



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE HÁBITAT, INFRAESTRUCTURA Y CREATIVIDAD
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA COMPUTACIONAL

Integración de Herramientas Computacionales para el Desarrollo de Estrategias para el Control del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza Tropical 4) en Banano (*Musa* AAA).

PROYECTO DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÁSTER EN BIOLOGÍA COMPUTACIONAL

Autora: Milena Belén Aguirre Saltos

Tutor: Sergio Alan Cervantes Perez, Ph.D.

QUITO, 2025

Dedicatoria

A Dios por ser mi guía en todo camino, a
mamá, Lito y Pelu por el apoyo incondicional
y compañía.

Agradecimientos

Agradezco el apoyo que me ha brindado mi familia durante todo este tiempo y en todo ámbito de mi vida, no me veo sin ustedes, mamá, ñaño y papá. Guardo aprecio total al cariño y apoyo que recibí de parte de mis compañeros durante la maestría en especial a Jess Alba. Gracias a los maestros que formaron parte de este programa de maestría, por brindarme las herramientas para desempeñarme de la mejor forma en el ámbito profesional.

Este Proyecto se desarrolló gracias a la tutoría y guía de mi profesor asesor Alan Cervantes, a quien agradezco inmensamente.

Índice General

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
1. Introducción.....	3
2. Objetivos	5
2.1. Objetivo General.....	5
2.2. Objetivos Específicos.....	5
3. Revisión de literatura.....	6
3.1. El cultivo de <i>Musa</i> spp. y su relevancia como hospedero de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> Raza Tropical 4 (Foc) TR4	6
3.2. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> Raza Tropical 4 (Foc TR4), agente causal del Mal de Panamá 7	
3.3. Mecanismos moleculares de infección del Foc TR4	7
3.5. Aplicación de herramientas computacionales para el estudio genómico del patógeno-hospedero, la identificación y diseño de péptidos antifúngicos	10
4. Metodología.....	12
4.2. Obtención de datos genómicos y alineamiento de secuencias	12
5. Resultados	16
6. Discusión	34
7. Conclusiones.....	38
8. Recomendaciones	38
9. Referencias bibliográficas	39
10. Anexo.....	43

Índice de Figuras

Figura 1. Distribución de secuencias de nucleótidos por % de alineamiento, secuencia de consulta genoma banano (<i>Musa AAA</i>) y secuencia de referencia genoma <i>Fusarium</i> (Foc TR4).	17
Figura 2. Distribución de secuencias de nucleótidos por E-value, secuencia de consulta genoma banano (<i>Musa AAA</i>) y secuencia de referencia genoma <i>Fusarium</i> (Foc TR4).	17
Figura 3. Distribución de secuencias de nucleótidos por E-value, secuencia de consulta genoma <i>Fusarium</i> (Foc TR4) y secuencia de referencia banano (<i>Musa AAA</i>).	18
Figura 4. Distribución de secuencias de nucleótidos por E-value, secuencia de consulta genoma <i>Fusarium</i> (Foc TR4) y secuencia de referencia banano (<i>Musa AAA</i>).	18
Figura 5. Distribución de secuencias proteicas por porcentaje de alineamiento, secuencia de consulta proteínas banano (<i>Musa AAA</i>) y secuencia de referencia proteínas <i>Fusarium</i> (Foc TR4).	19
Figura 6. Distribución de secuencias proteicas por E-value, secuencia de consulta proteínas banano (<i>Musa AAA</i>) y secuencia de referencia proteínas <i>Fusarium</i> (Foc TR4).	19
Figura 7. Distribución de secuencias proteicas por porcentaje de alineamiento, secuencia de consulta proteínas <i>Fusarium</i> (Foc TR4) y secuencia de referencia proteínas banano (<i>Musa AAA</i>).	20
Figura 8. Distribución de secuencias proteicas por E-value, secuencia de consulta proteínas <i>Fusarium</i> (Foc TR4) y secuencia de referencia proteínas banano (<i>Musa AAA</i>).	20
Figura 9. Distribución de pares de nucleótidos coincidentes entre análisis BLAST bidireccionales entre <i>Musa</i> spp. y <i>Fusarium</i> (Foc TR4).	21
Figura 10. Distribución de pares de proteínas coincidentes entre análisis BLASTp bidireccionales entre <i>Musa</i> spp. y <i>Fusarium</i> (Foc TR4).	22
Figura 11. Distribución de secuencias de aminoácidos resultado de las coincidencias de los BLASTp bidireccionales filtradas a ≤ 100 aminoácidos.	24
Figura 12. Predicción de estructura 3D de los cuatro péptidos de banano con mayor probabilidad de ser AMP basados en los resultados de CAMP _{R4}	33

Índice de Tablas

Tabla 1. Resultados de secuencias proteicas previo y posterior al filtrado bajo criterios establecidos: BLASTn (% alineamiento ≥ 70 %, E-value $\leq 0,001$), BLASTp (% alineamiento ≥ 60 %, E-value $\leq 0,001$).	16
Tabla 2. Secuencias de aminoácidos coincidentes entre BLASTp bidireccionales filtradas por longitud, ≤ 100 aminoácidos.....	22
Tabla 3. Resultados de predicción de péptidos antimicrobianos (AMPs) para proteínas del banano.	25
Tabla 4. Resultados de predicción de péptidos antimicrobianos (AMP) para proteínas de <i>Fusarium</i>	26
Tabla 5. Resultado de las secuencias de mRNA de banano procesadas con el algoritmo CPC2.....	27
Tabla 6. Resultado de las secuencias de mRNA a partir de retrotraducción de <i>Fusarium</i> procesadas con el algoritmo CPC2.....	28
Tabla 7. Resultados del análisis de potencial codificante de péptidos de <i>Fusarium</i> a partir de secuencias mRNA recuperadas mediante BLASTp contra la base de datos RefSeq, procesadas con el algoritmo CPC2.	29
Tabla 8. Anotación funcional de proteínas del banano (<i>Musa acuminata</i> AAA) mediante RefSeq con 100 % de identidad.	30
Tabla 9. Anotación funcional de péptidos de <i>Fusarium</i> mediante alineamiento BLASTp contra RefSeq.	32

Índice de Anexos

Anexo 1. Información y fuente de los genomas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i>	43
Anexo 2. Información y fuente de los genomas de <i>Musa</i> spp.	44

RESUMEN

La enfermedad del Mal de Panamá, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) TR4, representa una de las mayores amenazas para la producción de banano (*Musa* AAA) a nivel mundial. En este estudio, se integraron herramientas computacionales para identificar regiones de interacción hospedero-patógeno y péptidos candidatos con potencial actividad antimicrobiana, con el objetivo de contribuir al desarrollo de estrategias sostenibles de control. Se realizaron alineamientos bidireccionales BLASTn y BLASTp entre los genomas y proteomas de *Musa acuminata* AAA y *F. oxysporum* TR4, aplicando filtros estrictos de alineamiento (% de identidad ≥ 70 % para BLASTn; ≥ 60 % para BLASTp y E-value $\leq 0,001$ para ambos). El análisis permitió identificar 8627 coincidencias a nivel genómico y 3751 a nivel proteico, de las cuales se seleccionaron 143 péptidos de longitud ≤ 100 aminoácidos. La predicción del potencial antimicrobiano mediante CAMP_{R4} clasificó 12 péptidos de banano, destacando (XP_065019639.1_2, XP_065039134.1, XP_065036054.1 y XP_064979954.1, con probabilidad $\geq 0,73$) y 2 de *Fusarium* (TXC09145.1 y TXC09145.1_2, con probabilidad $\geq 0,60$) como potenciales antimicrobianos. La evaluación del potencial codificante mediante CPC2 mostró que la mayoría de las secuencias no poseen características típicas de transcritos codificantes, aunque sí presentan estructuras peptídicas relevantes. La anotación funcional reveló que muchos péptidos están asociados a proteínas ribosomales y polimerasas, fundamentales en procesos celulares críticos. Además, se identificaron péptidos asociados a membrana plasmática en *Fusarium*, proponiéndose su bloqueo como una estrategia potencial para comprometer la viabilidad del patógeno. La predicción estructural 3D mediante AlphaFold confirmó la presencia de motivos estructurales típicos de péptidos antimicrobianos. Estos resultados respaldan el uso de aproximaciones *in silico* para la selección de péptidos candidatos y sientan las bases para futuras estrategias de biocontrol molecular del Mal de Panamá en banano.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4; *Musa acuminata* AAA; péptidos antimicrobianos; BLAST bidireccional; herramientas *in silico*; CAMP_{R4}, CPC2; AlphaFold; interacción hospedero-patógeno; biocontrol molecular.

ABSTRACT

Panama disease, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (Foc TR4), is one of the most serious threats to global banana (*Musa* AAA) production. In this study, computational tools were integrated to identify host–pathogen interaction regions and candidate peptides with potential antimicrobial activity, aiming to contribute to the development of sustainable control strategies. Bidirectional BLASTn and BLASTp alignments were performed between the genomes and proteomes of *Musa acuminata* AAA and *F. oxysporum* TR4, applying strict alignment filters (identity $\geq 70\%$ for BLASTn; $\geq 60\%$ for BLASTp; E-value ≤ 0.001 for both). A total of 8627 genomic and 3751 proteomic matches were identified, from which 143 peptides of ≤ 100 amino acids were selected. Antimicrobial potential prediction using CAMPR4 classified 12 banana peptides—highlighting XP_065019639.1_2, XP_065039134.1, XP_065036054.1, and XP_064979954.1 (probability ≥ 0.73)—and two *Fusarium* peptides (TXC09145.1 and TXC09145.1_2, probability ≥ 0.60) as antimicrobial. Coding potential evaluation using CPC2 indicated that most sequences lacked typical features of coding transcripts, although they displayed relevant peptide structures. Functional annotation revealed that many peptides are associated with ribosomal proteins and polymerases, which are essential for key cellular processes. Additionally, peptides associated with the plasma membrane in *Fusarium* were identified, suggesting that their inhibition could compromise fungal viability. 3D structural prediction using AlphaFold confirmed the presence of structural motifs typical of antimicrobial peptides. These findings support the application of *in silico* approaches for peptide candidate selection and lay the groundwork for future molecular biocontrol strategies against Panama disease in bananas.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4; *Musa acuminata* AAA; antimicrobial peptides; bidirectional BLAST alignment; *in silico* analysis; CAMPR₄; CPC2; AlphaFold; host–pathogen interaction; molecular biocontrol.

1. Introducción

El banano (*Musa* spp.) es uno de los cultivos más importantes de Ecuador y uno de los más consumidos a nivel mundial. Actualmente los cultivares comerciales son los triploides ($2n = 3x = 33$) de los genomas (AAA, AAB y ABB), específicamente Cavendish y Gros Michel que pertenecen al genoma AAA (López-Zapata & Castaño-Zapata, 2019). Según el Banco Central del Ecuador (2020) en el 2018, este cultivo constituyó el 30 % de los ingresos por exportaciones agrícolas en Ecuador, para el 2020 estuvo entre los tres productos más exportados del país, en el periodo 2019-2020 los ingresos económicos generados por la exportación de banano y plátano pasó de USD 3295,2 millones a USD 3669,0 millones aumentando 11,3 % con respecto al año anterior. Sin embargo este cultivo de importancia tiene como desafíos el cambio climático y afectaciones por plagas y enfermedades de impacto como la Sigatoka Negra y Amarilla, el Moko Bacteriano, Virus del Bunchy top, Virus del Estriado del Plátano, Virus del Mosaico del Banano (Manzo-Sánchez et al., 2014), siendo la más agresiva la Enfermedad del Mal de Panamá o Marchitamiento por *Fusarium*, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza Tropical 4 (Foc TR4), un hongo patógeno ascomiceto que causa marchitamiento en *Musa* spp. (Viljoen, Ma, & Molina, 2020).

La enfermedad del Mal de Panamá, causado por *Fusarium oxysporum cubense* (Foc) raza 1 fue descrito por primera vez en Australia en 1874, este se convirtió en una epidemia que destruyó los monocultivos de Gros Michel durante 1900 (Bancroft, 1876). En la década de 1970 reapareció este patógeno pero esta vez la raza 4 en el continente del sudeste asiático y Australia, causando mortalidad a los cultivares Cavendish (Dita et al., 2018). Este haplotipo es el más agresivo dentro de Foc., pertenece al grupo único de compatibilidad vegetativa (VCG) 01213/16 y en la actualidad se lo ha renombrado a *F. odoratissimum*. (Zhan et al., 2022). Desde su primera detección se ha dispersado a países de África y recientemente se identificó en Sudamérica, reportándose en Colombia en el 2019, sin embargo, hasta el momento no hay reporte de este hongo en Ecuador (Maymon et al., 2020).

Ha sido tan fácil su expansión debido a que el modo de dispersión más común del fitopatógeno es *in situ*, el suelo y el riego; al adherirse el agua infectada y el suelo a las herramientas agrícolas (García-Bastidas, 2022). Es por esto que las prácticas de desinfección de equipo y herramientas agrícolas son indispensables para su prevención sabiendo que hasta el momento no hay variedad de banano que sea resistente a la raza

4 de *Fusarium* además que se ha comprobado ineffectividad de fungicidas comerciales ante este fitopatógeno.

Aunque se ha investigado interacciones con controladores biológicos como bacterias antagonistas del tipo *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., hongos antagonistas como *Trichoderma* spp. y el uso de micorrizas arbusculares o extractos de plantas, ninguna de estas alternativas ha demostrado ser altamente efectivo para el control de Foc TR4.

Ante el desafío de controlar esta enfermedad tan agresiva y que hasta la fecha no ha mostrado efectividad ningún tipo de control además de la inexistencia de variedades resistentes se propone la implementación de péptidos antimicrobianos (AMPs) como una alternativa de control prometedora, estas moléculas más pequeñas que las proteínas, con menos de 50 aminoácidos en su estructura, tienen importantes propiedades antimicrobianas. Dentro de los mecanismos de acción frente a patógenos está la ruptura de membranas, que se puede dar a través de tres vías, modelo de duela de barril, modelo de agujero de gusano y modelo de alfombra. Entre las familias más conocidas de péptidos se encuentran las defensinas, tioninas, heveinas, knotinas, α -harpininas, Proteínas de Transferencia de Lípidos (LTPs) y snakinas (Cardillo et al., 2018).

En este contexto resulta indispensable el uso de herramientas de biología computacional que permita estudiar a nivel genómico tanto el patógeno como su hospedero. El análisis comparativo de los genomas de Foc TR4 y *Musa* spp. permite identificar regiones de interacción patógeno-hospedero. De esta forma este estudio se enfoca en integrar herramientas computacionales para el análisis genómico del *F. oxysporum cubense* (Foc) Raza Tropical 4 y de *Musa* spp. con el objetivo de identificar péptidos antimicrobianos que puedan constituir una estrategia efectiva para el control del Mal de Panamá.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Desarrollar una estrategia potencial para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc) TR4 en banano mediante el análisis genómico del patógeno y la identificación de péptidos antimicrobianos utilizando herramientas de biología computacional.

2.2. Objetivos Específicos

Identificar los genomas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* y banano disponible para analizar sus genomas y proteomas.

Localizar las regiones del genoma codificante en donde el genoma de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc) TR4 y el genoma de banano coincidan como regiones potenciales de interacción hospedero-patógeno utilizando alineamientos bidireccionales.

Identificar péptidos antimicrobianos potenciales a partir de la selección de las coincidencias previas, evaluando su actividad mediante predicción computacional y caracterizando su estructura tridimensional y su anotación funcional.

3. Revisión de literatura

3.1. El cultivo de *Musa* spp. y su relevancia como hospedero de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza Tropical 4 (Foc) TR4

Las variedades comestibles de *Musa* spp. provienen de hibridación entre *Musa acuminata* (genoma AA) y *Musa balbisiana* (genoma BB) (Simmonds & Shepherd, 1955). Siendo los cultivares Gros Michel y Cavendish los más cultivados (López-Zapata & Castaño-Zapata, 2019). Estos cultivares son triploides con ascendencia exclusiva de *M. acuminata*, por lo que se designan como AAA. En contraste, los plátanos comestibles generalmente presentan una combinación triploide de dos partes de *M. acuminata* y una de *M. balbisiana*, clasificados como AAB. Los nombres científicos clásicos como *Musa paradisiaca* (que corresponde a los plátanos AAB) y *Musa sapientum* (utilizado para el banano tipo postre 'Silk', también AAB) en realidad hacen referencia a híbridos interespecíficos (Stover & Simmonds, 1987).

La susceptibilidad del cultivar Cavendish a distintas cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) ha generado interrogantes. Antes de la aparición de la Raza Tropical 4 (TR4) en el sudeste asiático, ya se habían reportado infecciones en regiones subtropicales como las Islas Canarias, Sudáfrica y Australia. Estas infecciones fueron atribuidas a condiciones ambientales adversas, como temperaturas bajas, que favorecen el desarrollo de la enfermedad. Diversos grupos de compatibilidad vegetativa (VCG), incluyendo los VCG 0120, 0129 y 01211, han sido asociados con estos brotes.

Se identificaron aislados del patógeno que usualmente no afectan al Cavendish en condiciones tropicales normales, representados por los VCG 0120, 0124-5 y 01220. En contraste, el grupo VCG 01213-01216 ha demostrado ser altamente virulento, afectando al Cavendish incluso en suelos fértiles y sin condiciones predisponentes, lo que caracteriza a la variante TR4. Aunque la Raza 4 fue inicialmente descrita en Taiwán, evidencia retrospectiva sugiere que los daños observados se debieron a TR4 y no a SR4 (Subtropical Race 4), siendo esta la que necesita condiciones climáticas que predispongan la infección (Su et al. 1977) (Ploetz et al. 2015).

En la actualidad Cavendish es el cultivar más significativo, responsable de alrededor el 15 % del total de las exportaciones de banano y el 28 % del consumo local. Por otro lado, el grupo AAB, es el responsable del 21 % adicional, esto significa que dos de los cincuenta subgrupos de banano representan el 64 % de

toda la producción. Esto nos da un panorama desafiante tomando en cuenta la base genética limitante que existe para el banano comercial (Ploetz, 2015).

3.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza Tropical 4 (Foc TR4), agente causal del Mal de Panamá

El Mal de Panamá es una enfermedad devastadora causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), que afecta principalmente a los cultivares de banano, causando marchitez y pérdidas significativas en la producción agrícola. Los síntomas incluyen el amarillamiento y marchitez de las hojas, la pudrición de las raíces y el colapso de las plantas afectadas (Ploetz, 2006; Farr & Rossman, 2020).

La primera aparición documentada de la enfermedad se remonta a finales del siglo XIX y principios del XX. Esta enfermedad ha evolucionado en varias razas, siendo la raza 4 tropical (Foc TR4) la más virulenta y preocupante en la actualidad debido a la carencia de materiales comerciales resistentes (Ploetz, 2006). Inicialmente, en la década de 1950 Foc raza 1 devastó las plantaciones de la variedad Gros Michel (AAA) y algunos cultivares de banano AAB o ABB, lo que llevó a la adopción de la variedad “Cavendish”, posteriormente surgió la raza 2 que afecta al plátano (ABB) especialmente cultivares del fruto cuadrado y la raza 3 que afecta heliconias ornamentales. En la década de 1990, la aparición de la Raza 4 más virulenta que las anteriores y a la cual los cultivares del grupo Cavendish son susceptibles, además afecta a los cultivares de banano susceptibles a la raza 1 y raza 2, comenzó a afectar el sudeste asiático, en las últimas décadas, se ha expandido a regiones productoras de banano en América Latina como Colombia y Perú (Fourie, 2018).

Históricamente, el control de la enfermedad del Mal de Panamá se ha basado en prácticas culturales y de manejo, como la rotación de cultivos, el uso de fungicidas, y la selección de variedades resistentes. Sin embargo, estos métodos han demostrado ser insuficientes frente a la evolución del hongo. Por otro lado, el proceso de mejoramiento genético en banano es extremadamente complicado debido a variables como ploidía que hacen al cultivo partenocarpico y estéril.

3.3. Mecanismos moleculares de infección del Foc TR4

A nivel genómico, el ADN de *Fusarium* se encuentra organizado en regiones denominadas “centrales” y “acesorias” (Ma et al., 2010, 2013; Rep & Kistler, 2010). Las regiones centrales se heredan

verticalmente y contienen genes esenciales, mientras que las regiones accesorias están alojadas en cromosomas supernumerarios (SP), adquiridos mediante transferencia horizontal. Estos cromosomas contienen genes asociados a la patogenicidad específica del hospedero, como ocurre en *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, cuya naturaleza polifilética ha sido ampliamente documentada (Baayen et al., 2000; O'Donnell et al., 1998).

El análisis de genes accesorios en la cepa II5 de TR4 (identificada también como CBS 102025 o NRRL 36114) ha revelado la presencia de proteínas pequeñas ricas en cisteína, conocidas como efectores, así como genes candidatos relacionados con la biosíntesis de metabolitos secundarios. Algunos de estos genes, denominados SIX (secretados en el xilema), originalmente descritos en *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Rep, 2005; Rep & Kistler, 2010), también se han encontrado en *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. El gen SIX1, por ejemplo, está presente en casi todas las cepas de esta forma patógena, y en TR4 se han identificado tres variantes: SIX1a, SIX1b y SIX1c, de las cuales se ha sugerido que SIX1a está implicada en la virulencia hacia cultivares Cavendish. Por otro lado, SIX8, presente en múltiples copias en regiones subtelméricas del genoma de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, también se ha detectado en TR4 y SR4. Fraser-Smith et al. (2014) identificaron dos variantes de este gen, SIX8a y SIX8b, mediante amplificación por PCR en más de 500 cepas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. En el futuro, será fundamental caracterizar con precisión los distintos patotipos del hongo, así como identificar los determinantes genéticos que regulan su especificidad de hospedero y el rango de cultivares susceptibles.

También se han identificado y caracterizado varios metabolitos secundarios como las micotoxinas que contribuyen a la progresión de la enfermedad. Las especies de *Fusarium* producen una extraordinaria diversidad de micotoxinas biológicamente activas durante el proceso de infección. La micotoxina es uno de los factores de virulencia mejor estudiados de los hongos fitopatógenos. Se identificó que el ácido fusárico (FSA), la beauvericina (BEA) y las eniatinas (EN) en *Foc* contribuyen a la patogenicidad durante la infección de las plantas hospedantes. FSA es una toxina no específica del huésped producida por todas las especies de *Fusarium* y desempeña un papel directo en la actividad de patogénesis al alterar el metabolismo de la planta infectada, lo que lleva a la inhibición de enzimas defensivas y la reducción de la viabilidad celular de las plantas huésped. Para el marchitamiento por *Fusarium* del banano, FSA juega un papel crítico en acelerar el desarrollo de esta enfermedad al actuar como una fitotoxina al alterar el balance hídrico de las hojas y el metabolismo del nitrógeno en las plantas de banano huésped. BEA y ENs

son hexadepsipéptidos cíclicos estructuralmente relacionados que pertenecen a la familia de antibióticos enniatina. Cada una de estas micotoxinas está asociada positivamente con la virulencia fúngica. La gravedad de la enfermedad suele estar relacionada positivamente con los niveles de micotoxinas (Portal González et al., 2021).

3.4. Péptidos antimicrobianos (AMPs) como estrategia de biocontrol para el manejo sostenible del Mal de Panamá

Los péptidos antimicrobianos son proteínas pequeñas que actúan contra una amplia gama de patógenos, incluyendo bacterias, hongos y virus. Su mecanismo de acción incluye la perturbación de las membranas celulares y la inhibición de procesos vitales en los patógenos. Son considerados agentes prometedores para el control biológico de enfermedades de plantas debido a su capacidad para superar la resistencia a fungicidas convencionales y su especificidad (Smith et al., 2022; Yang et al., 2018).

Hay varias investigaciones que dan a conocer la efectividad que tienen los péptidos como controladores de fitopatógenos, González-Rodríguez et al. (2005) realizaron un estudio en el que se evaluó el efecto del melitina, un péptido antimicrobiano proveniente del veneno de la abeja (*Apis mellifera*) contra doce diferentes especies distintas de bacterias fitopatógenas, demostrando su eficacia del 100% como inhibidor del crecimiento de fitopatógenos.

Vásquez et al. (2009) estudió la actividad antifúngica de péptidos antimicrobianos frente a *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka Negra, se realizaron pruebas de interacción entre péptidos y diversos fungicidas químicos y se encontró una respuesta de inhibición de los péptidos hacia el crecimiento micelial como la germinación de ascosporas, además se evidenció que no hay efecto antagónico ni sinérgicos con el control químico.

Así mismo (Fernández, Malbrán, & Cavalli, 2018) diseñaron péptidos antifúngicos a partir de dos defensinas de flores de cardo, estos se sintetizaron en laboratorio y se evaluó la actividad antifúngica contra *Fusarium graminearum*. En donde se encontró que los péptidos derivados de DefSm2 (péptidos 3248 y 3250) mostraron diferencias significativas en comparación con el control y el péptido 3248 inhibió completamente el crecimiento de *Fusarium graminearum*.

Además, existen varias bases de datos específicas para péptidos antimicrobianos como lo son: APD (Antimicrobial Peptide Database), CAMP (Collection of Anti-Microbial Peptides), DRAMP (Database of Research on Antimicrobial Peptides), dbAMP, LAMP (Linking Antimicrobial Peptides) y FungalP, estas bases de datos proporcionan información no solo estructural y biológica, sino que también muchas de estas permiten la predicción de propiedades antimicrobianas (Wang, Li, & Wang, 2016).

3.5. Aplicación de herramientas computacionales para el estudio genómico del patógeno-hospedero, la identificación y diseño de péptidos antifúngicos

El análisis genómico implica la secuenciación y el estudio del genoma de organismos patógenos y hospederos para identificar su interacción. En el contexto de *Fusarium oxysporum*, este enfoque permite la identificación de genes clave involucrados en la interacción con el huésped y facilita el desarrollo de estrategias de control basadas en la comprensión detallada de los mecanismos moleculares subyacentes (Dean et al., 2012; Zhou et al., 2019).

Sutherland et al. (2013), estudiaron genes asociados a la patogenicidad en Foc STR4 y TR4 mediante la comparación de fragmentos de ADNc derivados de transcripción (TDF) con los de *F. oxysporum* no patógeno. La investigación identificó 229 fragmentos de genes únicos relacionados con la patogenicidad, incluyendo genes que codifican para quitinasa clase V, una proteína activadora de GTPasa, un transportador multifármaco de la Superfamilia de Facilitadores Mayores (MFS) y genes de la proteína quinasa de serina/treonina (*ste12*). Se observó un aumento significativo en la expresión de estos genes en Foc STR4 y TR4 en comparación con *F. oxysporum* no patógeno. Además, genes relacionados con la patogenicidad en otras formas de *F. oxysporum*, como el citocromo P450 y la proteína F-box, también mostraron una regulación positiva en las razas patógenas. Este estudio representa el primer análisis comparativo de genes expresados en aislamientos patógenos y no patógenos de Foc raza 4 en bananos. Otro avance para las investigaciones es que el genoma completo de Foc TR4 y del banano *Musa* spp. ya fueron secuenciados y se encuentran disponibles en la base de datos pública del NCBI. Este recurso facilita estudios comparativos por medio de alineamientos entre patógeno-hospedero para estudiar su interacción. Para esto se utiliza la plataforma web de código abierto Galaxy Australia la cual permite hacer varios tipos de análisis entre ellos alineamientos de interés, BLASTn el cual compara el genoma del banano versus el genoma del *Fusarium* y BLASTp en donde se alinean secuencias proteicas de estos dos organismos. El

acceso a estos genomas es fundamental para el desarrollo de estrategias más efectivas de manejo y control de la enfermedad, así como para la identificación de posibles dianas terapéuticas.

El diseño de péptidos antimicrobianos se basa en modelos teóricos que predicen la estructura y la función de estos péptidos para maximizar su eficacia contra patógenos específicos. Este enfoque permite crear péptidos personalizados para controlar *Fusarium oxysporum*, optimizando su diseño para interactuar específicamente con las estructuras del patógeno y mejorar su potencial de aplicación en el campo (Peng et al., 2021; Zhang et al., 2019). El proceso incluirá la identificación de secuencias genómicas y proteicas potencialmente activas contra *Fusarium* y la identificación péptidos antimicrobianos basados en estas secuencias.

4. Metodología

4.1. Búsqueda e identificación de genomas de *Fusarium* y banano en bases de datos biológicas

Se realizó una búsqueda en bases de datos biológicas para encontrar genomas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y banano *Musa* AAA considerando que el grupo Cavendish es susceptible a la raza 4 de *Fusarium* (Anexo 1 y 2). Se seleccionaron las accesiones que contaban con datos genómicos y a la vez proteicos, en este caso se seleccionó *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) TR4 con registro de accesoión en el NCBI (GCA_007994515.1_ASM799451v1) y del banano se seleccionó la accesoión (GCF_036884655.1), que se encuentra en el NCBI.

4.2. Obtención de datos genómicos y alineamiento de secuencias

Se obtuvieron las secuencias genómicas y proteicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical raza 4 (TR4) (RefSeq GCA_007994515.1) y banano *Musa* AAA (RefSeq Assembly GCF_036884655.1) en la base de datos biológica del NCBI. Ambos genomas y secuencias proteicas se descargaron en formato FASTA para posteriormente realizar un alineamiento de secuencias, BLASTn para genomas y BLASTp para proteínas, estos se realizaron en la plataforma Galaxy Australia, ambos alineamientos se realizaron de forma bidireccional, es decir, se utilizó como secuencia de consulta (*query*) el genoma y secuencias proteicas de banano y como secuencia de sujeto (*subject*) el genoma y secuencias proteicas de *Fusarium* y viceversa.

Para correr los alineamientos se realizó un filtrado previo en Galaxy Australia. Para correr el BLASTn y BLASTp se tomaron criterios de E-value cutoff: 0,001 para asegurar alineamientos estadísticamente significativos, además se utilizaron los parámetros por defecto (basic) que provee el programa. Los resultados de los cuatro alineamientos se descargaron en formato tabular, y estos se visualizaron, analizaron y procesaron utilizando el software estadístico R[®] (versión 4.4.2). En R se realizó otro filtrado tomando como criterio el porcentaje de alineamiento para los BLASTn se filtraron alineamientos mayores a 70 % y para BLASTp mayores a 60 %, esto garantiza trabajar con los mejores alineamientos.

Después del filtrado se construyeron histogramas para visualizar la distribución de los datos en cada alineamiento, bajo los criterios de % de alineamiento y E-value. Además, se construyó un diagrama de

Venn por cada BLAST (BLASTn y BLASTp) para que se representen las coincidencias al compararlos de forma bidireccional.

Los paquetes empleados en R incluyen: `dplyr` para la manipulación de datos, `ggplot2` para la generación de gráficos, `openxlsx` para la exportación de resultados en formato Excel, `scales` para el manejo de escalas logarítmicas en los ejes de los gráficos, `VennDiagram` para la creación de diagramas de Venn y `grid` para la visualización gráfica de dichos diagramas.

4.3. Filtrado de péptidos por longitud resultado de las coincidencias entre BLASTp bidireccionales

De las secuencias proteicas coincidentes entre los BLASTp bidireccionales se filtraron aquellas con una longitud máxima de 100 aminoácidos, considerando este valor como el umbral máximo para ser clasificadas como péptidos. Este filtrado fue realizado en el programa R, con la librería `dplyr` y se obtuvo como salida archivos FASTA con filtrado del *query* en este caso *Fusarium* y banano como *subject*. Además, con la librería `ggplot2` en R se realizó un gráfico de distribución de los péptidos por longitud.

4.4. Predicción de potencial antimicrobiano usando CAMP_{R4}

Hasta esta etapa los péptidos fueron filtrados tomando en cuenta la nomenclatura del *query* y *subject* sin embargo de aquí en adelante se trabajó directamente con las secuencias de aminoácidos, es por esto que se realizó otro filtrado para eliminar secuencias de aminoácidos repetidas tanto del *query* como del *subject*. Estas secuencias únicas resultantes de *Fusarium* y banano se importaron en formato FASTA a la plataforma Collection of Anti-Microbial Peptides (CAMP_{R4}), para analizar su potencial antimicrobiano, y así poder determinar los posibles péptidos candidatos.

4.5. Análisis de CPC2 para los péptidos seleccionados por longitud

Para evaluar el potencial codificante de los péptidos seleccionados por longitud ≤ 100 aminoácidos y por secuencia única de aminoácidos se aplicó el algoritmo CPC2 (Coding Potential Calculator 2), hay que tomar en cuenta que este programa está diseñado para trabajar con secuencias de ADN, ARN o ARN mensajero, sin embargo, las salidas de los BLASTp dieron como resultado secuencias de aminoácidos. Es

por esto que se realizó una preparación previa de los datos utilizando el entorno Google Colab, por medio de scripts en Python. En primer lugar, para los péptidos seleccionados (secuencias de aminoácidos) de banano, se realizó una búsqueda cruzada en NCBI utilizando la librería `Entrez.elink()` para obtener sus genes y transcritos (mRNA) correspondientes, a continuación, se extrajeron los identificadores de los transcritos y se descargaron las secuencias de mRNA completas en formato FASTA utilizando la librería `Entrez.efetch()`. Estas secuencias fueron utilizadas como entrada del CPC2.

Por otro lado, para las secuencias de aminoácidos seleccionadas de *Fusarium* no se encontraron genes asociados, por lo que se procedió a retrotraducir estas secuencias peptídicas por medio de Python utilizando un diccionario simplificado de codones más frecuentes. Este proceso generó secuencias tipo mRNA sintéticas, con codones en formato de ARN (A, U, C, G), las cuales fueron exportadas como archivos FASTA y se corrieron en el CPC. Para ello, se emplearon las librerías `Bio.Seq`, `Bio.SeqRecord` y `Bio.SeqIO` del paquete Biopython dentro del entorno Google Colab, facilitando el procesamiento y la escritura de las secuencias en el formato adecuado.

Además, para comparar la retrotraducción se hizo un BLASTp de las proteínas de *Fusarium* seleccionadas contra la base de datos Refseq. A partir de este alineamiento, se identificaron secuencias de aminoácidos coincidentes con proteínas anotadas, de las cuales se seleccionaron las accesiones correspondientes a las proteínas de interés y se extrajeron sus identificadores. Luego se utilizaron las librerías `Bio.Entrez` y `Bio.SeqIO` de la herramienta de Biopython para recuperar las secuencias de mRNA asociadas a estos identificadores mediante el enlace con RefSeq. Las secuencias fueron descargadas en formato FASTA y utilizadas como entrada del programa CPC2.

4.6. Anotación de los péptidos seleccionados usando refSeq

Se realizó la anotación funcional utilizando la base de datos RefSeq del NCBI. Para ello se tomaron como entrada los archivos FASTA con las secuencias proteicas de *Fusarium* y banano. Se emplearon scripts en Python ejecutados en Google Colab, que utilizaron las funciones `Entrez.elink()` y `Entrez.efetch()` de la librería `Bio.Entrez` de Biopython. Mediante `elink`, se enlazaron los identificadores de proteínas de banano con sus transcritos (mRNA) en NCBI, y posteriormente, con

`efetch`, se recuperaron las descripciones asociadas a cada transcripto que cumplía con el 100 % de identidad.

Para las secuencias de aminoácidos seleccionadas de *Fusarium* no fue posible recuperar directamente desde RefSeq mediante el uso de herramientas como `Entrez.elink()` o `Entrez.efetch()`, debido a que sus identificadores (TXC) no están indexados en dicha base, por tal motivo se realizó un proceso alternativo de anotación funcional mediante alineamiento BLASTp contra la base de datos RefSeq, con un criterio de identidad del 100 %. De esta manera se logró asignar una descripción funcional a cada péptido mediante su alineamiento con proteínas ya anotadas en organismos relacionados.

Los resultados fueron organizados en una tabla resumen que incluía el identificador de la proteína, el identificador del transcripto y una breve descripción funcional.

4.7. Modelado estructural *in silico* de péptidos antimicrobianos.

Se realizó la predicción de la estructura tridimensional para los cuatro péptidos candidatos de *Musa acuminata* AAA con mayor probabilidad de ser AMPs según los resultados obtenidos a partir de la ejecución en CAMP_{R4}, para esto se utilizó el servidor AlphaFold, este predice con alta precisión la estructura tridimensional de secuencias de aminoácidos, por medio de redes neuronales profundas (Jumper et al., 2021). Se subieron las secuencias en formato FASTA al servidor y como salida se obtuvo la estructura tridimensional de cada péptido junto con métricas de calidad de predicción pTM (predicted Template Modeling score) el cual es un indicador de confianza del modelo.

5. Resultados

En la Tabla 1 se observa que la cantidad de alineamientos previo al filtrado por % de alineamiento es superior para el BLASTp proteínas banano versus proteínas *Fusarium* si se compara con los BLASTn, sin embargo, posterior al filtrado bajos los criterios para BLASTn (% alineamiento ≥ 70 %, E-value $\leq 0,001$), BLASTp (% alineamiento ≥ 60 %, E-value $\leq 0,001$), se evidencia una reducción significativa de alineamientos en los BLASTp. El análisis proteico es más sensible debido a diferencias funcionales entre estos dos organismos lo cual ocasiona que se reduzcan las coincidencias al aplicar un filtro más estricto. Por otro lado, las secuencias de ADN tienden a conservar regiones de similitud lo que resulta en un mayor número de secuencias posterior al filtrado.

Tabla 1. Resultados de secuencias proteicas previo y posterior al filtrado bajo criterios establecidos: BLASTn (% alineamiento ≥ 70 %, E-value $\leq 0,001$), BLASTp (% alineamiento ≥ 60 %, E-value $\leq 0,001$).

<i>Query</i>	<i>Subject</i>	Cantidad de secuencias alineadas	Cantidad de secuencias filtradas
Genoma banano	Genoma <i>Fusarium</i>	285445	282118
Genoma <i>Fusarium</i>	Genoma banano	227146	225244
Proteínas banano	Proteínas <i>Fusarium</i>	1411609	5260
Proteínas <i>Fusarium</i>	Proteínas banano	756303	5148

En la Figura 1 se muestra la distribución del porcentaje de alineamiento de las secuencias estudiadas como resultado del BLASTn con secuencia de consulta genoma banano (*Musa* AAA) y secuencia de referencia genoma *Fusarium*, en donde la mayor concentración de los datos se encuentra en el rango de 70 % al 90 %. Las secuencias arriba del 90 % representan regiones altamente conservadas entre ambos organismos. Por otro lado, en la Figura 2 se observa la distribución del alineamiento por el criterio de E-value,

analizando estos dos parámetros se evidencia que a mayor porcentaje de alineamiento el E-value estuvo más cercano a cero lo cual explica que el alineamiento no se dio al azar.

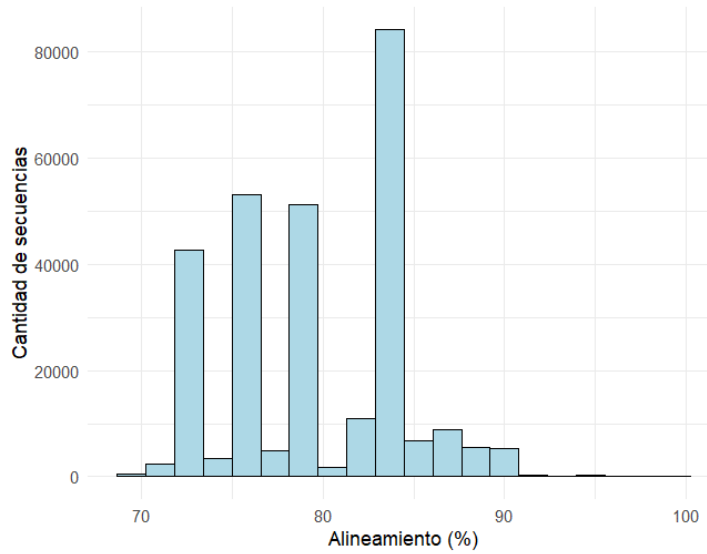


Figura 1. Distribución de secuencias de nucleótidos por % de alineamiento, secuencia de consulta genoma banano (*Musa AAA*) y secuencia de referencia genoma *Fusarium* (Foc TR4).

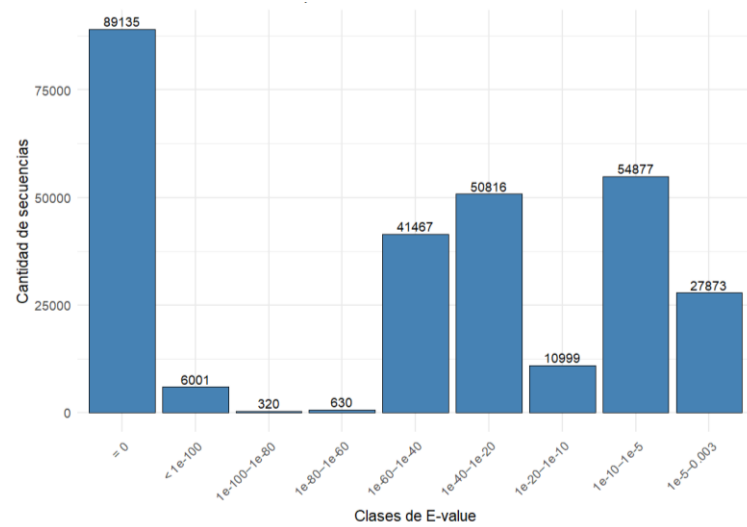


Figura 2. Distribución de secuencias de nucleótidos por E-value, secuencia de consulta genoma banano (*Musa AAA*) y secuencia de referencia genoma *Fusarium* (Foc TR4).

Como resultado del BLASTn con secuencia de consulta genoma *Fusarium* (Foc TR4) y secuencia de referencia banano (*Musa AAA*) se observa en la Figura 3 una mayor concentración de secuencias entre el rango de 70 % al 90 % sin embargo hay una reducción de secuencias alineadas si se compara con el BLASTn donde el genoma consulta es el banano y el genoma de referencia es *Fusarium* (Figura 1). Por otro lado, en la Figura 4 también vemos un comportamiento de distribución mayor con E-value cercano a cero, lo que confirma la confiabilidad de los alineamientos.

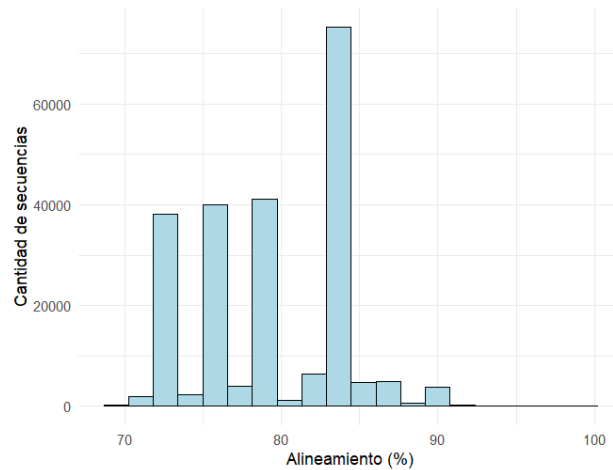


Figura 3. Distribución de secuencias de nucleótidos por E-value, secuencia de consulta genoma *Fusarium* (Foc TR4) y secuencia de referencia banano (*Musa AAA*).

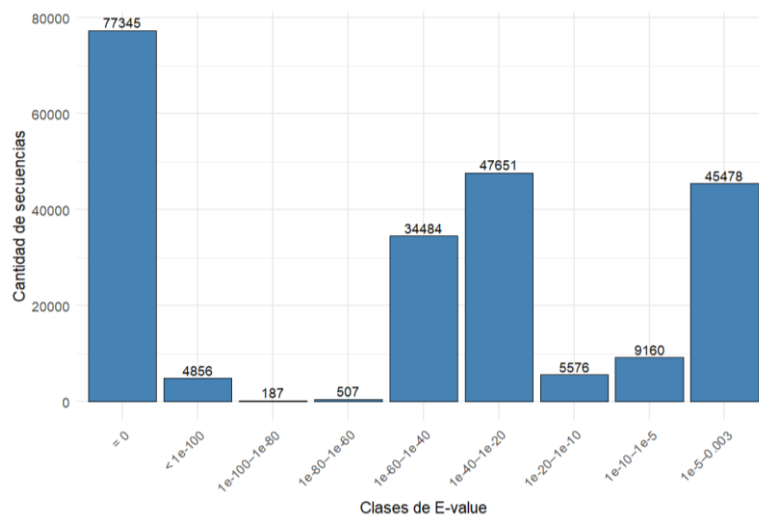


Figura 4. Distribución de secuencias de nucleótidos por E-value, secuencia de consulta genoma *Fusarium* (Foc TR4) y secuencia de referencia banano (*Musa AAA*).

En la Figura 5 como resultado del BLASTp con secuencia de consulta proteínas banano (*Musa* AAA) y secuencia de referencia proteínas *Fusarium* (Foc TR4) se observa una mayor concentración entre los rangos 60 % al 80 %, cabe resaltar que hay un grupo de secuencias arriba del 90 % de alineamiento lo cual demuestra que hay una alta similitud entre ambos genomas en dichas regiones. En la Figura 6 se puede observar que la mayoría de valores están cercanos al cero lo cual demuestra alta confiabilidad en el alineamiento, indicando que no se dio al azar.

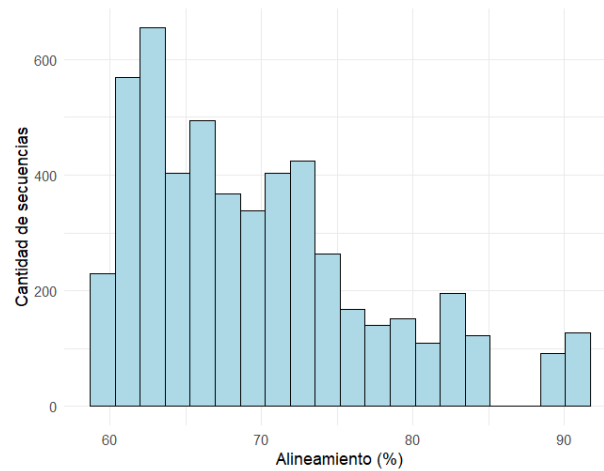


Figura 5. Distribución de secuencias proteicas por porcentaje de alineamiento, secuencia de consulta proteínas banano (*Musa* AAA) y secuencia de referencia proteínas *Fusarium* (Foc TR4).

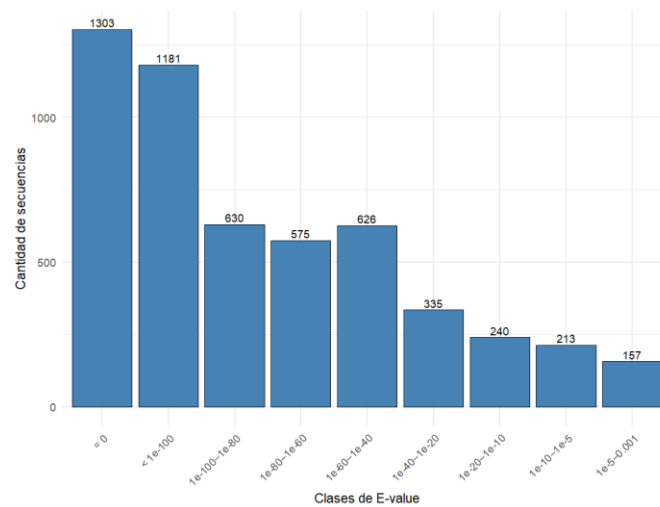


Figura 6. Distribución de secuencias proteicas por E-value, secuencia de consulta proteínas banano (*Musa* AAA) y secuencia de referencia proteínas *Fusarium* (Foc TR4).

Como resultado del BLASTp con secuencia de consulta proteínas *Fusarium* (Foc TR4) y secuencia de referencia proteínas banano (*Musa AAA*), se observa en la Figura 7 una mayor distribución de datos entre los rangos 60 % al 80 %. De igual forma hay una cantidad de secuencias considerable situadas en el 90 % de alineamiento. En la Figura 8 coincide la distribución con los otros alineamientos, la mayor concentración está situada en valores de E-value cercanos al cero.

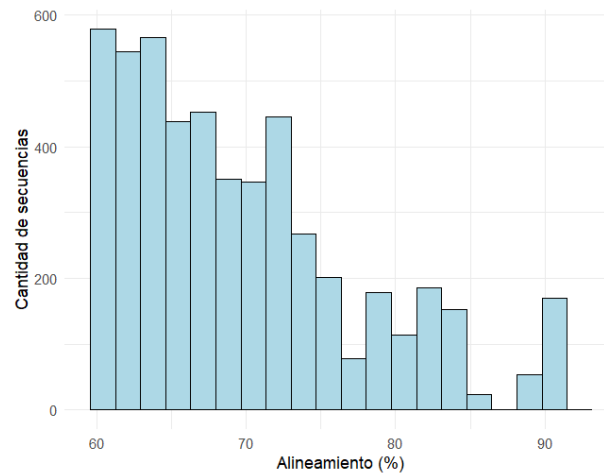


Figura 7. Distribución de secuencias proteicas por porcentaje de alineamiento, secuencia de consulta proteínas *Fusarium* (Foc TR4) y secuencia de referencia proteínas banano (*Musa AAA*).

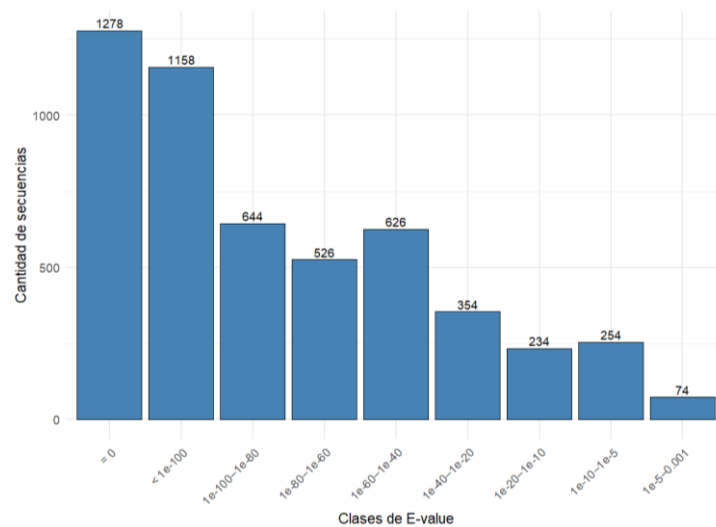


Figura 8. Distribución de secuencias proteicas por E-value, secuencia de consulta proteínas *Fusarium* (Foc TR4) y secuencia de referencia proteínas banano (*Musa AAA*).

El diagrama de Venn (Figura 9) muestra la distribución de los alineamientos coincidentes al comparar los BLASTn bidireccionales. En el análisis se obtuvo un total de 273491 alineamientos unidireccionales cuando se utilizó el genoma de banano como *query* y el de *Fusarium* como *subject*, mientras que en el alineamiento inverso dio como resultado 216617 alineamientos. Sin embargo, solo 8627 alineamientos coincidieron en ambos sentidos, lo cual representa una fracción muy reducida del total. Estas coincidencias sugieren que independientemente de la dirección del alineamiento esas secuencias se identifican como posibles regiones homólogas entre ambos genomas, por lo que se pueden considerar regiones conservadas y relacionadas con genes ortólogos o elementos funcionales esenciales.

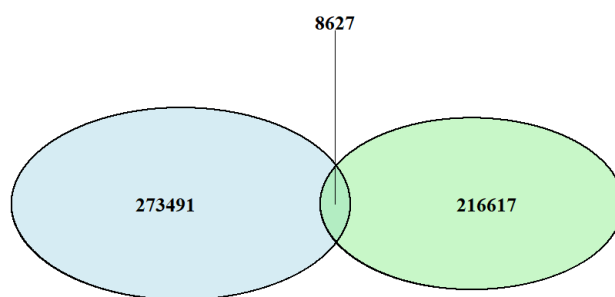


Figura 9. Distribución de pares de nucleótidos coincidentes entre análisis BLAST bidireccionales entre *Musa spp.* y *Fusarium* (Foc TR4).

En la Figura 10 el diagrama de Venn muestra la distribución de las proteínas coincidentes entre los BLASTp bidireccionales. Cuando se realizó el alineamiento con el proteoma banano como *query* y el de *Fusarium* como *subject* se identificaron 1509 alineamientos únicos mientras que en el sentido contrario se reflejan 1397 alineamientos, de los cuales 3751 coincidieron en ambos sentidos, lo que sugiere un conjunto de proteínas ortólogas o funcionalmente conservadas.

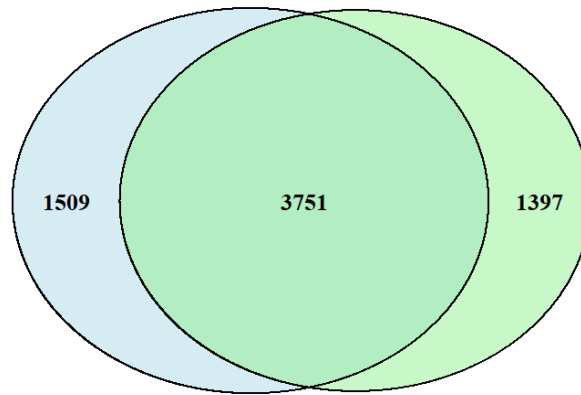


Figura 10. Distribución de pares de proteínas coincidentes entre análisis BLASTp bidireccionales entre *Musa spp.* y *Fusarium* (Foc TR4).

De las 3751 secuencias de aminoácidos que coincidieron en ambas direcciones de los BLASTp (Figura 10) se obtuvo un total de 143 secuencias a una longitud menor e igual a 100 aminoácidos, lo que corresponde a la máxima longitud para ser considerado un péptido. El filtrado por longitud se realiza tanto en el *query* (*Fusarium*) como en el *subject* (banano), lo cual se visualiza en las columnas Long_Q y Long_S respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Secuencias de aminoácidos coincidentes entre BLASTp bidireccionales filtradas por longitud, \leq 100 aminoácidos.

<i>Query_ID</i>	<i>Subject_ID</i>	Long_Q	Long_S	<i>Query_ID</i>	<i>Subject_ID</i>	Long_Q	Long_S
TXC00938.1	XP_064981829.1	57	54	TXC09862.1	XP_009412784.1	83	87
TXC00938.1	XP_064939187.1	57	54	TXC10319.1	XP_064993052.1	51	72
TXC00938.1	XP_009417776.1	57	54	TXC10319.1	XP_064993051.1	51	72
TXC00938.1	XP_009414164.1	57	54	TXC10319.1	XP_064993050.1	51	72
TXC01415.1	XP_065019639.1	90	69	TXC10319.1	XP_064993049.1	51	72
TXC01415.1	XP_018677453.1	90	69	TXC10319.1	XP_064993048.1	51	72
TXC03593.1	XP_065019639.1	91	69	TXC10319.1	XP_064993047.1	51	72
TXC03593.1	XP_018677453.1	91	69	TXC10319.1	XP_064993046.1	51	72
TXC04556.1	XP_065036054.1	68	65	TXC10319.1	XP_064993045.1	51	72
TXC04556.1	XP_065005906.1	68	65	TXC10319.1	XP_064993044.1	51	72
TXC04556.1	XP_064962701.1	68	65	TXC10319.1	XP_064993043.1	51	72
TXC04556.1	XP_009397683.1	68	65	TXC10319.1	XP_064993042.1	51	72
TXC04556.1	XP_065039134.1	68	65	TXC10319.1	XP_064993041.1	51	72
TXC04556.1	XP_065039133.1	68	65	TXC10319.1	XP_065041479.1	51	51
TXC04556.1	XP_065039132.1	68	65	TXC10319.1	XP_065008031.1	51	51

TXC04556.1	XP_065037153.1	68	65	TXC10319.1	XP_065006166.1	51	51
TXC04556.1	XP_065027309.1	68	65	TXC10319.1	XP_065005408.1	51	51
TXC04556.1	XP_065027302.1	68	65	TXC10319.1	XP_064981516.1	51	51
TXC04556.1	XP_065024350.1	68	65	TXC10319.1	XP_064953570.1	51	51
TXC04556.1	XP_065008732.1	68	65	TXC10319.1	XP_009417442.1	51	51
TXC04556.1	XP_065008731.1	68	65	TXC10319.1	XP_009401451.1	51	51
TXC04556.1	XP_065003434.1	68	65	TXC10319.1	XP_009392151.1	51	51
TXC04556.1	XP_065003098.1	68	65	TXC10319.1	XP_064948471.1	51	72
TXC04556.1	XP_064982884.1	68	65	TXC10319.1	XP_064948470.1	51	72
TXC04556.1	XP_064961934.1	68	65	TXC10319.1	XP_064948469.1	51	72
TXC04556.1	XP_064961933.1	68	65	TXC10319.1	XP_064938892.1	51	51
TXC04556.1	XP_009400847.1	68	65	TXC10625.1	XP_065045295.1	89	56
TXC04556.1	XP_009398420.1	68	65	TXC10625.1	XP_065043628.1	89	56
TXC04556.1	XP_009396925.1	68	65	TXC10625.1	XP_065026332.1	89	56
TXC04556.1	XP_009396924.1	68	65	TXC10625.1	XP_065009466.1	89	56
TXC05180.1	XP_065009189.1	80	71	TXC10625.1	XP_064996945.1	89	56
TXC05180.1	XP_064969743.1	80	71	TXC10625.1	XP_064984526.1	89	56
TXC05180.1	XP_009405913.1	80	71	TXC10625.1	XP_064956109.1	89	56
TXC05180.1	XP_065044571.1	80	70	TXC10625.1	XP_064949818.1	89	56
TXC05180.1	XP_064966733.1	80	70	TXC10625.1	XP_009421099.1	89	56
TXC05180.1	XP_009406145.1	80	70	TXC10625.1	XP_009404780.1	89	56
TXC05197.1	XP_065032198.1	63	84	TXC10625.1	XP_009393841.1	89	56
TXC05197.1	XP_065003196.1	63	84	TXC10625.1	XP_009386513.1	89	56
TXC05197.1	XP_065003195.1	63	84	TXC10625.1	XP_064969717.1	89	56
TXC05197.1	XP_065003194.1	63	84	TXC10625.1	NP_001365545.1	89	56
TXC05197.1	XP_064947888.1	63	84	TXC10625.1	XP_065044332.1	89	88
TXC05197.1	XP_064947887.1	63	84	TXC11156.1	XP_064959350.1	62	62
TXC05197.1	XP_064947886.1	63	84	TXC11156.1	XP_065005954.1	62	62
TXC05197.1	XP_064947885.1	63	84	TXC11156.1	XP_009396641.2	62	62
TXC05197.1	XP_018679252.1	63	84	TXC11156.1	XP_065001864.1	62	62
TXC05197.1	XP_009380386.1	63	84	TXC11156.1	XP_064957989.1	62	62
TXC09145.1	XP_065022475.1	92	92	TXC11156.1	XP_009395069.1	62	62
TXC09145.1	XP_064980700.1	92	92	TXC11606.1	XP_065029573.1	82	86
TXC09145.1	XP_009416488.1	92	92	TXC11606.1	XP_064946264.1	82	86
TXC09145.1	XP_064979954.1	92	92	TXC11606.1	XP_009383858.1	82	86
TXC09145.1	XP_064937635.1	92	92	TXC11606.1	XP_065035909.1	82	86
TXC09145.1	XP_009415747.1	92	92	TXC11606.1	XP_065030537.1	82	86
TXC09145.1	XP_065011048.1	92	92	TXC11606.1	XP_009384308.1	82	86
TXC09145.1	XP_064998506.1	92	92	TXC11606.1	XP_065049144.1	82	86
TXC09145.1	XP_064985321.1	92	92	TXC11606.1	XP_065046172.1	82	86
TXC09145.1	XP_064969579.1	92	92	TXC11606.1	XP_064988273.1	82	86
TXC09145.1	XP_009405729.1	92	92	TXC11606.1	XP_064974424.1	82	86
TXC09145.1	XP_009392534.1	92	92	TXC11606.1	XP_064966613.1	82	86
TXC09145.1	XP_065032047.1	92	92	TXC11606.1	XP_009410582.1	82	86
TXC09145.1	XP_065006107.1	92	92	TXC11606.1	XP_009404730.2	82	86
TXC09145.1	XP_064978610.1	92	92	TXC11606.1	XP_009384350.1	82	86
TXC09145.1	XP_064936570.1	92	92	TXC11606.1	XP_064966574.1	82	86
TXC09145.1	XP_009415220.1	92	92	TXC11606.1	XP_018683114.1	82	86
TXC09145.1	XP_009387761.1	92	92	TXC11606.1	XP_065000865.1	82	86

TXC09145.1	XP_065011047.1	92	93	TXC11606.1	XP_009393881.1	82	86
TXC09145.1	XP_064969578.1	92	93	TXC11606.1	XP_064988171.1	82	86
TXC09145.1	XP_009405728.1	92	93	TXC11606.1	XP_065046142.1	82	86
TXC09145.1	XP_064978609.1	92	93	TXC11606.1	XP_065027393.1	82	85
TXC09145.1	XP_064936569.1	92	93	TXC11606.1	XP_065027392.1	82	85
TXC09145.1	XP_009415219.1	92	93	TXC11606.1	XP_064984634.1	82	85
TXC09862.1	XP_065020080.1	83	87	TXC11606.1	XP_064942699.1	82	85
TXC09862.1	XP_064975457.1	83	87				

En la Figura 11 se visualiza la distribución de los péptidos filtrados por longitud (≤ 100 aminoácidos), diferenciados por el *query* (*Fusarium*) y el *subject* (banano), en donde cada punto representa una secuencia individual y las líneas conectadas corresponden a los pares *query-subject* que coincidieron en los BLASTp bidireccionales. Se evidencia que la mayoría de las secuencias se concentran entre los 60 y 95 aminoácidos, además se observa que en el *query* hay una ligera concentración de secuencias peptídicas en longitudes mayores.

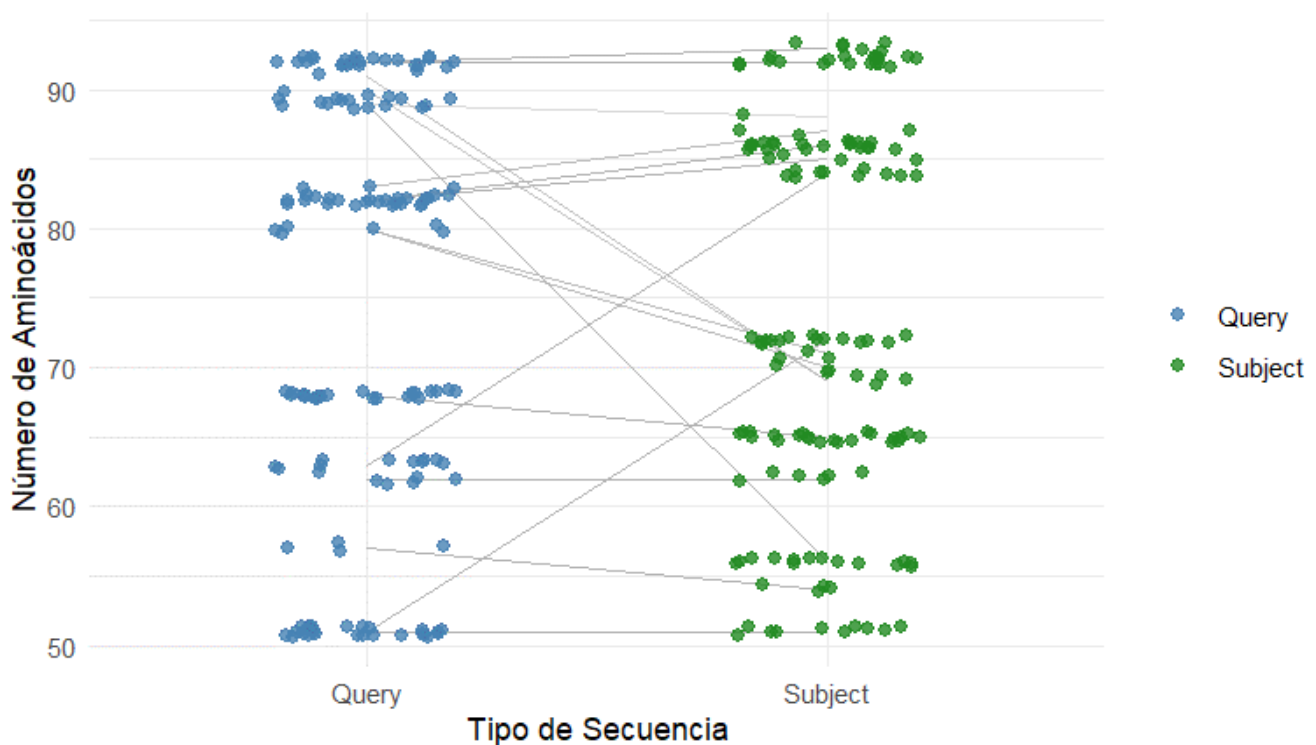


Figura 11. Distribución de secuencias de aminoácidos resultado de las coincidencias de los BLASTp bidireccionales filtradas a ≤ 100 aminoácidos.

Una vez filtradas las secuencias de aminoácidos repetidas de *Fusarium* y *Musa* spp., se evaluó su potencial antimicrobiano de los péptidos con secuencias de aminoácidos únicas por medio de la plataforma virtual CAMP_{R4}. En el caso del banano, de un total de 30 péptidos evaluados, 12 péptidos fueron clasificados como potencialmente antimicrobianos (AMP), con probabilidad superior a 0,5. Se observó mayor probabilidad de ser AMPs, en los péptidos XP_065019639.1_2, XP_065039134.1, XP_065036054.1 y XP_064979954.1, con probabilidad mayor al 0,70 (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de predicción de péptidos antimicrobianos (AMPs) para proteínas del banano.

Péptidos banano ID	Clasificación	Probabilidad AMP
XP_064981829.1	NAMP	0,48
XP_009414164.1	NAMP	0,25
XP_065019639.1	NAMP	0,41
XP_065019639.1_2	AMP	0,73
XP_065036054.1	AMP	0,73
XP_065039134.1	AMP	0,82
XP_065009189.1	NAMP	0,32
XP_065044571.1	NAMP	0,25
XP_065032198.1	NAMP	0,23
XP_065022475.1	AMP	0,69
XP_064979954.1	AMP	0,76
XP_065011047.1	AMP	0,58
XP_065020080.1	AMP	0,61
XP_064993052.1	AMP	0,58
XP_064938892.1	AMP	0,63
XP_065045295.1	AMP	0,59
XP_064969717.1	AMP	0,58
XP_064959350.1	AMP	0,63
XP_065005954.1	NAMP	0,00
XP_009396641.2	NAMP	0,00
XP_065001864.1	NAMP	0,00
XP_065029573.1	NAMP	0,00
XP_065035909.1	NAMP	0,00
XP_065049144.1	NAMP	0,00
XP_064966574.1	NAMP	0,00
XP_065000865.1	NAMP	0,00
XP_064988171.1	NAMP	0,00
XP_065046142.1	NAMP	0,00
XP_065027393.1	NAMP	0,00
XP_064984634.1	NAMP	0,00

En el caso de las secuencias de *Fusarium* se evaluaron 16 péptidos con secuencias de aminoácidos únicas, de estos, 2 péptidos fueron clasificados como AMP, TXC09145.1 y TXC09145.1_2, con probabilidad superior al 0,6 (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de predicción de péptidos antimicrobianos (AMP) para proteínas de *Fusarium*.

Péptidos <i>Fusarium</i> ID	Clasificación	Probabilidad AMP
TXC00938.1	NAMP	0,46
TXC00938.1_2	NAMP	0,48
TXC01415.1	NAMP	0,28
TXC03593.1	NAMP	0,26
TXC04556.1	NAMP	0,27
TXC04556.1_2	NAMP	0,38
TXC05180.1	NAMP	0,24
TXC05180.1_2	NAMP	0,15
TXC05197.1	NAMP	0,17
TXC09145.1	AMP	0,61
TXC09145.1_2	AMP	0,71
TXC09862.1	NAMP	0,30
TXC10319.1	NAMP	0,48
TXC10625.1	NAMP	0,19
TXC11156.1	NAMP	0,00
TXC11606.1	NAMP	0,00

Se evaluaron 30 péptidos seleccionados de banano con longitud ≤ 100 aminoácidos y con secuencias únicas, mediante el algoritmo CPC2. Para esto se realizó previamente una búsqueda cruzada en la base de datos RefSeq, para recuperar transcritos (mRNA) correspondientes a los péptidos a través de sus identificadores proteicos. Estos transcritos fueron clasificados como no codificantes, al presentar probabilidades codificantes menores a 0,5 (Tabla 5). Lo que sugiere que pese a tener la estructura peptídica, las secuencias no presentan características típicas de transcritos codificantes basado en este modelo.

Tabla 5. Resultado de las secuencias de mRNA de banano procesadas con el algoritmo CPC2.

#ID péptidos banano	Longitud del péptido	Puntaje Fickett	Punto isoeléctrico	Integridad del ORF	Probabilidad codificante	Clasificación
XP_064981829.1 XM_065125757.1	55	0,35	7,69	1	0,02	NC
XP_009414164.1 XM_009415889.3	81	0,37	9,92	1	0,11	NC
XP_065019639.1 XM_065163567.1	70	0,43	5,62	1	0,15	NC
XP_065019639.1_2 XM_065163567.1	70	0,43	5,62	1	0,15	NC
XP_065036054.1 XM_065179982.1	66	0,41	11,16	1	0,1	NC
XP_065039134.1 XM_065183062.1	66	0,37	11,16	1	0,06	NC
XP_065009189.1 XM_065153117.1	72	0,43	5,15	1	0,2	NC
XP_065044571.1 XM_065188499.1	71	0,37	5,11	1	0,11	NC
XP_065032198.1 XM_065176126.1	85	0,37	7,54	1	0,12	NC
XP_065022475.1 XM_065166403.1	93	0,35	10,24	1	0,13	NC
XP_064979954.1 XM_065123882.1	93	0,35	10,24	1	0,13	NC
XP_065011047.1 XM_065154975.1	94	0,36	10,24	1	0,14	NC
XP_065020080.1 XM_065164008.1	88	0,48	4,71	1	0,49	NC
XP_064993052.1 XM_065136980.1	73	0,37	12,16	1	0,06	NC
XP_064938892.1 XM_065082820.1	88	0,4	4,88	1	0,37	NC
XP_065045295.1 XM_065189223.1	61	0,43	10,81	1	0,11	NC
XP_064969717.1 XM_065113645.1	57	0,32	10,18	1	0,03	NC
XP_064959350.1 XM_065103278.1	63	0,45	11,42	1	0,16	NC
XP_065005954.1 XM_065149882.1	63	0,38	11,42	1	0,05	NC
XP_009396641.2 XM_009398366.3	63	0,36	11,43	1	0,05	NC
XP_065001864.1 XM_065145792.1	63	0,44	12,02	1	0,1	NC
XP_065029573.1 XM_065173501.1	87	0,42	9,1	1	0,24	NC

XP_065035909.1 XM_065179837.1	87	0,33	9,06	1	0,08	NC
XP_065049144.1 XM_065193072.1	87	0,42	9,12	1	0,23	NC
XP_064966574.1 XM_065110502.1	87	0,38	9,1	1	0,14	NC
XP_065000865.1 XM_065144793.1	108	0,42	9,3	1	0,47	NC
XP_064988171.1 XM_065132099.1	99	0,35	9,92	1	0,15	NC
XP_065046142.1 XM_065190070.1	87	0,38	9,1	1	0,13	NC
XP_065027393.1 XM_065171321.1	86	0,44	8,9	1	0,29	NC
XP_064984634.1 XM_065128562.1	86	0,42	8,64	1	0,2	NC

En el caso de *Fusarium*, se aplicaron dos enfoques complementarios. Primero, se evaluaron 16 péptidos únicos obtenidos a partir de retrotraducción desde las secuencias de aminoácidos, dando como salida transcritos sintéticos tipo mRNA, estos fueron clasificados como no codificantes al presentar probabilidades inferiores al 0,5 (Tabla 6).

Tabla 6. Resultado de las secuencias de mRNA a partir de retrotraducción de *Fusarium* procesadas con el algoritmo CPC2.

#ID péptidos <i>Fusarium</i>	Longitud del péptido	Puntaje Fickett	Punto isoelectrico	Integridad del ORF	Probabilidad codificante	Clasifica ción
TXC00938.1	7	0,36	5,27	-1	0,01	NC
TXC00938.1_2	7	0,34	5,27	-1	0,02	NC
TXC01415.1	12	0,4	4,14	-1	0,01	NC
TXC03593.1	55	0,39	10,49	-1	0,13	NC
TXC04556.1	68	0,39	10,36	-1	0,13	NC
TXC04556.1_2	35	0,39	6,12	-1	0,02	NC
TXC05180.1	72	0,4	8,76	-1	0,07	NC
TXC05180.1_2	71	0,39	8,41	-1	0,07	NC
TXC05197.1	47	0,4	4,88	-1	0,02	NC
TXC09145.1	91	0,39	10,46	-1	0,15	NC
TXC09145.1_2	77	0,39	10,41	-1	0,14	NC
TXC09862.1	57	0,38	4,45	-1	0,02	NC
TXC10319.1	51	0,39	12,55	-1	0,17	NC
TXC10625.1	54	0,39	10,13	-1	0,12	NC
TXC11156.1	59	0,37	11,77	-1	0,18	NC
TXC11606.1	84	0,38	9,45	-1	0,11	NC

El otro enfoque consistió en utilizar secuencias de mRNA reales recuperadas desde RefSeq mediante enlaces con identificadores proteicos alineados por BLASTp. En este caso se clasificaron 2 de los 16 péptidos como codificantes, al presentar probabilidades superiores al 0,5. Estas secuencias correspondieron a proteínas ribosomales o relacionadas con funciones transcripcionales, como se observa en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados del análisis de potencial codificante de péptidos de *Fusarium* a partir de secuencias mRNA recuperadas mediante BLASTp contra la base de datos RefSeq, procesadas con el algoritmo CPC2.

#ID péptidos <i>Fusarium</i>	Longitud del péptido	Puntaje Fickett	Punto isoeléctrico	Integridad del ORF	Probabilidad codificante	Clasificación
TXC09145.1 XP_018235368.1	93	0,43	10,46	1	0,35	NC
TXC09145.1_2 XP_018235368.1	93	0,43	10,46	1	0,35	NC
TXC11606.1 XP_003007631.1	88	0,38	10,92	1	0,16	NC
TXC09862.1 XP_038750607.1	157	0,44	5,28	1	0,99	C
TXC05180.1 XP_018233219.1	81	0,33	8,75	1	0,06	NC
TXC05180.1_2 XP_018233219.1	81	0,33	8,75	1	0,06	NC
TXC04556.1 XP_044711878.1	101	0,43	11,06	1	0,46	NC
TXC04556.1_2 XP_044711878.1	101	0,43	11,06	1	0,46	NC
TXC11156.1 XP_018241156.1	63	0,42	11,77	1	0,08	NC
TXC10625.1 XP_044702657.1	100	0,34	10,13	1	0,14	NC
TXC03593.1 XP_044686988.1	94	0,43	8,01	1	0,33	NC
TXC10319.1 XP_033688987.1	119	0,37	11,89	1	0,23	NC
TXC00938.1 XP_018240147.1	58	0,4	6,5	1	0,04	NC
TXC05197.1 XP_018249298.1	70	0,3	6,87	1	0,04	NC
TXC00938.1_2 XP_018240147.1	58	0,4	6,5	1	0,04	NC
TXC01415.1 XP_064653725.1	168	0,44	8,95	1	0,97	C

Para las proteínas de banano se logró recuperar anotaciones funcionales con un 100 % de identidad para todas las secuencias evaluadas, en la Tabla 8 podemos observar proteínas identificadas, proteínas ribosomales como eS27y-like, eS28-like, eL39-like, y otras proteínas funcionales como polimerasas de ARN dependientes de ADN y proteínas hidrofóbicas LTI6B, comúnmente asociadas al grupo *Musa acuminata* AAA.

Tabla 8. Anotación funcional de proteínas del banano (*Musa acuminata* AAA) mediante RefSeq con 100 % de identidad.

Péptidos banano ID	Accesión alineada ID	% Identidad	Descripción_RefSeq
XP_064979954.1	ref XP_008786203.1	100.0	60S ribosomal protein L37a [<i>Phoenix dactylifera</i>]
XP_065022475.1	ref XP_009416488.1	100.0	large ribosomal subunit protein eL43z [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065011047.1	ref XP_008786203.1	100.0	60S ribosomal protein L37a [<i>Phoenix dactylifera</i>]
XP_065046142.1	ref XP_065046142.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27w-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065029573.1	ref XP_009383858.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27y [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_064966574.1	ref XP_018683114.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27w-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065000865.1	ref XP_009393881.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27y [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065049144.1	ref XP_009384350.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27y [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065035909.1	ref XP_009384308.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27y [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_064988171.1	ref XP_064988171.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27w-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065027393.1	ref XP_065027392.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27w-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_064984634.1	ref XP_064942699.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS27w-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065020080.1	ref XP_009412784.1	100.0	sm-like protein LSM5 [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065009189.1	ref XP_009405913.1	100.0	DNA-directed RNA polymerase subunit 10-like protein isoform X2 [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065044571.1	ref XP_009406145.1	100.0	DNA-directed RNA polymerase subunit 10-like protein [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065036054.1	ref XP_009397683.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS28-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065039134.1	ref XP_066321197.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS28-like [<i>Miscanthus floridulus</i>]

XP_064959350.1	ref XP_064959350.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS30z/eS30y/eS30x-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065005954.1	ref XP_065005954.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS30z/eS30y/eS30x-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065001864.1	ref XP_009395069.1	100.0	small ribosomal subunit protein eS30z/eS30y/eS30x [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_009396641.2	ref XP_009396641.2	100.0	small ribosomal subunit protein eS30z/eS30y/eS30x-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_064969717.1	ref XP_065044332.1	100.0	small ribosomal subunit protein uS14-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065045295.1	ref XP_009386513.1	100.0	small ribosomal subunit protein uS14 [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065019639.1	ref XP_018677453.1	100.0	probable small nuclear ribonucleoprotein G isoform X3 [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_064993052.1	ref XP_064993041.1	100.0	large ribosomal subunit protein eL39-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_064938892.1	ref XP_064938892.1	100.0	large ribosomal subunit protein eL39-like [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_064981829.1	ref XP_009417776.1	100.0	hydrophobic protein LTI6B [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]
XP_065032198.1	ref XP_020589551.1	100.0	anaphase-promoting complex subunit 11 [<i>Phalaenopsis equestris</i>]
XP_009414164.1	ref XP_009414164.1	100.0	hydrophobic protein LTI6B [<i>Musa acuminata</i> AAA Group]

En el caso de *Fusarium* las secuencias peptídicas al no estar indexadas directamente en RefSeq por su nomenclatura TXC, fueron sometidas a alineamientos BLASTp contra la misma base de datos. A partir de este análisis, se identificaron accesiones alrededor del 100 % de identidad que permitieron asociar funcionalmente a la mayoría de los péptidos con proteínas ribosomales, subunidades polimerasas y proteínas hipotéticas de especies relacionadas como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Fusarium poae* (Tabla 9). Dos péptidos fueron alineados con proteínas no caracterizadas.

Tabla 9. Anotación funcional de péptidos de *Fusarium* mediante alineamiento BLASTp contra RefSeq.

Péptidos <i>Fusarium</i> ID	Accesión alineada ID	% Identidad	Descripción_RefSeq
TXC09145.1	ref XP_018235368.1	100.0	ribosomal protein L37ae [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC09145.1_2	ref XP_018235368.1	100.0	ribosomal protein L37ae [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC11606.1	ref XP_003007631.1	100.0	40S ribosomal protein S27 [<i>Verticillium alfalfae</i> VaMs.102]
TXC09862.1	ref XP_038750607.1	97.297	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm5 [<i>Colletotrichum karsti</i>]
TXC05180.1	ref XP_018233219.1	100.0	DNA-directed RNA polymerase I, II and III subunit RPABC5 [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC05180.1_2	ref XP_018233219.1 (Dean et al., 2012).	100.0	DNA-directed RNA polymerase I, II and III subunit RPABC5 [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC04556.1	ref XP_044711878.1	100.0	40S ribosomal protein S28 [<i>Fusarium poae</i>]
TXC04556.1_2	ref XP_044711878.1	100.0	40S ribosomal protein S28 [<i>Fusarium poae</i>]
TXC11156.1	ref XP_018241156.1	100.0	40S ribosomal protein S30 [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC10625.1	ref XP_044702657.1	100.0	hypothetical protein FPOAC1_010957 [<i>Fusarium poae</i>]
TXC03593.1	ref XP_044686988.1	100.0	Serine/threonine-protein kinase smg1 [<i>Fusarium musae</i>]
TXC10319.1	ref XP_033688987.1	98.039	uncharacterized protein BU26DRAFT_548319 [<i>Trematosphaeria pertusa</i>]
TXC00938.1	ref XP_018240147.1 	100.0	plasma membrane proteolipid 3 [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC05197.1	ref XP_018249298.1 	97.872	anaphase-promoting complex subunit 11 [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC00938.1_2	ref XP_018240147.1 	100.0	plasma membrane proteolipid 3 [<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> 4287]
TXC01415.1	ref XP_064653725.1	100.0	uncharacterized protein LTR77_010786 [<i>Saxophila tyrrhenica</i>]

Nota. Los péptidos resaltados en negrita presentan funciones relacionadas con la membrana plasmática, lo cual sugiere un posible rol en procesos de interacción celular, transporte o señalización en el contexto de la patogenicidad de *Fusarium oxysporum*.

A partir del análisis del potencial antimicrobiano, se seleccionaron los cuatro péptidos con mayor valor de probabilidad de ser AMPs, XP_065039134.1 (0,82), XP_064979954.1 (0,76), XP_065036054.1 (0,73) y XP_065019639.1_2 (0,73), estas secuencias de aminoácidos se ejecutaron en el servidor de predicción estructural 3D AlphaFold. En la Figura 12, se puede observar que para el péptido XP_065039134.1 se tiene una estructura compacta con predominancia de láminas β , y un valor de predicción de pTM de 0,78, el péptido XP_064979954.1 mostró una configuración combinada de hélices α y láminas β , con un pTM de 0,83, el péptido XP_065036054.1 también mostró láminas β predominantes, con un valor pTM de 0,80

y por último, el péptido XP_065019639.1_2 presentó una estructura mixta con láminas β y regiones desordenadas o extendidas, lo cual podría reflejar una mayor flexibilidad estructural, el valor pTM obtenido fue de 0,80.

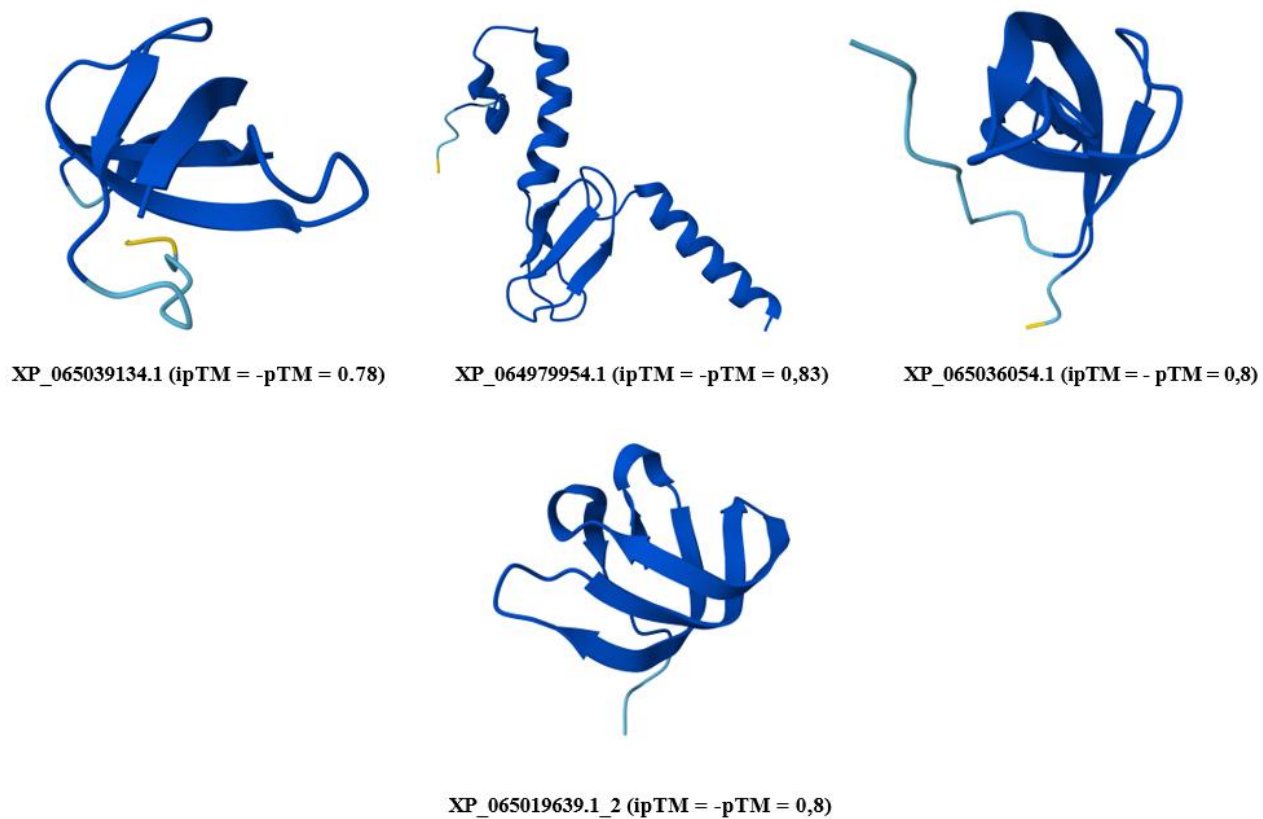


Figura 12. Predicción de estructura 3D de los cuatro péptidos de banano con mayor probabilidad de ser AMP basados en los resultados de CAMP_{R4}.

6. Discusión

Este estudio integró diversas herramientas computacionales para identificar regiones de interacción hospedero-patógeno y péptidos candidatos con propiedades potenciales antimicrobianas, que puedan ser base para el manejo y control biológico del Mal de Panamá en banano, enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) TR4.

A partir de los alineamientos BLASTn y BLASTp con filtrado de (≥ 70 % de alineamiento y E-value ≤ 0.001 para BLASTn; ≥ 60 % de alineamiento y E-value ≤ 0.001 para BLASTp) se obtuvieron coincidencias a nivel genómico y proteico, que revelaron un alto número de secuencias conservadas entre ambos genomas y proteomas. Cabe resaltar que estos alineamientos se realizaron de forma bidireccional, de esto se obtuvo para BLASTn 8627 coincidencias y para BLASTp 3751 secuencias de aminoácidos compartidas lo cual sugiere que existen relaciones funcionales y ortologías entre genomas y proteomas (Moreno-Hagelsieb & Latimer, 2008). Se optó por continuar el análisis utilizando el proteoma debido a que las coincidencias obtenidas corresponden a secuencias de aminoácidos, lo que resulta más pertinente para la identificación de péptidos; con este propósito se aplicó un filtrado adicional para seleccionar aquellas secuencias con longitud de ≤ 100 aminoácidos, este umbral se estableció siguiendo el criterio propuesto por Wang et al. (2016), quienes definen esta longitud como el límite superior para clasificarse como péptido.

Las secuencias de aminoácidos filtradas se analizaron en la plataforma CAMP_{R4}, para predecir su potencial antimicrobiano. En el caso del banano, 12 péptidos fueron clasificados como AMPs, con una probabilidad mayor a 0,5. De los cuales, cuatro péptidos presentaron una probabilidad igual o superior a 0,73, destacándose XP_065039134.1 (0,82), XP_064979954.1 (0,76), XP_065036054.1 (0,73) y XP_065019639.1_2 (0,73). Los demás péptidos, XP_065022475.1, XP_065011047.1, XP_065020080.1, XP_064993052.1, XP_064938892.1, XP_065045295.1, XP_064969717.1 y XP_064959350.1 mostraron valores entre 0,58 y 0,69. Para *Fusarium*, se clasificaron 2 péptidos como antimicrobianos, TXC09145.1 y TXC09145.1_2 con valores de probabilidad de 0,61 y 0,71 respectivamente. La diferencia de péptidos AMPs predichos entre organismos puede ser debido al sistema innato de defensa que tienen las plantas lo que ocasiona que produzcan mayor diversidad y cantidad de péptidos (Hammami & Fliss, 2010).

Para el análisis del potencial codificante de estos péptidos se utilizó el algoritmo CPC2. En el caso del banano, se emplearon secuencias de mRNA recuperadas desde RefSeq mediante los identificadores de las proteínas alineadas. Ninguna secuencia fue clasificada como codificante, aunque poseen estructura peptídica, esto debido a que no muestran características transcriptómicas esperadas para el modelo de CPC2, como marcos de lectura abiertos robustos y puntuaciones Fickett elevadas (Kang et al., 2017). Para las secuencias de *Fusarium*, se aplicaron dos enfoques: retrotraducción desde aminoácidos usando codones frecuentes y recuperación de mRNA reales alineados contra RefSeq. Con el primer enfoque al subir los transcritos al CPC2 estos fueron clasificados como no codificantes, sin embargo, con el segundo enfoque se clasificaron 2 péptidos como codificantes. El no ser clasificados como codificantes no descarta la funcionalidad antimicrobiana, ya que estos también pueden ser derivados de regiones no codificantes clásicas o ser producto de procesamiento post-traducciona (Takahashi et al., 2019).

Por otro lado, en la anotación funcional de los péptidos tanto de banano como de *Fusarium* se asociaron en su mayoría a proteínas ribosomales, polimerasas y elementos estructurales. En banano predominaron las subunidades ribosomales eS27y-like, eS28-like y eL39-like, asociadas a procesos celulares esenciales como la síntesis de proteínas en el ribosoma, reguladas por rutas como la vía del ribosoma KEGG (ko03010), estas proteínas están directamente relacionadas con la traducción y ensamblaje ribosomal, procesos críticos para el crecimiento y desarrollo celular (Kanehisa et al., 2021). Péptidos derivados de subunidades ribosomales como eS27, eS28 y eL39 han mostrado capacidad de unirse a membranas bacterianas y alterar su integridad (Gorr et al., 2011), por lo que se infiere que estos péptidos podrían estar involucrados en mecanismos de defensa inducida, particularmente en respuesta a estrés biótico como infecciones fúngicas. Además, el hecho de que estas secuencias de aminoácidos estén relacionadas con funciones vitales, como proteínas ribosomales y polimerasas en rutas metabólicas esenciales como la biosíntesis de proteínas y la replicación del ADN fortalece la hipótesis de que los AMPs derivados de estas proteínas tienen doble rol dentro de los organismos: estructurales/catalíticas y defensivas. La literatura reciente sugiere que varios péptidos antimicrobianos de origen endógeno están codificados dentro de precursores funcionales como proteínas ribosomales, y que estos pueden activarse cuando la célula atraviesa alguna situación de estrés o infección (Mikut et al., 2017).

En *Fusarium*, en cambio se observó una tendencia similar, aunque con presencia adicional de proteínas hipotéticas y factores transcripcionales, incluyendo polimerasas dependientes de ADN, implicadas en la

vía de replicación y reparación de ADN (ko03030). Esta variabilidad puede estar vinculada a mecanismos de adaptación del patógeno y a la expresión diferencial de genes asociados con la virulencia para la infección del hospedero (Dean et al., 2012).

Algunos estudios han demostrado que patógenos como *F. oxysporum* pueden secretar proteínas efectoras con dominios similares a péptidos antimicrobianos para modular la inmunidad del hospedero o facilitar la invasión (de Jonge et al., 2011). Así, la existencia de AMPs en *Fusarium* derivados de proteínas ribosomales podría representar una adaptación evolutiva para interactuar con el hospedero. Además, en el análisis funcional de *Fusarium* se destacaron tres péptidos asociados a funciones de membrana, como plasma membrane proteolipid 3 (TXC00938.1, TXC00938.1_2) y anaphase-promoting complex subunit 11 (TXC05197.1). Esto resulta relevante, dado que estas estructuras son esenciales para la homeostasis, comunicación y patogenicidad del hongo. Como estrategia se podría bloquear las proteínas de membrana mediante péptidos sintéticos y de esta forma comprometer la integridad celular de *Fusarium*, afectando su viabilidad. Esta vulnerabilidad es estratégica, considerando que la interacción hospedero-patógeno inicia en la superficie celular. En banano por ejemplo la primera barrera contra *F. oxysporum* es la pared celular, cuyo fortalecimiento, mediado por la activación de genes como celulosa sintasa, GST y polifenol oxidasa contribuyen a reducir la adhesión de esporas y aumenta la resistencia (Lit et al., 2012). Al mismo tiempo el hongo percibe señales químicas de la planta, como hidroxiácidos de la cutina que desencadenan su respuesta invasiva (Woloshuk & Kolattukudy, 1986). Proteínas de membrana como Msb2 y Sho1 participan en esta percepción y regulan la vía Fmk1, esencial para la virulencia mediante la activación de genes involucrados en la biogénesis de la pared celular y el estrés de membrana (Pérez-Nadales & Di Pietro, 2011). Es por esto que las membranas son punto clave de la defensa vegetal como para la infección fúngica.

La predicción de estructuras tridimensionales se ejecutó en los péptidos con mayor valor de probabilidad de ser AMP de *Musa acuminata* (XP_065039134.1, XP_064979954.1, XP_065036054.1 y XP_065019639.1_2), esto se realizó mediante AlphaFold, con el objetivo de explorar su estabilidad conformacional y potencial funcional. Los resultados mostraron estructuras diferentes, pero con elementos estructurales asociados a péptidos antimicrobianos. Los péptidos XP_065039134.1 y XP_065036054.1 presentaron una arquitectura dominada por láminas β , XP_064979954.1 exhibió una configuración mixta con hélices α y láminas β , mientras que el péptido XP_065019639.1_2 mostró una estructura dominada

por láminas β bien definidas, complementadas con loops flexibles y regiones desordenadas en los extremos. Estas estructuras son consistentes con las descritas en la literatura para péptidos antimicrobianos de origen natural, los cuales suelen adoptar conformaciones que incluyen la formación de barriles β o hélices anfipáticas, esto para facilitar la interacción con membranas microbianas (Nguyen et al., 2011; Fjell et al., 2012). La predicción de pTM (predicted Template Modeling score) para los cuatro péptidos fue $\geq 0,78$, lo que indica un nivel de confianza moderadamente alto en las estructuras generadas, esto da certeza del modelo estructural además puede servir como base para estudios posteriores de docking, dinámica molecular o diseño racional de análogos sintéticos.

Los resultados respaldan la viabilidad de usar herramientas computacionales para identificar regiones conservadas entre patógeno y hospedero y seleccionar péptidos candidatos para futuros ensayos de validación funcional y antimicrobiana, contribuyendo al desarrollo de estrategias innovadoras para el manejo del Mal de Panamá en *Musa* spp.

7. Conclusiones

- El análisis comparativo entre los genomas y proteomas de *Musa acuminata* AAA y *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4 permitió identificar regiones conservadas con alta homología, destacando proteínas ribosomales y polimerasas como puntos clave de interacción hospedero-patógeno.
- El análisis en CAMP_{R4} permitió identificar péptidos antimicrobianos potenciales en banano (XP_065039134.1, XP_064979954.1, XP_065036054.1 y XP_065019639.1_2), los cuales mostraron alta probabilidad de ser AMPs (> 0.73).
- La mayoría de los péptidos no fueron clasificados como codificantes bajo el algoritmo CPC2, sin embargo, algunos derivados de secuencias de *Fusarium* sí lo fueron, sugiriendo un posible rol funcional relevante en la patogenicidad.
- Según la anotación funcional, muchos de los péptidos identificados se vincularon a proteínas ribosomales y polimerasas, lo que indica que las coincidencias corresponden en su mayoría a regiones conservadas esenciales en eucariotas. Aunque estas proteínas están involucradas principalmente en procesos estructurales y metabólicos, se ha reportado que ciertos fragmentos derivados de ellas pueden adquirir función dual estructural-defensiva.
- Los péptidos candidatos presentaron estructuras típicas de AMPs (láminas β y hélices α), según la predicción realizada en AlphaFold, lo que proporciona evidencia adicional de su estabilidad conformacional y potencial funcional.

8. Recomendaciones

- Validar experimentalmente los péptidos antimicrobianos identificados mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*, con el enfoque de hacer formulaciones bioactivas o por medio de ingeniería genética sintetizar estos péptidos y optimizar el uso de estas moléculas para el manejo la enfermedad del Mal de Panamá con un enfoque sostenible.
- Extender la búsqueda de péptidos en otras accesiones de *Musa* resistentes y en otras razas de *F. oxysporum* para comparar perfiles de respuesta molecular.
- Implementar técnicas de docking molecular y dinámica molecular para estudiar interacciones específicas de AMPs con estructuras fúngicas.

9. Referencias bibliográficas

- Baayen, R. P., O'Donnell, K., Bonants, P. J. M., Cigelnik, E., Kroon, L. P. N. M., Roebroeck, E. J. A., & Waalwijk, C. (2000). Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, 90(8), 891–900.
- Banco Central del Ecuador. (2020). Cuentas nacionales trimestrales del Ecuador: Resultados de las variables macroeconómicas, 2020.III. Recuperado de <https://www.bce.fin.ec>
- Bancroft, J. (1876). Report of the Board appointed to enquire into the cause of disease affecting livestock and plants. *Votes and Proceedings*, 3, 1011-1038.
- Cardillo, A. B., Martínez Ceron, M. C., Romero, S. M., Cascone, O., Camperi, S. A., & Giudicessi, S. L. (2018). Péptidos antimicrobianos de plantas. *Revista Farmacéutica*, 0034-9496.
- de Jonge, R., Bolton, M. D., & Thomma, B. P. (2011). How filamentous pathogens co-opt plants: the ins and outs of fungal effectors. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(4), 400-406. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.03.005>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., ... & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., ... & Foster, G. D. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430.
- 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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01468>
- Farr, D. F., & Rossman, A. Y. (2020). *Fusarium* species on banana. *Mycotaxon*, 134(2), 485-514.
- Fernandez, A., Malbrán, I., & Cavalli, S. E. (2018). Diseño de péptidos antifúngicos a partir de dos defensinas de flores de cardo. Síntesis y actividad contra *Fusarium graminearum*. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(4), 305–314.
- Fourie, G., & Steenkamp, E. T. (2018). Advances in the study of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 108(1), 4-14.
- Fraser-Smith, S., Czislowksi, E., Meldrum, R. A., Zander, M., O'Neill, W. T., Balali, G. R., ... & Aitken, E. A. B. (2014). Sequence variation in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* effector gene *SIX8* is associated with virulence on Cavendish banana. *Plant Pathology*, 63(3), 690–703.
- García-Bastidas, F. (2022). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4). *CABI Compendium*. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.59074053>
- González-Rodríguez, M. Á., Silva-Rojas, H. V., & Mascorro-Gallardo, J. O. (2005). Ensayo in vitro del péptido antimicrobiano melitina contra diferentes bacterias fitopatógenas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2), 176-182. Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223211>
- Gorr, S. U., Abdolhosseini, M., & Sattari, A. (2011). Human salivary histatins: a critical review of their biological properties and clinical significance in oral health. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 9(4), 375–391. <https://doi.org/10.1586/eri.11.17>

- Hammami, R., & Fliss, I. (2010). Current trends in antimicrobial peptide research: potential applications in food safety and human health. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(10), 785-802. <https://doi.org/10.1139/W10-063>
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596, 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Kang, Y. J., Yang, D. C., Kong, L., Hou, M., Meng, Y. Q., Wei, L., & Gao, G. (2017). CPC2: a fast and accurate coding potential calculator based on sequence intrinsic features. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W12-W16. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx428>
- Kumar, P., Kizhakkedathu, J. N., & Straus, S. K. (2020). Antimicrobial peptides: Diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo. *Biomolecules*, 10(4), 597. <https://doi.org/10.3390/biom10040597>
- Li, C., Shao, J., Wang, Y., Li, W., Guo, D., Yan, B., ... & Chen, S. (2012). Analysis of banana transcriptome and global gene expression profiles in banana roots in response to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense Tropical Race 4 (Foc TR4). *BMC Genomics*, 13, 392. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-392>
- López-Zapata, S. P., & Castaño-Zapata, J. (2019). Manejo integrado del mal de Panamá *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. sp. cubense (E.F. SM.) W.C. Snyder & H.N. Hansen: Una revisión. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(2), 441-456. <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1240>
- Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., ... & Rep, M. (2013). *Fusarium* pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, 67, 399–416.
- Ma, L. J., Van der Does, H. C., Borkovich, K. A., Coleman, J. J., Daboussi, M. J., Di Pietro, A., ... & Rep, M. (2010). Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature*, 464(7287), 367–373.
- Mangoni, M. L., McDermott, A. M., & Zasloff, M. (2021). Antimicrobial peptides and their therapeutic potential. *Frontiers in Immunology*, 12, 679653. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.679653>
- Manzo-Sánchez, G., Orozco-Santos, M., Martínez-Bolaños, L., Garrido-Ramírez, E., & Canto-Canche, B. (2014). Enfermedades de importancia cuarentenaria y económica del cultivo de banano (*Musa* sp.) en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(2), 123-139.
- Maymon, M., Sela, N., Shpatz, U., Galpaz, N., & Freeman, S. (2020). The origin and current situation of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4 in Israel and the Middle East. *Scientific Reports*, 10, 1590. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58378-4>
- Mikut, R., Ruden, S., Reischl, M., Breitling, F., & Volkmer, R. (2017). Improving short antimicrobial peptides despite elusive rules for activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1859(5), 536–549. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.09.023>
- Moreno-Hagelsieb, G., & Latimer, K. (2008). Choosing BLAST options for better detection of orthologs as reciprocal best hits. *Bioinformatics*, 24(3), 319–324. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm585>
- Nguyen, L. T., Haney, E. F., & Vogel, H. J. (2011). The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends in Biotechnology*, 29(9), 464–472. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.05.001>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(5), 2044–2049.
- Peng, D., Chen, L., Chen, S., Liu, L., Zhou, M., & Fang, X. (2021). In silico design and screening of novel antimicrobial peptides against *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 644881.

- Pérez-Nadales, E., & Di Pietro, A. (2011). The membrane mucin Msb2 regulates invasive growth and plant infection in the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum*. *The Plant Cell*, 23(3), 1171–1185. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.083857>
- Ploetz, R. C. (2006). Panama disease: A classic and contemporary problem. *Phytopathology*, 96(6), 654–665.
- Ploetz, R. C. (2015). Management of *Fusarium* wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, 73, 7–15.
- Ploetz, R. C., Kema, G. H., & Ma, L. J. (2015b). Impact of diseases on export and smallholder production of banana. *Annual Review of Phytopathology*, 53, 269–288.
- Portal González, N., Soler, A., Ribadeneira, C., Solano, J., Portieles, R., Herrera Isla, L., Companioni, B., Borrás-Hidalgo, O., & Santos Bermúdez, R. (2021). Phytotoxic metabolites produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race 2. *Frontiers in Microbiology*, 12, 629395. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.629395>
- Rep, M. (2005). Small proteins of plant-pathogenic fungi secreted during host colonization. *FEMS Microbiology Letters*, 253(1), 19–27.
- Rep, M., & Kistler, H. C. (2010). The genomic organization of plant pathogenicity in *Fusarium* species. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(4), 420–426.
- Simmonds, N. W., & Shepherd, K. (1955). The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 55(359), 302–312. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1955.tb00015.x>
- Smith, A., Liu, J., Wang, Z., & Chen, Y. (2022). Antimicrobial peptides as new weapons against plant pathogens. *Trends in Plant Science*, 27(2), 123–135.
- Stover, R. H., & Simmonds, N. W. (1987). *Bananas* (3rd ed.). Longman.
- Su, H. J., Hwang, S. C., & Ko, W. H. (1977). Fusarial wilt of Cavendish bananas in Taiwan. *Plant Disease Reporter*, 61(11), 1017–1021.
- Sutherland, M. W., Pegg, K. G., & Turner, D. W. (2013). Molecular insight into the complex infection process of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Functional Plant Biology*, 40(10), 1014–1024.
- Takahashi, T., Kulkarni, N. N., Lee, E. Y., Zhang, L. J., Wong, G. C. L., & Gallo, R. L. (2018). Cathelicidin promotes inflammation by enabling binding of self-RNA to cell surface scavenger receptors. *Scientific Reports*, 8, 4032. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22409-3>
- Vásquez, R., Franco, A., & Rivera, J. (2009). Efecto antifúngico de péptidos antimicrobianos frente a *Mycosphaerella fijiensis*. *Fitopatología Colombiana*, 33(2), 95–101.
- Viljoen, A., Ma, L.-J., & Molina, A. B. (2020). *Fusarium* wilt (Panama disease) and monoculture in banana production: Resurgence of a century-old disease (Chapter 8). In D. R. Jones (Ed.), *Diseases of banana, abacá and enset* (2nd ed.). *The American Phytopathological Society*. <https://doi.org/10.1094/9780890546383.008>
- Wang, G., Li, X., & Wang, Z. (2016). APD3: The antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D1087–D1093. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1278>
- Woloshuk, C. P., & Kolattukudy, P. E. (1986). Cutinase gene induction by cutin monomers in *Fusarium solani* f. sp. *lisi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(6), 1704–1708. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.6.1704>
- Yang, Y., Wang, Z., & Jin, L. (2018). Design and application of antimicrobial peptides against fungal pathogens in agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(36), 9381–9386.
- Zhan, N., Kuang, M. Y., Li, C. Y., Liu, S. W., Deng, G. M., Viljoen, A., Yi, G. J., & Sheng, O. (2022). *First report of Fusarium wilt of Iholena banana (Musa spp.) caused by Fusarium oxysporum f. sp. cubense tropical race 4 in China*. *Plant Disease*, 106(12), 3312. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-21-2621-PDN>

- Zhang, L. J., & Gallo, R. L. (2016). Antimicrobial peptides. *Current Biology*, 26(1), R14–R19. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017>
- Zhang, Y., Li, S., Sun, W., & Wang, G. (2019). Computational strategies for the prediction of antimicrobial peptides. *Current Pharmaceutical Design*, 25(3), 401–416.
- Zhao, M., Xie, Y., Huang, W., & Huang, J. (2019). Comparative genomics of *Fusarium oxysporum* and its host-specific forms reveals potential virulence factors and insights into the interaction with host plants. *BMC Genomics*, 20, 647. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6022-3>.
- Zhou, L., Li, J., & Kong, X. (2019). Comparative genomics of *Fusarium oxysporum* and its host-specific forms reveals potential virulence factors and insights into the interaction with host plants. *BMC Genomics*, 20, 647. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6022-3>.

10. Anexo

Anexo 1. Información y fuente de los genomas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Nombre	Información	Fuente
Raza 1	Genome assembly Foc1_1.0	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_000350345.1/
Raza 1	Genome assembly NRCB_FocR1_VC G01	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_016802225.1/
Raza 1	Genome assembly NRCB_FocR1_VCG0125	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_016802195.1/
Raza 1	Genome assembly NRCB_FocR1_VC G01	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_011316005.3/
Raza 4	Genome assembly ASM2792044v1 Strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_027920445.1/
Raza 4	Genome assembly ASM799451v1 Strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_007994515.1/
Raza 4	Genome assembly CIAT_Fusoxy_1.0	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_021237285.1/
Raza 4 <i>Fusarium odoratissimum</i> NRRL 54006	Genome assembly FO_II5_V1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000260195.1/
Raza 4 <i>Fusarium odoratissimum</i>	Genome assembly AGROSAVIA_FocTR4_2.0	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_026745425.1/
Raza 4 <i>Fusarium odoratissimum</i>	Genome assembly AGROSAVIA_FocTR4_1.0	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_026745415.1/
Raza 4 <i>Fusarium odoratissimum</i>	Genome assembly Foc4_1.0	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_000350365.1/
Raza 4	Genome assembly C1HIR_9889	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_001696625.1/
Desconocido	Genome assembly ASM2521684v1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_025216845.1/
Desconocido	Genome assembly ASM2521690v1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_025216905.1/
Desconocido	Genome assembly Foc_UH	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_034509825.1/
Desconocido	Genome assembly ASM2521693v1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_025216935.1/

Desconocido	Genome assembly ASM2521686v1 Strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_025216865.1/
Desconocido	Genome assembly ASM2521698v1 Strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_025216985.1/
Desconocido	Genome assembly ASM593051v1 Strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_005930515.1/
Desconocido	Genome assembly NRCB_FocR1_VCG01213_16	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_014282265.3/
Desconocido	Genome assembly NRCB_FocSTR4_VC	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_016802205.1/
Desconocido <i>Fusarium odoratissimum</i>	Genome assembly ASM4082226v1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_040822265.1/
Desconocido <i>Fusarium odoratissimum</i>	Genome assembly ASM4082229v1 Strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_040822295.1/
Desconocido <i>Fusarium odoratissimum</i>	Genome assembly ASM4082218v1 Strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_040822185.1/

Anexo 2. Información y fuente de los genomas de *Musa* spp.

Nombre	Información	Fuente
<i>Musa acuminata</i> AAA Group	<i>Cavendish_Baxijiao</i> _AAA NCBI RefSeq assembly, GCF_036884655.1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/214697/
<i>Musa acuminata</i> AAA Group	Gross Michel AAA Genome assembly ASM3287866v1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_032878665.1/
<i>Musa balbisiana</i> (Balbis banana)	GCA_004837865.1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_004837865.1/
<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>Malaccensis</i>	Ensamblaje: GCA_904845865.1	https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/view/GCA_904845865.1