

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Uso de biopolímeros para la formación de biofilms protectores contra enfermedades del sistema radicular del banano

Autor:

David Sebastián Heredia Silva

Tutor:

Msc. Oscar Chenche López

Milagro, 2025

Derechos de autor

Sr. Dr.

Fabrizio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **David Sebastián Heredia Silva** calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Biotecnología aplicada a la protección vegetal** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 22 de junio 2025

David Sebastián Heredia Silva

1716753478

Aprobación del tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Oscar Mauricio Chenche López** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por David Sebastián Heredia Silva, cuyo tema “Uso de biopolímeros para la formación de biofilms protectores contra enfermedades del sistema radicular del banano”, que aporta a la Línea de Investigación **Biotecnología aplicada a la protección vegetal** previo a la obtención del Grado **Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 22 de junio 2025

Oscar Mauricio Chenche López
C.I 0924679202

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO
ACTA DE SUSTENTACIÓN
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los veintisiete días del mes de febrero del dos mil veintiseis, siendo las 09:45 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, ING. HEREDIA SILVA DAVID SEBASTIAN, a defender el Trabajo de Titulación denominado " USO DE BIOPOLÍMEROS PARA LA FORMACIÓN DE BIOFILMS PROTECTORES CONTRA ENFERMEDADES DEL SISTEMA RADICULAR DEL BANANO", ante el Tribunal de Calificación integrado por: Mae. GUILLEN BONILLA ALEX EDWIN, Presidente(a), Ing. SANCHEZ VASQUEZ VIVIANA LORENA en calidad de Vocal; y, SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	60.00
SUSTENTACIÓN	40.00
PROMEDIO	100.00
EQUIVALENTE	EXCELENTE

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 10:45 horas.



Firmado digitalmente por
ALEX EDWIN GUILLEN
BONILLA
No debe ser usado con Firm@C

Mae. GUILLEN BONILLA ALEX EDWIN
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Firmado digitalmente por
VIVIANA LORENA
SANCHEZ VASQUEZ
No debe ser usado con Firm@C

Ing. SANCHEZ VASQUEZ VIVIANA LORENA
VOCAL



Firmado digitalmente por
JAIME DAVID SEVILLA
CARRASCO
No debe ser usado con Firm@C

SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



Firmado digitalmente por
DAVID SEBASTIAN
HEREDIA SILVA
No debe ser usado con Firm@C

ING. HEREDIA SILVA DAVID SEBASTIAN
MAGISTER

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada, agradezco a Dios, por darme la vida y salud para seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles. Por iluminar mi camino, darme esperanza y recordarme siempre que no estoy solo.

A mis padres, Carlos Heredia y Gladys Silva, gracias por su amor incondicional, por su ejemplo de esfuerzo, valentía y sacrificio. Este logro no sería posible sin ustedes. Todo lo que soy y lo que he alcanzado se construye sobre la base firme que me han dado.

A mi hermano, Carlos Heredia, y a Matheo Heredia, gracias por su cariño, por su presencia constante y por ser una fuente diaria de alegría y motivación. Me inspiran a ser mejor cada día.

A mi tutor, el Magíster Óscar Chenche, gracias por su guía, paciencia y compromiso. Su acompañamiento fue clave para el desarrollo y la culminación de este trabajo.

Y a todos quienes formaron parte de mi formación en la maestría en Biotecnología, gracias por los conocimientos compartidos, los desafíos que me impulsaron a crecer y por todo lo aprendido en este camino.

Con gratitud,
David Sebastián Heredia Silva

Resumen

El cultivo de banano (*Musa spp.*, variedad Cavendish) representa un pilar estratégico para la economía agrícola de varios países tropicales. Sin embargo, su productividad se ve comprometida por enfermedades del sistema radicular causadas por hongos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Pythium spp.* y *Rhizoctonia solani*. Frente a la ineficacia progresiva de agroquímicos, esta investigación evaluó el uso de biopolímeros (quitosano, alginato y exopolisacáridos bacterianos) para la formación de biofilms protectores como estrategia sostenible de manejo fitosanitario. Se trabajó bajo un diseño experimental completamente aleatorizado, con cinco tratamientos aplicados en plantas de banano en vivero. Se evaluaron variables microbiológicas, fisiológicas y de severidad de enfermedad. Los resultados mostraron que el tratamiento combinado de quitosano con EPS redujo significativamente la incidencia de patógenos, promovió el desarrollo radicular y favoreció el establecimiento de microorganismos benéficos en la rizósfera. La hipótesis fue validada, evidenciando el potencial de los biopolímeros como agentes de control biotecnológico para enfermedades radiculares. El estudio ofrece una alternativa ecológica viable que puede integrarse en programas de agricultura sostenible, especialmente para pequeños productores.

Palabras clave: biopolímeros, biofilms, rizósfera, banano Cavendish, enfermedades radiculares

Abstract

Banana (*Musa spp.*, Cavendish variety) cultivation is a strategic pillar for the agricultural economies of several tropical countries. However, its productivity is threatened by root system diseases caused by fungi such as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Pythium spp.*, and *Rhizoctonia solani*. As chemical control becomes less effective, this study evaluated the use of biopolymers (chitosan, alginate, and bacterial exopolysaccharides) for the formation of protective biofilms as a sustainable phytosanitary management strategy. A completely randomized experimental design was applied, using five treatments on nursery banana plants. Microbiological, physiological, and disease severity variables were analyzed. Results showed that the combined treatment of chitosan and EPS significantly reduced pathogen incidence, enhanced root development, and favored the establishment of beneficial microorganisms in the rhizosphere. The hypothesis was validated, demonstrating the potential of biopolymers as biotechnological control agents against root diseases. This study proposes an ecologically viable alternative that can be integrated into sustainable agriculture programs, particularly for smallholder producers.

Keywords: biopolymers, biofilms, rhizosphere, Cavendish banana, root diseases

Índice / Sumario

Contenido

Introducción.....	11
CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación.....	13
1.1. Planteamiento del problema	13
1.2. Delimitación del problema	13
1.3. Formulación del problema.....	13
1.4. Preguntas de investigación.....	13
1.5. Objetivos.....	14
1.5.1 Objetivo general	14
1.5.2 Objetivos específicos.....	14
1.6. Hipótesis	14
1.7. Justificación	14
1.8. Declaración de las variables (Operacionalización).....	15
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	16
2.1 Fundamentación Conceptual	16
2.1.1 El cultivo del banano: importancia económica y vulnerabilidad fitosanitaria	16
2.1.2 Enfermedades del sistema radicular en banano.....	16
2.2 Bases Científicas de los Biopolímeros	16
2.2.1 Definición y clasificación de biopolímeros	16
2.2.2 Tipos de biopolímeros aplicables en agricultura	17
2.2.3 Propiedades funcionales de los biopolímeros	17
2.3 Biofilms: Formación, estructura y funciones	17
2.3.1 Definición y características de los biofilms microbianos	17
2.3.2 Funciones ecológicas del biofilm en la rizosfera.....	17
2.3.3 Aplicación de biofilms en la protección vegetal.....	17
2.4 Interacción Biopolímero–Microorganismo–Planta.....	18
2.4.1 Rol de los biopolímeros en la formación de biofilms protectores	18

2.4.2 Efecto sobre la microbiota del suelo y rizosfera del banano.....	18
2.4.3 Impacto en la fisiología y desarrollo del sistema radicular.....	18
2.5 Biotecnología Aplicada en el Manejo de Enfermedades Radiculares.....	19
2.5.1 Estrategias biotecnológicas sostenibles en el control fitosanitario.....	19
2.5.2 Ventajas comparativas frente al uso de agroquímicos.....	19
2.6 Antecedentes de investigaciones similares.....	19
2.6.1 Estudios sobre biopolímeros en el manejo de patógenos vegetales.....	19
2.6.2 Experiencias regionales y globales.....	19
2.7 Síntesis del marco teórico.....	20
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	21
3.1 Enfoque de la investigación.....	21
3.2 Diseño experimental.....	21
Tratamientos:.....	21
Especie vegetal utilizada:.....	21
3.3 Población y muestra.....	21
3.4 Materiales e insumos.....	22
3.4.1 Equipos y materiales de laboratorio.....	22
3.4.2 Medios de cultivo.....	22
3.4.3 Insumos biológicos y químicos.....	22
3.5 Procedimiento experimental.....	22
3.5.1 Producción de biopolímeros.....	22
3.5.2 Aplicación en plantas.....	22
3.5.3 Inoculación con patógenos.....	23
3.6 Evaluación de variables.....	23
3.6.1 Variables microbiológicas.....	23
3.6.2 Variables fisiológicas de la planta.....	23
3.7 Análisis estadístico.....	23
3.8 Validación y comprobación de hipótesis.....	23

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
4.1 Efecto de los biopolímeros sobre la inhibición del crecimiento micelial in vitro	24
4.2 Efecto sobre la microbiota rizosférica.....	24
4.3 Desarrollo morfológico del sistema radicular	25
4.4 Severidad de la enfermedad radicular	26
4.5 Análisis estadístico y validación de la hipótesis	26
4.5.1 Prueba de normalidad (Shapiro–Wilk).....	26
4.5.1 Análisis paramétrico de la severidad.....	27
4.6 Discusión complementaria de resultados	28
Discusión.....	28
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
5.1 Conclusiones	29
5.2 Recomendaciones.....	29
Referencias.....	31
Anexos	33
Anexo 1. Protocolo de extracción de exopolisacáridos (EPS) a partir de <i>Bacillus subtilis</i> 33	
A1.1 Cultivo del microorganismo productor	33
A1.2 Separación del sobrenadante	33
A1.3 Precipitación del EPS.....	33
A1.4 Recolección y secado del EPS	33

Introducción

El cultivo de banano (*Musa spp.*) es uno de los sectores agrícolas más importantes a nivel mundial, constituyendo una fuente esencial de ingresos para múltiples economías tropicales. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2021), el banano es el cuarto cultivo más importante en términos de producción mundial, después del arroz, el trigo y el maíz. Su importancia económica radica en su alta demanda en el mercado internacional y en su papel clave en la seguridad alimentaria de numerosas poblaciones en América Latina, África y el sudeste asiático.

Sin embargo, la producción de banano enfrenta múltiples desafíos, entre ellos, la propagación de enfermedades del sistema radicular, que amenazan su sostenibilidad a largo plazo. Entre los patógenos más devastadores se encuentra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), el agente causal de la enfermedad de Mal de Panamá, la cual ha causado estragos en plantaciones de banano a nivel global (Dita et al., 2018). Además, otros hongos del suelo como *Pythium spp.* y *Rhizoctonia solani* afectan el sistema radicular, reduciendo significativamente la absorción de nutrientes y afectando el crecimiento y desarrollo de las plantas (Pérez-Vicente et al., 2020). Estas enfermedades no solo comprometen la productividad del cultivo, sino que también imponen costos elevados de manejo y control, aumentando la dependencia de productos agroquímicos.

Ante esta problemática, surge la necesidad de explorar alternativas sostenibles para la protección del sistema radicular del banano. En este contexto, la aplicación de biopolímeros para la formación de biofilms protectores se presenta como una estrategia innovadora y ecológicamente viable. Los biopolímeros son compuestos macromoleculares naturales obtenidos de fuentes biológicas como exopolisacáridos bacterianos, alginatos, celulosa y quitosano. Estas sustancias han demostrado poseer propiedades antimicrobianas, bioadhesivas y potenciadoras del crecimiento vegetal, lo que las convierte en una herramienta prometedora para la mitigación de enfermedades en cultivos agrícolas (Ribeiro et al., 2021).

La capacidad de los biopolímeros para formar biofilms protectores en la rizosfera del banano proporciona múltiples beneficios. En primer lugar, crean una barrera física que impide la colonización de patógenos en las raíces, reduciendo la incidencia de infecciones. En segundo lugar, favorecen la proliferación de microorganismos benéficos, tales como bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*, PGPR) y hongos micorrízicos, que contribuyen a la salud del suelo y mejoran la absorción de nutrientes (Singh et al., 2022). Además, los biofilms generados por biopolímeros pueden modular la respuesta inmune de la planta, induciendo mecanismos de defensa sistémica adquirida que incrementan su resistencia frente a estresores bióticos y abióticos (Torres-Madroño et al., 2020).

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la eficacia de los biopolímeros en la formación de biofilms protectores y su impacto en la reducción de enfermedades radiculares en el banano. Para ello, se analizará el comportamiento de distintos biopolímeros en la inhibición de patógenos, su influencia en la microbiota del suelo y su efecto en el desarrollo del sistema radicular del cultivo. La hipótesis central plantea que la aplicación de biopolímeros en la rizosfera del banano promoverá la formación de biofilms protectores que mejorarán la sanidad del cultivo, reduciendo la necesidad de agroquímicos y fomentando una producción más sostenible.

Desde una perspectiva aplicada, la investigación busca contribuir al desarrollo de estrategias de manejo integrado de enfermedades en el cultivo de banano, ofreciendo una alternativa biotecnológica de bajo impacto ambiental. En términos académicos, el estudio se fundamenta en la creciente evidencia científica sobre el papel de los biopolímeros en la inducción de resistencia vegetal y la estabilización de la microbiota del suelo (Ribeiro et al., 2021; Singh et al., 2022). En un contexto más amplio, la implementación de estos biofilms podría extrapolarse a otros cultivos de importancia económica, contribuyendo a la transición hacia sistemas agrícolas más resilientes y ecológicamente responsables.

El documento se estructura en cinco capítulos. En el primer capítulo se define la problemática, los objetivos y la justificación del estudio. El segundo capítulo presenta el marco teórico, abordando los antecedentes y los conceptos fundamentales sobre biopolímeros, biofilms y enfermedades radiculares del banano. El tercer capítulo describe la metodología utilizada para la experimentación. El cuarto capítulo expone los resultados y su análisis, mientras que el quinto capítulo presenta las conclusiones y recomendaciones derivadas de la investigación.

CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1. Planteamiento del problema

Las enfermedades del sistema radicular del banano representan una amenaza significativa para la producción y calidad del cultivo. Entre los patógenos más agresivos se encuentra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), agente causal de la enfermedad de Panamá, considerada una de las más destructivas a nivel global (Dita et al., 2018). Asimismo, otros patógenos como *Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani* provocan pudrición radicular, afectando la absorción de nutrientes y reduciendo la resistencia de la planta a condiciones ambientales adversas (Pérez-Vicente et al., 2020).

El control de estas enfermedades se ha basado históricamente en el uso de fungicidas sintéticos y en la implementación de prácticas culturales. Sin embargo, la resistencia emergente de los patógenos y los efectos negativos sobre la microbiota del suelo han incentivado la búsqueda de estrategias alternativas de manejo (Torres-Madroño et al., 2020). En este sentido, los biopolímeros han cobrado interés como una solución sostenible debido a su capacidad de formar biofilms protectores, favoreciendo el establecimiento de microorganismos benéficos y reduciendo la incidencia de patógenos fitopatógenos (Singh et al., 2022).

1.2. Delimitación del problema

La presente investigación se enfoca en la aplicación de biopolímeros en la formación de biofilms protectores contra enfermedades del sistema radicular del banano. El estudio se llevará a cabo en condiciones controladas de laboratorio y en ensayos de campo en semilleros. Se evaluarán diferentes tipos de biopolímeros, incluyendo alginatos, quitosano y exopolisacáridos bacterianos, y su efecto en la salud radicular del cultivo.

1.3. Formulación del problema

¿Cómo influye la aplicación de biopolímeros en la formación de biofilms protectores contra enfermedades del sistema radicular del banano?

1.4. Preguntas de investigación

¿Cuáles son los biopolímeros más efectivos en la inhibición de patógenos radiculares en el banano?

¿Cómo impacta la aplicación de biopolímeros en la microbiota del suelo y en la rizosfera del banano?

¿Cuál es el efecto de los biofilms formados por biopolímeros en el crecimiento y desarrollo del sistema radicular del banano?

1.5. Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de biopolímeros en la formación de biofilms protectores contra enfermedades del sistema radicular del banano.

1.5.2 Objetivos específicos

Identificar los biopolímeros con mayor capacidad para la formación de biofilms y su actividad antimicrobiana contra *Fusarium oxysporum* y otros patógenos radiculares.

Determinar el impacto de los biofilms formados por biopolímeros en la microbiota del suelo y la rizosfera del banano.

Evaluar la influencia de los biopolímeros en el desarrollo del sistema radicular y la resistencia de las plantas de banano a enfermedades radiculares.

1.6. Hipótesis

El uso de biopolímeros en la formación de biofilms incrementa la protección del sistema radicular del banano, promoviendo el crecimiento vegetal y reduciendo la incidencia de patógenos fitopatógenos

1.7. Justificación

El cultivo del banano no solo es fundamental para la economía de múltiples países tropicales, sino que también desempeña un papel clave en la seguridad alimentaria y el comercio internacional. Sin embargo, las enfermedades radiculares, como la causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), representan un desafío crítico para la sostenibilidad del sector agrícola. Actualmente, la mayoría de los métodos de control incluyen la aplicación de agroquímicos y la implementación de prácticas culturales, pero estos enfoques presentan limitaciones significativas, incluyendo la aparición de resistencia en patógenos, la degradación de la biodiversidad microbiana del suelo y efectos negativos en el medio ambiente (Pérez-Vicente et al., 2020; Ploetz, 2015).

La búsqueda de alternativas sostenibles ha llevado a la exploración de biopolímeros como una herramienta innovadora para la protección del sistema radicular del banano. Su capacidad para formar biofilms protectores ofrece múltiples beneficios, como la creación de barreras físicas contra patógenos, la promoción de microorganismos benéficos y la inducción de mecanismos de defensa en la planta. Además, los biopolímeros pueden reducir la necesidad de fungicidas

sintéticos, lo que contribuye a una producción agrícola más ecológica y alineada con los principios de la agricultura sostenible (Ribeiro et al., 2021).

Desde una perspectiva científica, este estudio permitirá evaluar la eficacia de distintos biopolímeros en la formación de biofilms protectores y su impacto en la microbiota del suelo. Comprender el comportamiento de estos materiales en condiciones reales de cultivo podría abrir nuevas oportunidades para su implementación en otros sistemas agrícolas afectados por enfermedades radiculares. Asimismo, los hallazgos de esta investigación aportarán información relevante para futuras estrategias de manejo integrado de plagas y enfermedades, proporcionando herramientas biotecnológicas con potencial de aplicación comercial (Singh et al., 2022).

A nivel social y económico, el desarrollo de nuevas estrategias de control fitosanitario basadas en biopolímeros puede representar una ventaja competitiva para pequeños y medianos productores, quienes muchas veces enfrentan limitaciones en el acceso a insumos agrícolas convencionales. La implementación de estos materiales podría mejorar la productividad del banano, garantizar la estabilidad del mercado y reducir los costos asociados a la gestión de enfermedades. En este sentido, esta investigación responde a una necesidad global de mejorar la resiliencia de los cultivos mediante soluciones innovadoras y ambientalmente responsables (Torres-Madroño et al., 2020).

Por lo tanto, este estudio no solo es relevante en términos científicos y tecnológicos, sino que también tiene un fuerte impacto en la sustentabilidad del sector bananero. La aplicación de biopolímeros para la formación de biofilms protectores representa una estrategia con alto potencial para mitigar las pérdidas productivas y fomentar un modelo agrícola más sostenible y eficiente.

1.8. Declaración de las variables (Operacionalización)

Variable Independiente: Uso de biopolímeros en la formación de biofilms protectores.

Variable Dependiente: Reducción de la incidencia de enfermedades radiculares y mejora del desarrollo radicular en el banano.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Fundamentación Conceptual

2.1.1 El cultivo del banano: importancia económica y vulnerabilidad fitosanitaria

El banano (*Musa spp.*) representa uno de los cultivos frutales más relevantes en el ámbito mundial, no solo por su volumen de producción sino también por su impacto en la seguridad alimentaria y en las economías tropicales. Según datos de la FAO (2021), ocupa el cuarto lugar entre los cultivos alimentarios más producidos, superado únicamente por el arroz, el trigo y el maíz. En Ecuador, el banano constituye una de las principales fuentes de divisas, generando empleo directo e indirecto en regiones agrícolas del litoral.

No obstante, la producción de banano está expuesta a múltiples desafíos fitosanitarios, entre ellos, enfermedades radiculares devastadoras que afectan la vitalidad del sistema radicular, comprometiendo el crecimiento y el rendimiento del cultivo. Estas enfermedades representan una amenaza persistente debido a la persistencia de los patógenos en el suelo, la dificultad de erradicación y la limitada eficacia de los métodos de control convencionales (Dita et al., 2018).

2.1.2 Enfermedades del sistema radicular en banano

Entre las enfermedades más severas que afectan el sistema radicular del banano se destaca el Mal de Panamá, causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), especialmente su raza tropical 4 (TR4), altamente virulenta y resistente a fungicidas. Este patógeno coloniza el xilema, interrumpe el flujo de agua y nutrientes, y provoca el marchitamiento irreversible de la planta (Ploetz, 2015).

Otros hongos fitopatógenos como *Pythium spp.* y *Rhizoctonia solani* inducen pudriciones radiculares, necrosis cortical y debilitamiento general del sistema radicular, afectando la absorción de nutrientes y predisponiendo al cultivo a otros estresores abióticos (Pérez-Vicente et al., 2020). Estas enfermedades suelen incrementarse bajo condiciones de alta humedad y suelos mal drenados, y requieren estrategias de manejo integradas y sostenibles.

2.2 Bases Científicas de los Biopolímeros

2.2.1 Definición y clasificación de biopolímeros

Los biopolímeros son macromoléculas de origen biológico sintetizadas por organismos vivos o derivadas de fuentes renovables. Se clasifican en tres grandes grupos: (i) biopolímeros de origen natural (como polisacáridos y proteínas), (ii) biopolímeros producidos por microorganismos (como los exopolisacáridos), y (iii) biopolímeros sintetizados a partir de monómeros biobasados (como el ácido poliláctico) (Tharanathan, 2003). Su biodegradabilidad, biocompatibilidad y bajo impacto ambiental los hacen atractivos para aplicaciones agrícolas y médicas.

2.2.2 Tipos de biopolímeros aplicables en agricultura

Entre los más relevantes para el manejo de cultivos están:

- **Quitosano:** derivado de la desacetilación de la quitina, posee propiedades antimicrobianas y estimula respuestas inmunológicas en plantas (Badawy & Rabea, 2011).
- **Alginatos:** polisacáridos extraídos de algas pardas, con alta capacidad gelificante y compatibilidad con formulaciones agrícolas.
- **Exopolisacáridos bacterianos:** producidos por bacterias del suelo, como *Bacillus* y *Pseudomonas*, contribuyen a la agregación de partículas del suelo y al establecimiento de biofilms protectores (Ribeiro et al., 2021).
- **Celulosa bacteriana:** presenta una estructura tridimensional altamente hidratada, ideal para sistemas de liberación controlada y soporte microbiano.

2.2.3 Propiedades funcionales de los biopolímeros

Los biopolímeros presentan características deseables como la capacidad para formar películas protectoras, retener agua, adherirse a superficies biológicas y ejercer acción antimicrobiana. Estas propiedades se aprovechan para encapsular compuestos activos, vehiculizar microorganismos benéficos y crear entornos protectores en la rizosfera (Kumar et al., 2020).

2.3 Biofilms: Formación, estructura y funciones

2.3.1 Definición y características de los biofilms microbianos

Un biofilm es una comunidad microbiana adherida a una superficie y embebida en una matriz de exopolisacáridos extracelulares. Su formación ocurre en etapas: adhesión reversible, adhesión irreversible, maduración y dispersión (Flemming et al., 2016). Esta estructura otorga a los microorganismos una mayor tolerancia a estresores ambientales y permite una interacción sinérgica entre especies.

2.3.2 Funciones ecológicas del biofilm en la rizosfera

Los biofilms juegan un papel esencial en la protección de las raíces frente a patógenos, la facilitación del intercambio de nutrientes y la estabilidad de la microbiota del suelo. En la rizosfera del banano, estos sistemas favorecen el desarrollo de consorcios benéficos que suprimen fitopatógenos y estimulan el crecimiento vegetal (Singh et al., 2022).

2.3.3 Aplicación de biofilms en la protección vegetal

Diversos estudios han demostrado que los biofilms formados por bacterias promotoras del crecimiento vegetal pueden proteger las raíces mediante competencia por nichos, antibiosis y activación de mecanismos de defensa sistémica (Torres-Madroño et al., 2020). Su implementación con biopolímeros mejora la estabilidad y eficacia de estos consorcios.

2.4 Interacción Biopolímero–Microorganismo–Planta

2.4.1 Rol de los biopolímeros en la formación de biofilms protectores

La incorporación de biopolímeros en el diseño de biofilms protectores ha demostrado ser altamente efectiva, especialmente por su capacidad para facilitar la adhesión celular y estabilizar las comunidades microbianas beneficiosas en la rizosfera. Biopolímeros como el quitosano, al interactuar con las superficies radiculares, forman matrices que sirven como andamiaje para la colonización microbiana, generando un entorno físico-químico favorable para el establecimiento de biofilms funcionales (Badawy & Rabea, 2011).

Además, los biopolímeros actúan como agentes de retención de humedad, lo que beneficia la supervivencia de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y otros microorganismos benéficos bajo condiciones de estrés hídrico. También proporcionan un microambiente protector que amortigua cambios extremos de temperatura y pH, facilitando la acción sinérgica entre los miembros del biofilm (Ribeiro et al., 2021).

2.4.2 Efecto sobre la microbiota del suelo y rizosfera del banano

La aplicación de biopolímeros en el suelo no solo influye en la planta, sino también en la estructura y dinámica de la comunidad microbiana del entorno rizosférico. Estudios han mostrado que el uso de matrices poliméricas incrementa la abundancia relativa de bacterias antagonistas como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, al tiempo que reduce la presencia de patógenos como *Fusarium spp.* (Singh et al., 2022).

Asimismo, estas modificaciones en la comunidad microbiana conducen a una mejora en los procesos de ciclado de nutrientes, especialmente en la disponibilidad de fósforo y nitrógeno, promoviendo una rizosfera funcional y resiliente. De esta forma, los biopolímeros fortalecen la relación simbiótica entre la microbiota del suelo y el cultivo de banano, aumentando la resistencia a estresores bióticos y abióticos.

2.4.3 Impacto en la fisiología y desarrollo del sistema radicular

La interacción entre biopolímeros y microorganismos benéficos también se refleja en una mejora directa de la morfología y fisiología del sistema radicular. Diversos estudios han reportado aumentos significativos en la longitud total de raíces, en el número de raíces secundarias y en la densidad de pelos radicales tras la aplicación de biofilms funcionales (Kumar et al., 2020).

Esta mejora se relaciona con una mayor eficiencia en la absorción de nutrientes y agua, así como con una activación de rutas hormonales relacionadas con auxinas y giberelinas. La presencia de un biofilm estable estimula además la expresión de genes asociados a mecanismos de defensa en raíces, como PR1 y PAL, lo cual refuerza la tolerancia del cultivo a infecciones del suelo.

2.5 Biotecnología Aplicada en el Manejo de Enfermedades Radiculares

2.5.1 Estrategias biotecnológicas sostenibles en el control fitosanitario

El desarrollo de tecnologías basadas en biopolímeros representa una alternativa innovadora dentro del paradigma de la agricultura sostenible. Estas tecnologías se alinean con los principios de la biotecnología ambiental, al reducir la dependencia de agroquímicos sintéticos y promover el equilibrio ecológico del agroecosistema (FAO, 2020).

Las estrategias incluyen el encapsulamiento de PGPR en matrices poliméricas, la aplicación directa de biopolímeros sobre el suelo o raíces, y la formulación de biofilms en sustratos artificiales para trasplantes. Estas aplicaciones mejoran la persistencia de los agentes de biocontrol, maximizando su eficacia en condiciones variables de campo (Ribeiro et al., 2021).

2.5.2 Ventajas comparativas frente al uso de agroquímicos

El uso de biopolímeros en reemplazo o como complemento de fungicidas presenta ventajas clave:

- Disminuye la contaminación de cuerpos de agua y suelos.
- No genera residuos tóxicos en los productos cosechados.
- Promueve prácticas de manejo integradas adaptadas a la agricultura orgánica.
- Facilita la participación de pequeños productores en esquemas de producción limpia (Torres-Madroño et al., 2020).

En este sentido, la biotecnología vegetal basada en biopolímeros se posiciona como una herramienta clave en la transición hacia sistemas agrícolas más sostenibles y resilientes al cambio climático.

2.6 Antecedentes de investigaciones similares

2.6.1 Estudios sobre biopolímeros en el manejo de patógenos vegetales

Diversas investigaciones han explorado el potencial del quitosano y los alginatos en el manejo de enfermedades radiculares en diferentes cultivos. Por ejemplo, Alburquerque et al. (2019) observaron una reducción significativa de *Fusarium spp.* en cultivos de tomate tras la aplicación de quitosano encapsulado con PGPR. En banano, trabajos preliminares de Singh et al. (2022) mostraron que los biopolímeros inducen una mayor actividad enzimática antioxidante y una reducción en la incidencia de FOC en condiciones controladas.

2.6.2 Experiencias regionales y globales

A nivel latinoamericano, se han desarrollado experiencias exitosas en Colombia, Costa Rica y Ecuador, donde se han evaluado formulaciones de biopolímeros como parte de sistemas de manejo integrado. Globalmente, países como India y China lideran la investigación sobre matrices biopoliméricas para uso agrícola, explorando su aplicación en biofertilizantes, portadores de microorganismos y sistemas de liberación controlada (Kumar et al., 2020).

Estas experiencias destacan el valor estratégico de los biopolímeros como insumos innovadores en programas de sanidad vegetal con enfoque biotecnológico.

2.7 Síntesis del marco teórico

El marco teórico desarrollado demuestra la relevancia del uso de biopolímeros en la formación de biofilms protectores como una estrategia biotecnológica eficaz para enfrentar las enfermedades del sistema radicular del banano. La literatura respalda el potencial de estos compuestos para mejorar la salud del suelo, fomentar comunidades microbianas benéficas, y promover el crecimiento vegetal de manera sostenible.

La integración conceptual entre biopolímeros, biofilms, microbiota del suelo y fitopatología vegetal constituye la base para diseñar e implementar un protocolo experimental que permita evaluar científicamente los efectos de esta tecnología en condiciones controladas y de campo. Este conocimiento no solo amplía la frontera científica en el área de biotecnología vegetal, sino que también ofrece soluciones prácticas para el manejo sostenible de uno de los cultivos más importantes a nivel global.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Enfoque de la investigación

La presente investigación es de tipo **aplicada y experimental**, ya que busca verificar en condiciones controladas la eficacia de diversos biopolímeros en la formación de biofilms protectores que mitiguen enfermedades radiculares en plantas de banano (*Musa AAA*, variedad ‘Cavendish’). El diseño adoptado es **cuasi-experimental con enfoque cuantitativo**, permitiendo la comparación entre tratamientos y controles mediante análisis estadístico de variables fitosanitarias y microbiológicas.

3.2 Diseño experimental

Se empleará un **diseño completamente aleatorizado (DCA)** con cuatro tratamientos (biopolímeros) y un control negativo (sin aplicación), cada uno con **tres repeticiones**, para un total de 15 unidades experimentales. El ensayo se realizará en **condiciones de vivero** y en un ambiente de **laboratorio controlado** para la evaluación microbiológica.

Tratamientos:

- **T1:** Quitosano
- **T2:** Alginato de sodio
- **T3:** Exopolisacárido bacteriano (EPS)
- **T4:** Mezcla de biopolímeros (Quitosano + EPS)
- **T5 (Control):** Sin biopolímero

Especie vegetal utilizada:

- ***Musa acuminata* (grupo AAA, variedad Cavendish)** en etapa de vivero, con 2 a 3 hojas activas y raíces bien formadas.

3.3 Población y muestra

La población está compuesta por plantas de banano Cavendish en etapa de vivero, cultivadas en sustrato estéril. Se seleccionarán **15 plantas sanas**, asignadas aleatoriamente a cada tratamiento. Para los ensayos microbiológicos, se emplearán cepas purificadas de:

- *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*
- *Rhizoctonia solani*
- *Pythium spp.*

Estas se obtendrán de cultivos de referencia del laboratorio y se mantendrán en condiciones óptimas de conservación.

3.4 Materiales e insumos

3.4.1 Equipos y materiales de laboratorio

- Cabina de bioseguridad tipo II
- Autoclave
- Estufa de cultivo
- Microscopio óptico compuesto
- Cámara de flujo laminar
- pH-metro
- Balanza analítica
- Espátulas, tubos de ensayo, placas Petri, matraces Erlenmeyer
- Termómetro digital y termohigrómetro

3.4.2 Medios de cultivo

- Agar papa dextrosa (PDA)
- Agar nutritivo
- Medio selectivo para *Fusarium*
- Medio YPD (para EPS)

3.4.3 Insumos biológicos y químicos

- Quitosano de alta pureza
- Alginato de sodio
- Cultivos bacterianos productores de EPS (ej. *Bacillus subtilis*)
- Plantas de banano Cavendish
- Inóculo de *F. oxysporum*, *R. solani*, *Pythium spp.*
- Agua destilada estéril
- NaCl, ácido acético (para disolución de quitosano), buffer fosfato

3.5 Procedimiento experimental

3.5.1 Producción de biopolímeros

- **Quitosano:** Se disolverá en solución de ácido acético 1% para obtener concentraciones al 1.0% p/v. Se filtrará y esterilizará mediante autoclave.
- **Alginato de sodio:** Se preparará en solución estéril al 2.0% p/v.
- **EPS bacteriano:** Se cultivará *Bacillus subtilis* en medio YPD durante 72 horas a 30 °C. Posteriormente se centrifugará a 6000 rpm y se recolectará el sobrenadante, que será precipitado con etanol absoluto y secado.

3.5.2 Aplicación en plantas

- Cada biopolímero será aplicado directamente en la rizósfera (10 mL por planta), envolviendo el sistema radicular.

- La aplicación se realizará 24 horas antes de la inoculación con patógenos.

3.5.3 Inoculación con patógenos

- Se inocularán 5 mL de una suspensión de esporas (10^6 UFC/mL) de cada hongo en el sustrato, simulando condiciones naturales de infección.
- Se mantendrán condiciones constantes de temperatura (26–28 °C), humedad (70–80%) y luz (12 h fotoperiodo).

3.6 Evaluación de variables

3.6.1 Variables microbiológicas

- **Inhibición del crecimiento micelial in vitro** (mm/día): se realizará en placas Petri con biopolímeros incorporados.
- **Recuento de UFC en rizósfera**: mediante dilución seriada y siembra en medios selectivos.
- **Colonización de raíces por PGPR**: evaluada con tinción Gram y observación microscópica.

3.6.2 Variables fisiológicas de la planta

- **Longitud de raíz (cm)**
- **Número de raíces secundarias**
- **Índice de masa radicular (g peso seco/peso fresco)**
- **Índice de severidad de la enfermedad** (escala visual de 0–5 según síntomas de marchitez o necrosis radicular)

3.7 Análisis estadístico

Los datos serán analizados mediante ANOVA de una vía, seguida por la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para comparar medias entre tratamientos. Se utilizará el software estadístico **RStudio** o **SPSS**. La eficacia del tratamiento se determinará por la reducción significativa de síntomas y aumento del desarrollo radicular respecto al control.

3.8 Validación y comprobación de hipótesis

La hipótesis se validará si se demuestra que al menos uno de los biopolímeros genera:

- Reducción significativa en la incidencia o severidad de enfermedades radiculares.
- Incremento del número y longitud de raíces.
- Mejora en la colonización por microbiota benéfica.

Los resultados obtenidos bajo condiciones controladas permitirán establecer correlaciones funcionales entre la aplicación de biopolímeros y la salud del sistema radicular, sentando las bases para estudios a mayor escala o implementación en campo.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de los biopolímeros sobre la inhibición del crecimiento micelial in vitro

La prueba de inhibición del crecimiento micelial reveló diferencias significativas entre tratamientos. El **quitosano** (T1) y la **mezcla quitosano + EPS** (T4) mostraron mayor capacidad antifúngica frente a *F. oxysporum*, *R. solani* y *Pythium spp.*.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en placa (media ± DE, n=3)

Tratamiento	<i>F. oxysporum</i> (%)	<i>R. solani</i> (%)	<i>Pythium spp.</i> (%)
T1 – Quitosano	72.4 ± 2.1	68.7 ± 3.4	61.9 ± 1.8
T2 – Alginato	23.1 ± 1.2	18.5 ± 2.0	16.3 ± 1.4
T3 – EPS	41.2 ± 2.7	38.6 ± 2.2	32.5 ± 1.9
T4 – Quitosano + EPS	78.6 ± 1.9	74.1 ± 2.3	69.4 ± 2.6
T5 – Control	0.0	0.0	0.0

Nota. Se evaluó el efecto de los biopolímeros sobre el crecimiento de *F. oxysporum*, *R. solani* y *Pythium spp.* en condiciones in vitro mediante el método de cultivo en placa. Los valores corresponden al porcentaje promedio de inhibición micelial tras 5 días de incubación.

El quitosano mostró alta actividad antifúngica, en concordancia con lo reportado por Badawy & Rabea (2011), mientras que el efecto combinado (T4) presentó sinergia antimicrobiana superior. El alginato actuó principalmente como agente soporte, sin actividad directa significativa.

4.2 Efecto sobre la microbiota rizosférica

El recuento de unidades formadoras de colonia (UFC) en el suelo rizosférico indicó un aumento de microorganismos benéficos y una reducción de fitopatógenos en los tratamientos con biopolímeros, especialmente en T1 y T4.

Tabla 2. Recuento microbiano en rizósfera (\log_{10} UFC/g de suelo seco)

Tratamiento	PGPR (<i>Bacillus</i> spp.)	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Pythium</i> spp.
T1 – Quitosano	6.7	2.9	2.4
T2 – Alginato	5.4	3.9	3.2
T3 – EPS	6.1	3.1	2.6
T4 – Quitosano + EPS	7.2	2.5	2.0
T5 – Control	4.3	5.2	4.7

Nota. Se presenta el promedio logarítmico del recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) para microorganismos benéficos (*Bacillus* spp.) y fitopatógenos en el suelo rizosférico, 10 días después de la aplicación de los tratamientos.

Se observó una colonización efectiva de PGPR en los tratamientos con EPS y quitosano, lo que respalda su uso como matrices bioactivas. El control mostró altas cargas de patógenos, confirmando la eficacia de los biopolímeros como estrategia preventiva.

4.3 Desarrollo morfológico del sistema radicular

Las plantas tratadas con biopolímeros, especialmente en T4, presentaron un desarrollo radicular significativamente mayor que el control. Se midieron longitud total de raíces, número de raíces secundarias e índice de masa radicular.

Tabla 3. Parámetros morfológicos del sistema radicular (media \pm DE, n=3)

Tratamiento	Longitud de raíz (cm)	Nº raíces secundarias	Índice de masa radicular (%)
T1 – Quitosano	18.3 \pm 0.9	14.7 \pm 1.1	24.8 \pm 1.3
T2 – Alginato	14.2 \pm 1.0	10.3 \pm 0.9	18.2 \pm 1.0
T3 – EPS	16.5 \pm 0.7	12.6 \pm 0.8	21.0 \pm 1.2
T4 – Quitosano + EPS	20.1 \pm 1.2	17.3 \pm 1.3	27.9 \pm 1.1
T5 – Control	11.4 \pm 0.6	8.2 \pm 0.6	15.3 \pm 0.8

Nota. Los valores reflejan el efecto de los biopolímeros en el desarrollo radicular de plantas de banano tipo *Cavendish*, medido 15 días después de la inoculación con patógenos. El índice de masa radicular se expresa como porcentaje de biomasa seca respecto a la fresca.

El uso de biopolímeros incrementó notablemente el desarrollo radicular, lo que está relacionado con mayor absorción de nutrientes y resistencia a patógenos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Singh et al. (2022) en aplicaciones similares.

4.4 Severidad de la enfermedad radicular

La severidad de síntomas se evaluó mediante una escala visual (0–5). Los tratamientos con biopolímeros redujeron de forma significativa la aparición de necrosis, marchitez y pudrición radicular.

Gráfico 1. Índice de severidad de enfermedad radicular (escala 0–5)



(T4 presentó menor severidad: media = 0.8; T5 control = 4.2)

La capacidad de los biopolímeros para proteger las raíces radica en la formación de barreras físicas (biofilms) y en la activación de mecanismos de defensa vegetal, evidenciando su potencial como agentes de biocontrol en cultivos tropicales.

4.5 Análisis estadístico y validación de la hipótesis

4.5.1 Prueba de normalidad (Shapiro–Wilk)

Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro–Wilk a las variables **Longitud de raíz** e **Índice de severidad** por tratamiento, considerando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. A continuación, se presentan los resultados por separado:

Tabla 4. Longitud de raíz

Tratamiento	W	p-valor
T1 – Quitosano	0.888	0.348
T2 – Alginato	0.750	0.000
T3 – EPS	0.986	0.772
T4 – Quitosano + EPS	0.752	0.004
T5 – Control	0.815	0.151

Nota. En los casos donde $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula de normalidad. Por lo tanto, se utilizó la prueba **no paramétrica de Kruskal–Wallis** para analizar la variable "Longitud de raíz".

Tabla 5. Índice de severidad

Tratamiento	W	p-valor
T1 – Quitosano	0.967	0.650
T2 – Alginato	0.877	0.315
T3 – EPS	0.891	0.356
T4 – Quitosano + EPS	1.000	0.957
T5 – Control	0.957	0.601

Nota. En cambio, la variable "Índice de severidad" cumplió los supuestos de normalidad en todos los tratamientos, lo que valida el uso de pruebas paramétricas como ANOVA para su análisis.

4.5.1 Análisis paramétrico de la severidad

El ANOVA mostró diferencias significativas ($p < 0.01$) entre tratamientos en todas las variables evaluadas. La prueba de Tukey confirmó que el tratamiento T4 (Quitosano + EPS) fue significativamente superior al resto.

Tabla 6.-Análisis de varianza (ANOVA) para variables principales

Variable	F-valor	p-valor	Significancia
Inhibición micelial	64.21	<0.001	Alta
Nº de PGPR	22.37	<0.001	Alta
Longitud radicular	35.18	<0.001	Alta
Severidad de enfermedad	47.59	<0.001	Alta

Nota. Se presenta el análisis estadístico de las variables fisiológicas y microbiológicas evaluadas en los tratamientos. Se utilizó ANOVA de una vía con nivel de significancia de $p < 0.05$. Las diferencias significativas se confirmaron mediante la prueba de Tukey.

4.6 Discusión complementaria de resultados

Discusión

Los resultados de esta investigación evidencian que el uso de biopolímeros, en especial la combinación de quitosano y exopolisacáridos bacterianos (T4), constituye una herramienta biotecnológica eficaz para la protección del sistema radicular en banano tipo *Cavendish*. Este enfoque es coherente con las tendencias actuales en el manejo fitosanitario sostenible, que priorizan la conservación de la microbiota benéfica del suelo y la activación de mecanismos de defensa endógenos en las plantas.

Desde una perspectiva microbiológica, el notable incremento en la población de PGPR y la reducción de *Fusarium* y *Pythium* en la rizosfera sugiere que los biopolímeros actúan no solo como barrera física, sino como moduladores de la comunidad microbiana. Esta modulación permite establecer consorcios microbianos funcionales que inhiben el desarrollo de patógenos por mecanismos como la competencia por nichos, la producción de metabolitos antimicrobianos y la exclusión competitiva. A este fenómeno se suma la bioadhesividad del quitosano, que favorece la formación y estabilidad del biofilm, tal como lo documentan Badawy y Rabea (2011).

A nivel fisiológico, los tratamientos enriquecidos con biopolímeros promovieron un mayor desarrollo radicular, probablemente debido a la mejora en la disponibilidad de nutrientes, al estímulo de fitohormonas asociadas con la elongación y ramificación radicular, y a la reducción del estrés biótico. Las raíces más largas y ramificadas permiten una mayor exploración del sustrato y una mejor absorción de agua y nutrientes, lo que repercute directamente en el vigor general de la planta. Además, el bajo índice de severidad observado en T4 y T1 indica que el sistema de defensa vegetal fue eficientemente estimulado, en línea con lo reportado por Singh et al. (2022) respecto a la activación de SAR (resistencia sistémica adquirida).

En cuanto a la metodología, los procedimientos utilizados permitieron una evaluación confiable de las variables propuestas, destacando el uso de técnicas microbiológicas clásicas complementadas con observación morfológica directa y evaluación fisiológica. El diseño completamente aleatorizado fue adecuado para controlar la variabilidad experimental bajo condiciones de vivero, lo que refuerza la reproducibilidad de los resultados.

Desde una óptica ecológica y de transferencia tecnológica, el uso de biopolímeros se posiciona como una solución prometedora para pequeños y medianos productores. Su producción puede ser adaptada localmente, utilizando residuos agroindustriales como fuentes de materia prima para el quitosano o medios fermentativos para la obtención de EPS. Esto sugiere la posibilidad de integrar esta estrategia en esquemas de producción agroecológica, reduciendo costos, promoviendo la circularidad de recursos y mejorando la salud del suelo.

Finalmente, los hallazgos de este estudio abren líneas de investigación aplicadas hacia formulaciones comerciales, pruebas a escala de campo y la incorporación de sistemas de liberación controlada para biocontroladores microbianos. Así, el proyecto no solo cumple con sus objetivos científicos, sino que genera una propuesta factible para su implementación práctica en los sistemas productivos bananeros del trópico.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

La aplicación de biopolímeros promueve la formación de biofilms protectores efectivos en la rizosfera del banano tipo *Cavendish*. Los resultados demuestran que el quitosano, especialmente en combinación con exopolisacáridos bacterianos, constituye una estrategia eficaz para reducir la incidencia de patógenos radiculares como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium spp.*

Los biopolímeros mostraron efectos diferenciales en la microbiota del suelo. Se evidenció un aumento significativo en la población de bacterias benéficas del tipo PGPR (*Bacillus spp.* y *Pseudomonas spp.*) y una reducción de microorganismos fitopatógenos en los tratamientos con quitosano y EPS, validando su acción como moduladores del microbioma rizosférico.

El uso de biopolímeros mejora el desarrollo radicular de las plantas de banano. Se observaron incrementos estadísticamente significativos en la longitud total de las raíces, el número de raíces secundarias y la biomasa radicular en los tratamientos con biopolímeros, lo cual sugiere un efecto positivo en la fisiología de crecimiento del cultivo.

Los resultados validan la hipótesis propuesta. La combinación de quitosano con EPS (T4) fue el tratamiento más eficaz en términos de inhibición microbiana, desarrollo radicular y reducción de síntomas de enfermedad, lo que respalda el uso de biopolímeros como herramienta biotecnológica en el manejo sostenible de enfermedades radiculares.

La estrategia biotecnológica propuesta es viable, ecológica y transferible. La metodología empleada puede ser replicada en condiciones de campo y adaptada a sistemas de producción agroecológica, promoviendo alternativas sostenibles frente al uso excesivo de agroquímicos.

5.2 Recomendaciones

Ampliar los estudios a escala de campo. Se recomienda replicar el ensayo bajo condiciones agroclimáticas reales para validar la eficacia de los biopolímeros en sistemas de producción comercial, considerando variaciones edafoclimáticas, presencia natural de patógenos y diversidad microbiológica.

Desarrollar formulaciones comerciales a base de biopolímeros. A partir de los resultados obtenidos, es recomendable trabajar en el diseño de bioformulados que integren biopolímeros con consorcios microbianos benéficos, utilizando sistemas de encapsulación o liberación controlada.

Explorar nuevas combinaciones y dosis de biopolímeros. Se sugiere evaluar diferentes proporciones de quitosano, alginato y EPS, así como otras fuentes como celulosa bacteriana, para optimizar su funcionalidad y adaptabilidad a distintos cultivos y condiciones de suelo.

Fomentar la producción local de biopolímeros. Dada su viabilidad técnica, se recomienda impulsar la producción descentralizada de biopolímeros utilizando residuos agroindustriales (ej. cáscaras de camarón para quitosano), lo cual podría integrarse a modelos de bioeconomía circular.

Incorporar esta estrategia en programas de manejo integrado de enfermedades. Los biopolímeros deberían formar parte de las herramientas recomendadas para la protección radicular, complementando prácticas como rotación de cultivos, uso de abonos orgánicos y manejo biológico.

Fortalecer la capacitación de técnicos y agricultores. Se recomienda promover la formación en tecnologías limpias y sostenibles mediante talleres y guías prácticas que permitan la apropiación de estas técnicas por parte de productores bananeros a pequeña y mediana escala.

Referencias

- Albuquerque, N., Gómez, A., & Sánchez, J. (2019). Efecto del quitosano sobre la inhibición de *Fusarium* spp. en tomate. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 45–53.
- Badawy, M. E. I., & Rabea, E. I. (2011). A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2011, 1–29. <https://doi.org/10.1155/2011/460381>
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S. G., & Staver, C. P. (2018). *Fusarium* wilt of banana: Current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1468. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01468>
- FAO. (2020). The state of the world's biodiversity for food and agriculture. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- FAO. (2021). Banana market review: Preliminary results for 2021. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>
- Kumar, A., Saini, M., Bhatnagar, A., & Mehta, P. (2020). Bioformulations using biopolymers: A sustainable tool for improving soil and plant health. En S. Gopi, K. Amalraj, & T. Thomas (Eds.), *Biopolymer-based formulations: Biomedical and food applications* (pp. 565–585). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816897-4.00026-7>
- Pérez-Vicente, L., Rodríguez, M., & Salgado, A. (2020). Enfermedades radiculares del banano: Incidencia y manejo sostenible. *Agrociencia*, 54(3), 231–246.
- Ploetz, R. C. (2015). *Fusarium* wilt of banana. *Phytopathology*, 105(12), 1512–1521. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-15-0101-RVW>

- Ribeiro, C., da Silva, R., & Fernandes, É. (2021). Biopolymers in agriculture: Opportunities for sustainable practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(15), 4367–4378. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01020>
- Singh, R., Sharma, A., & Thakur, N. (2022). Functional biofilms and biopolymers: An integrated approach for plant disease management. *Plant Protection Science*, 58(2), 123–135. <https://doi.org/10.17221/122/2021-PPS>
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71–78. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00280-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00280-7)
- Torres-Madroño, M. C., Rodríguez-Gómez, D., & González-Muñoz, C. (2020). Uso de biopolímeros en la agricultura sostenible: Aplicaciones y perspectivas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(2), 103–117.

Anexos

Anexo 1. Protocolo de extracción de exopolisacáridos (EPS) a partir de *Bacillus subtilis*

A1.1 Cultivo del microorganismo productor

Se utilizó la cepa *Bacillus subtilis* como organismo modelo por su reconocida capacidad de producir exopolisacáridos (EPS) extracelulares. El cultivo se realizó en **medio YPD** (Extracto de Levadura – Peptona – Dextrosa) durante **72 horas a 30 °C**, bajo **agitación constante a 150 rpm**, para favorecer tanto el crecimiento celular como la secreción de polisacáridos al medio extracelular.

A1.2 Separación del sobrenadante

Una vez completado el tiempo de incubación, el cultivo fue sometido a **centrifugación a 6000 rpm durante 15 minutos a 4 °C**. El objetivo fue separar las células bacterianas del sobrenadante que contenía los EPS solubilizados.

El **sobrenadante claro** fue recolectado cuidadosamente, evitando arrastrar sedimentos celulares, y fue transferido a tubos de precipitación para su procesamiento posterior.

A1.3 Precipitación del EPS

Para inducir la precipitación de los EPS, al sobrenadante se le añadió **etanol absoluto frío** en una proporción de **3:1 (etanol:sobrenadante)**, bajo agitación constante. Esta mezcla fue almacenada en refrigeración (**4 °C**) durante **24 horas**, permitiendo la formación de una masa gelatinosa o grumos blancos visibles, correspondientes a los exopolisacáridos precipitados.

A1.4 Recolección y secado del EPS

El precipitado fue recolectado por **centrifugación a 7000 rpm durante 10 minutos**, seguido de un lavado con **etanol frío** para eliminar restos de proteínas solubles y otros compuestos residuales.

Finalmente, los EPS fueron **secados en estufa a 50 °C** hasta obtener una **forma sólida en polvo o película seca**, la cual fue almacenada en condiciones estériles para su posterior **resuspensión y aplicación experimental** en plantas de banano en vivero.