 10.1186/1471-2164-13-650
- Wessén, E., Hallin, S., & Philippot, L. (2010). Differential responses of bacterial and archaeal groups at high taxonomical ranks to soil management. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(10), 1759-1765. doi: 10.1016/j.soilbio.2010.06.013
- Wuyts, N., Lognay, G., Verscheure, M., Marlier, M., de Waele, D., & Swennen, R. (2007). Potential physical and chemical barriers to infection by the burrowing nematode *Radopholus similis* in roots of susceptible and resistant banana (*Musa* spp.). *Plant Pathology*, 56(5), 878-890. doi: 10.1111/j.1365-3059.2007.01607.x
- Xinqi, H., Liangliang, L., Teng, W., Rui, Z., Jinbo, Z., & Zucong, C. (2015). Illumina MiSeq investigations on the changes of microbial community in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* infected soil during and after reductive soil disinfection. *Microbial Research*, 181, 33-42. doi: 10.1016/j.micres.2015.08.004