



EL MICROBIOMA DE LA PLANTA Y SU IMPACTO SOBRE EL METABOLOMA DE HOJAS, FRUTAS Y SEMILLAS FERMENTADAS

Presentado por:

Laura Isabella Vergara López

Código: 202300545-7182

Director:

David Johnston-Monje

Directora:

Lizbeth Lorena López Parra

Universidad del Valle

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas

Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Programa de Maestría en Biotecnología

Cali

Julio 2026

Contenido

1.	RESUMEN	4
2.	ABSTRACT	4
3.	INTRODUCCIÓN	5
4.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
5.	DESCRIPCIÓN DE LOS ALCANCES	8
6.	OBJETIVOS.....	8
6.1.	Objetivo general	8
6.2.	Objetivos específicos.....	8
7.	MARCO TEÓRICO	8
7.1.	Microorganismos asociados a las plantas	8
7.2.	Terruño microbiano	10
7.3.	Estudiando el impacto de variación en microbiomas sobre los metabolitos en frutas de tomate, hojas de albaca y semillas de café.....	11
7.4	Teoría del holobionte vegetal	13
7.5	Ecología del ensamblaje microbiano	13
7.6	Bases bioquímicas de la modulación metabólica.....	14
7.7	Metabolómica.....	15
7.8	Herramientas biotecnológicas para el estudio integrado de microbiomas y metabolomas.....	15
8.	METODOLOGÍA	16
8.1.	Cultivo de plantas y fermentación de semillas	17
8.2.	Procesamiento de las muestras	18
8.2.1.	Extracción de ADN y metagenómica	18
8.2.2.	Análisis metabolómicos	20
8.2.3.	Integración de datos metagenómicos y metabolómicos mediante análisis de correlación	21
9.	RESULTADOS.....	22
9.1.	Albahaca	22
9.1.1.	Composición y variación de comunidades microbianas en raíz y rizósfera de albahaca según tratamiento del suelo.....	22
9.1.2.	Perfil metabolómico de hojas de albahaca.....	30
9.1.3.	Correlaciones entre comunidades microbianas y metabolitos.....	33
9.2.	Tomate.....	40

9.2.1.	Composición y variación de comunidades microbianas en raíz y rizósfera de tomate según tratamiento del suelo.....	40
9.2.2.	Perfil metabolómico de frutos de tomate.....	48
9.2.3.	Correlaciones	50
9.3.	Café	54
9.3.1.	Composición microbiana en fermentaciones de café	54
9.3.2.	Perfil metabolómico de semillas fermentadas de café	61
9.3.3.	Correlaciones	65
10.	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	71
10.1	Albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>).....	71
10.1.1	Cambios inducidos por inoculación en los microorganismos de rizosferas y raíces	71
10.1.2	Cambios en el metaboloma foliar de albahaca inducidos por la inoculación con microorganismos de diferentes suelos	73
10.1.3	Asociaciones entre comunidades microbianas y perfiles metabolómicos	75
10.2	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	76
10.2.1	Cambios inducidos por inoculación en los microorganismos de rizosferas y raíces	76
10.2.2	Cambios en el metaboloma de frutos de tomates inducidos por la inoculación con microorganismos de diferentes suelos	79
10.3.3	Asociaciones entre comunidades microbianas y perfiles metabolómicos	80
10.3	Café (<i>Coffea arabica</i>).....	81
10.3.1	Cambios inducidos por inoculación en los microorganismos durante la fermentación	81
10.3.2	Modulación del metaboloma inducida por comunidades microbianas.....	83
10.3.3	Correlaciones microbioma–metaboloma en la fermentación de café	84
11	CONCLUSIONES	85
12	REFERENCIAS.....	86
13.	ANEXOS.....	97

EL MICROBIOMA DE LA PLANTA Y SU IMPACTO SOBRE EL METABOLOMA DE HOJAS, FRUTAS Y SEMILLAS FERMENTADAS

1. RESUMEN

La acumulación de metabolitos primarios y secundarios determina en gran medida la calidad química, nutricional y sensorial de los productos agrícolas. Además de los factores genéticos y ambientales, las interacciones con el microbioma vegetal pueden modular estos perfiles químicos, lo que da lugar al concepto de terruño microbiano. Sin embargo, la evidencia experimental que respalde este concepto fuera del sistema vitivinícola sigue siendo limitada. Este estudio evaluó la existencia de asociaciones entre la composición del microbioma presente en raíces, rizosferas y fermentaciones de semilla y los perfiles metabolómicos de frutos de tomate (*Solanum lycopersicum*), hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*) y semillas fermentadas de café (*Coffea arabica*). Se realizaron experimentos controlados en los que microbioma derivados de suelos agrícolas contrastantes fueron inoculados en plantas cultivadas en condiciones estériles y en sistemas de fermentación de café, y se compararon con controles sin inoculación. La caracterización microbiana se realizó mediante secuenciación de las regiones 16S rRNA de bacterias e ITS de hongos, y se comparó con el metaboloma analizado mediante LC-MS no dirigida. Los datos se integraron mediante análisis multivariados de PCoA, agrupamiento jerárquico aglomerativo, plots de volcán, Variable Importance in Projection (VIP) derivados de los modelos supervisados PLS-DA, mapas de calor de correlación agrupados, mapas de calor construidos a partir de abundancias relativas, redes de correlación y tanglegramas. Los microorganismos inoculados provocaron cambios significativos en la estructura comunitaria en los tres sistemas. En el café no se observó un acoplamiento entre el microbioma de fermentación y el metaboloma de las semillas, probablemente porque el lavado con agua elimina los compuestos bioquímicos de la superficie. En albahaca, tres de los cuatro suelos modificaron el microbioma de la rizosfera tras la inoculación, lo que se reflejó en cambios en el metaboloma foliar. En tomate cultivado en arena estéril, tres de los cuatro suelos modificaron el microbioma de las raíces tras la inoculación, lo que se tradujo en cambios significativos en algunos metabolitos de los frutos. Las asociaciones específicas entre bacterias, hongos y metabolitos se exploraron con mayor detalle en la sección de resultados. Experimentos futuros deberían tratar de aislar algunas de las cepas identificadas por secuenciación y repetir experimentos de inoculación con ellas, para validar su rol en la modulación del metaboloma de las plantas. Se observó que los cambios en el microbioma de la fermentación de café bajo condiciones de laboratorio no influyen en su bioquímica, pero, a nivel industrial, la fermentación, el lavado y el secado de las semillas se llevan a cabo en fincas con mucho menos control y variabilidad.

Palabras clave: microbioma vegetal, metabolómica, terruño microbiano, diversidad microbiana, tomate, café, albahaca.

2. ABSTRACT

The accumulation of primary and secondary metabolites largely determines the chemical, nutritional, and sensory quality of agricultural products. In addition to genetic and environmental factors, interactions with the plant microbiome can modulate these chemical profiles, giving rise to the concept of microbial terroir. However, experimental evidence supporting this concept outside the wine industry remains limited. This study assessed associations between microbiome composition in roots, rhizospheres, and seed fermentations and the metabolomic profiles of tomato fruits (*Solanum lycopersicum*), basil leaves (*Ocimum basilicum*), and fermented coffee seeds (*Coffea arabica*). Controlled experiments were conducted in which microorganisms derived from contrasting

agricultural soils were inoculated into plants grown under sterile conditions and into coffee fermentation systems, and the inoculated plants were compared with uninoculated controls. Microbial characterization was performed by sequencing the 16S rRNA regions of bacteria and the ITS regions of fungi, and the data were compared with the metabolomic data obtained by untargeted LC-MS. Data were integrated using multivariate PCoA analyses, hierarchical agglomerative clustering, volcano plots, Variable Importance in Projection (VIP) derived from supervised PLS-DA models, clustered correlation heatmaps, heatmaps constructed from relative abundances, correlation networks, and tanglegrams. The inoculated microbiome caused significant changes in community structure in all three systems. In coffee, no coupling was observed between the fermentation microbiome and the seed metabolome, likely because water washing removes surface-associated biochemicals. In basil, three of the four soils modified the rhizosphere microbiome after inoculation, which was reflected in changes in the foliar metabolome. In tomatoes grown in sterile sand, three of the four soils modified the root microbiome after inoculation, resulting in significant changes in some fruit metabolites. The specific associations between bacteria, fungi, and metabolites were explored in greater detail in the results section. Future experiments should attempt to isolate some of the strains identified by sequencing and repeat inoculation experiments with them to validate their role in modulating the plant metabolome. It was observed that changes in the coffee fermentation microorganism under laboratory conditions do not affect its biochemistry, but at an industrial level, fermentation, washing, and drying of the seeds occur on farms with much less control/variation.

Keywords: Pant microbiome, metabolomics, microbial terroir, microbial diversity, tomato, basil, coffee.

3. INTRODUCCIÓN

La calidad sensorial, nutricional y funcional de los productos agrícolas está determinada por la acumulación de compuestos químicos, incluidos metabolitos primarios y secundarios, como azúcares, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, terpenoides y compuestos volátiles. Estos metabolitos no solo definen atributos como el sabor, el aroma, el color y la textura, sino que también inciden en el valor comercial, la aceptabilidad por parte del consumidor y el impacto nutricional de los cultivos. Tradicionalmente, la variación en estos perfiles químicos se ha atribuido a factores genéticos, edáficos, ambientales y de manejo agronómico (Xu et al., 2022; Matus, 2016). Sin embargo, avances recientes han puesto de relieve el papel del microbioma vegetal como modulador clave del metaboloma de las plantas.

Los microbiomas asociados a las plantas, incluyendo la rizosfera, la raíz, la endósfera y los compartimentos aéreos, como hojas y frutos, constituyen comunidades microbianas diversas que influyen en procesos clave como la nutrición vegetal, el desarrollo, la defensa frente a patógenos y la producción de metabolitos secundarios. La estructura y la función de estas comunidades están determinadas por múltiples factores, entre ellos el tipo de suelo, la presencia de agroquímicos, la biodiversidad edáfica y las prácticas agrícolas empleadas (Zhang et al., 2019). Como consecuencia, las variaciones en la composición microbiana de estos compartimentos pueden modificar el perfil del microbioma funcional de la planta, afectando las rutas metabólicas activadas y, en consecuencia, la acumulación de compuestos químicos en los tejidos vegetales. Esta interacción ha dado origen al concepto emergente de “terruño microbiano”, que plantea que las características químicas, sensoriales y funcionales de los productos agrícolas pueden estar determinadas, al menos en parte, por la identidad y la dinámica del microbioma presente durante el crecimiento o el procesamiento de la planta.

Este concepto ha sido validado principalmente en la industria del vino, donde se ha demostrado que la composición microbiana de la uva y del suelo puede inducir cambios en los perfiles sensoriales

del producto final mediante la producción diferencial de compuestos aromáticos y ácidos orgánicos (Gilbert et al., 2014; Bokulich et al., 2016). De forma análoga, estudios recientes sobre la fermentación del café han demostrado que levaduras y bacterias específicas pueden generar perfiles metabólicos deseables o indeseables, dependiendo de su composición y de su abundancia relativa (da Silva Vale et al., 2021; Elhalis et al., 2020). Sin embargo, más allá del vino y el café, aún se desconoce el alcance de este fenómeno en otros sistemas vegetales y en productos derivados de hojas o de frutos. En una revisión de la literatura reciente se resaltó precisamente esta laguna del conocimiento y se identificó la necesidad urgente de evaluar si estas correlaciones microbioma-metaboloma también se manifiestan en cultivos como el tomate y la albahaca, donde la acumulación de compuestos fenólicos, carotenoides o aceites esenciales define gran parte del valor del producto. (Johnston-Monje et al., 2023). La posibilidad de que microbiomas diferenciados modulen el metaboloma en estos modelos representa una oportunidad estratégica para desarrollar herramientas biotecnológicas sostenibles y personalizadas, orientadas a mejorar la calidad química y funcional de los productos agrícolas.

La presente investigación evaluó experimentalmente el impacto de microbiomas derivados de suelos agrícolas contrastantes, incluidos suelos donde los cultivos son prósperos y sanos y suelos con presencia de enfermedades que afectan negativamente el rendimiento, sobre el perfil metabolómico de hojas de albahaca, frutos de tomate y semillas de café sometidos a fermentación húmeda. Para ello, se emplean modelos experimentales en condiciones controladas, en los que se inoculan dichos microorganismos en sistemas estériles de cultivo o de fermentación, y se comparan con controles sin inoculación. Este diseño experimental permite aislar el efecto del microbioma como variable independiente, lo que garantiza una evaluación directa de su influencia sobre la composición química del producto final.

Mediante el uso combinado de técnicas metagenómicas para caracterizar las comunidades microbianas presentes en raíces, rizosferas y líquidos de fermentación, junto con análisis metabolómicos no dirigidos en tejidos vegetales cosechados, este estudio evaluó si existían asociaciones estadísticamente significativas entre la composición microbiana del suelo y los perfiles químicos de hojas de albahaca, frutos de tomate y semillas de café fermentadas. El objetivo es identificar patrones de coocurrencia entre taxones microbianos y metabolitos diferenciados, en comparación con controles sin exposición al microbioma del suelo. Estos hallazgos podrían aportar evidencia preliminar sobre el posible papel modulador del microbioma edáfico en la composición química de cultivos y productos vegetales, con implicaciones para el desarrollo de estrategias biotecnológicas orientadas a la mejora sostenible de la calidad agrícola.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La industria agrícola es uno de los pilares fundamentales para garantizar la seguridad alimentaria mundial, al proporcionar productos esenciales para la nutrición humana y el desarrollo económico de numerosas regiones. Más allá de su capacidad productiva, la calidad de los productos agrícolas es un factor clave para su aceptación comercial y para su valor nutricional, funcional y sensorial. Esta calidad depende, en gran medida, de la composición química de hojas, frutos y semillas, determinada por rutas metabólicas complejas que se activan durante el crecimiento y el procesamiento de las plantas. Estas rutas están influidas por múltiples factores, entre los que destacan las condiciones genéticas y ambientales y, cada vez con mayor reconocimiento, las interacciones con los microorganismos que conforman el microbioma vegetal. Aunque se ha documentado que estas comunidades microbianas desempeñan funciones críticas en la adquisición de nutrientes, la defensa frente a patógenos y la adaptación al estrés abiótico, su influencia directa sobre el perfil

metabolómico de los productos vegetales aún no ha sido plenamente caracterizada, especialmente en cultivos distintos de la vid (Habib et al. 2025). Este tipo de relaciones permanece inexplorado o ha sido abordado de forma limitada en cultivos de relevancia agroindustrial, como el tomate, la albahaca y el café, los cuales representan modelos ideales para extender este enfoque debido a su diversidad fisiológica, valor comercial y la variedad de órganos vegetales involucrados en su aprovechamiento.

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una planta modelo ampliamente utilizada en estudios de biología vegetal, genética y fisiología, y además es un cultivo de alta demanda a nivel global (Liu et al. 2022). La albahaca (*Ocimum basilicum*), por su parte, es valorada tanto por sus propiedades medicinales como por su uso en la industria alimentaria, debido a sus aceites esenciales ricos en fenilpropanos, monoterpenos y sesquiterpenos, que contribuyen a su aroma característico y a su aplicación en gastronomía, perfumería y fitoterapia (Romano et al. 2022). Por otro lado, el café (*Coffea arabica*) es un cultivo de alto valor económico y simbólico para regiones como América Latina, cuya calidad final depende en gran medida de la fermentación controlada de sus semillas. Durante este proceso se generan compuestos clave, como la cafeína, ácidos orgánicos, ésteres, aldehídos, cetonas y compuestos fenólicos, que conforman el perfil sensorial del producto (Pastelin-Solano et al. 2026).

La elección de estos tres sistemas vegetales permite abordar la influencia del microbioma sobre el metaboloma desde una perspectiva amplia, incluyendo diferentes órganos vegetales (fruto, hoja y semilla), distintos tipos de interacciones planta-microorganismo (raíces, rizosfera y fermentación) y su alta relevancia en las cadenas agroindustriales. Su estudio ofrece una oportunidad estratégica para validar el concepto de terruño microbiano en nuevos modelos agrícolas, con aplicaciones potenciales para mejorar la calidad sensorial, funcional y comercial de los productos vegetales. En este contexto, es importante desarrollar experimentos controlados que permitan comparar microbiomas derivados de suelos contrastantes, denominados saludables vs. degradados, e inocularlos en modelos vegetales como el tomate, la albahaca y el café. El objetivo es evaluar si tales microbiomas modifican la estructura de las comunidades microbianas en raíces y en fermentaciones, y si ello genera efectos diferenciables en los perfiles metabolómicos de hojas, frutos y semillas. Para ello, se requiere un enfoque integral basado en técnicas de secuenciación masiva (16S, ITS) y en análisis metabolómicos no dirigidos mediante LC-MS, complementado con análisis estadísticos robustos de correlación entre los microorganismos y el metaboloma (Dini et al. 2025).

En general, se considera que actualmente existe abundante evidencia sobre el terruño microbiano en uva y vino (Franco et al. 2024); sin embargo, la información disponible sobre tomate, albahaca y café es escasa y fragmentada. Esta carencia de información limita la formulación de bioinoculantes o bioestimulantes personalizados cuyo objetivo no sea únicamente mejorar el rendimiento, sino también optimizar la calidad química, sensorial y funcional de los productos vegetales. Superar esta limitación podría impulsar el avance hacia una agricultura de precisión microbiana, con aplicaciones en la trazabilidad del origen del cultivo, el diseño de estrategias de diferenciación de productos y la innovación agroalimentaria.

Desde una perspectiva biotecnológica, comprender las posibles asociaciones entre los microbiomas del suelo y el perfil metabolómico de los cultivos de interés podría abrir nuevas rutas hacia una agricultura más precisa, sostenible y orientada a la calidad del producto. La identificación de microbiomas asociados a perfiles químicos diferenciados permitiría fundamentar el diseño de bioinsumos microbianos con efectos potenciales no solo sobre el rendimiento, sino también sobre la calidad nutricional, funcional y sensorial de hojas, frutos y productos fermentados. Además, este enfoque se alinea con varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) establecidos por la ONU: el ODS 2 (Hambre cero), al fomentar una producción más saludable y resiliente; el ODS 12 (Producción y consumo responsables), al proponer métodos que optimizan la calidad sin comprometer los

ecosistemas; el ODS 3 (Salud y bienestar), al elevar la calidad nutricional; y el ODS 15 (Vida de ecosistemas terrestres), al promover suelos biodiversos y funcionales. Así, esta investigación no solo responde a una necesidad científica urgente, sino que también se inscribe en un compromiso global con la sostenibilidad agroalimentaria.

5. DESCRIPCIÓN DE LOS ALCANCES

La presente propuesta evalúa la relación entre la composición del microbioma y los perfiles metabolómicos en hojas de albahaca, frutos de tomate y semillas de café fermentadas. Se utilizaron microbiomas de suelos agrícolas contrastantes, inoculados en sistemas controlados y comparados con controles sin inoculación, para identificar asociaciones entre microorganismos y metabolitos específicos.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar la existencia de correlaciones significativas entre la diversidad taxonómica de las comunidades microbianas y los perfiles metabolómicos de frutos de tomate, hojas de albahaca y semillas de café, fermentados mediante la inoculación de microbiomas diferenciados.

6.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar la diversidad taxonómica de las comunidades bacterianas y fúngicas asociadas a las raíces y rizosferas de tomate y albahaca, así como a los procesos de fermentación de semillas de café, mediante la secuenciación de las regiones 16S rRNA e ITS.
2. Analizar los perfiles metabolómicos presentes en frutos de tomate, hojas de albahaca y semillas de café fermentadas, mediante espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (LC-MS) en fase reversa.
3. Determinar asociaciones estadísticas entre la composición de las comunidades microbianas y los perfiles metabolómicos, e identificar microorganismos potencialmente relacionados con la acumulación diferencial de metabolitos de interés en los sistemas estudiados.

7. MARCO TEÓRICO

7.1. Microorganismos asociados a las plantas

Los microorganismos, como bacterias y hongos, son los seres vivos más abundantes en la Tierra (Larsen et al., 2017). A menudo se asocian con riesgos, como intoxicación alimentaria, resistencia microbiana y enfermedades infecciosas (Odo et al., 2021; C. Wang & Li, 2015), pero también contribuyen de manera decisiva a la salud y el medio ambiente (Ma, 2019; Marco, 2021). Los avances en secuenciación de siguiente generación (NGS) han revolucionado la comprensión de la

ecología microbiana (Gilbert et al., 2014; Pasolli et al., 2019), y a través de estudios metagenómicos ha surgido el concepto de microbioma para describir el conjunto de genes de una comunidad microbiana en un entorno específico (Neu et al., 2021).

El microbioma del suelo es fundamental para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres debido a su inmensa diversidad, con miles de especies presentes en un solo gramo de suelo, lo que lo convierte en el hábitat microbiano más diverso del planeta (Delgado-Baquerizo et al., 2018; Fierer, 2017). Las comunidades microbianas del suelo están moldeadas por factores como las condiciones físicas y químicas del suelo, la materia orgánica, los nutrientes y las interacciones con las raíces de las plantas (Figura 1). Los microorganismos de la rizosfera pueden influir en el crecimiento y la salud de las plantas de varias maneras (Bhattacharyya & Jha, 2012). Algunos microorganismos en la rizosfera son beneficiosos para las plantas, ya que desempeñan funciones clave en la descomposición de la materia orgánica, la ciclación de nutrientes, la fijación de nitrógeno, la producción y degradación de compuestos bioactivos, el estímulo del crecimiento de las plantas y la regulación de las enfermedades (Wang et al., 2022). Por ejemplo, microorganismos como *Trichoderma virens* Gv28-9 aumentan la producción de raíces y biomasa, *Azotobacter chroococcum* RK49 incrementa la disponibilidad de nitrógeno para la planta, *Streptomyces pactum* Act12 confiere resistencia al estrés por sequía y *Flavobacterium* TRM1 otorga resistencia a enfermedades causadas por *Ralstonia solanacearum* (Johnston-Monje, Arévalo, et al., 2021). Por otro lado, la presencia de microorganismos patógenos puede ser perjudicial, ya que pueden causar enfermedades en las plantas al infectar las raíces o los tejidos adyacentes (El-Sharkawy & Abdelrazik, 2022).

Los endófitos pueden tener interacciones complejas con las plantas y desempeñar un papel crucial en su salud, crecimiento y adaptación al entorno (Hardoim et al., 2008). Es importante destacar que el microbioma de las plantas no se limita a los endófitos. También incluye los microorganismos que colonizan las raíces y otros compartimentos asociados a las plantas, como las hojas y los tallos (Trivedi et al., 2020). Estos microorganismos pueden tener interacciones complejas con las plantas; pueden ser simbióticas, mutualistas o patogénicas (Escobar-Rodríguez et al., 2021). Los microorganismos del suelo utilizan una variedad de mecanismos para colonizar las raíces de las plantas, como la quimiotaxis, la formación de biopelículas y la comunicación química (J. Li et al., 2023). Una vez colonizadas, estos microorganismos cambian la composición y diversidad del microbioma de las plantas y pueden beneficiar a las plantas de varias formas (Figura 1) como sintetizar hormonas vegetales, aumentar o cambiar la producción de metabolitos y mejorar la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Berg & Smalla, 2009; Bulgarelli et al., 2012). Los mecanismos que emplean los microorganismos para inducir estos cambios incluyen la modulación de la expresión genética mediante moléculas de señalización y la interacción con la disponibilidad de nutrientes, ya que muchos metabolitos secundarios se sintetizan a partir de nutrientes presentes en el suelo (Bulgarelli et al., 2013).

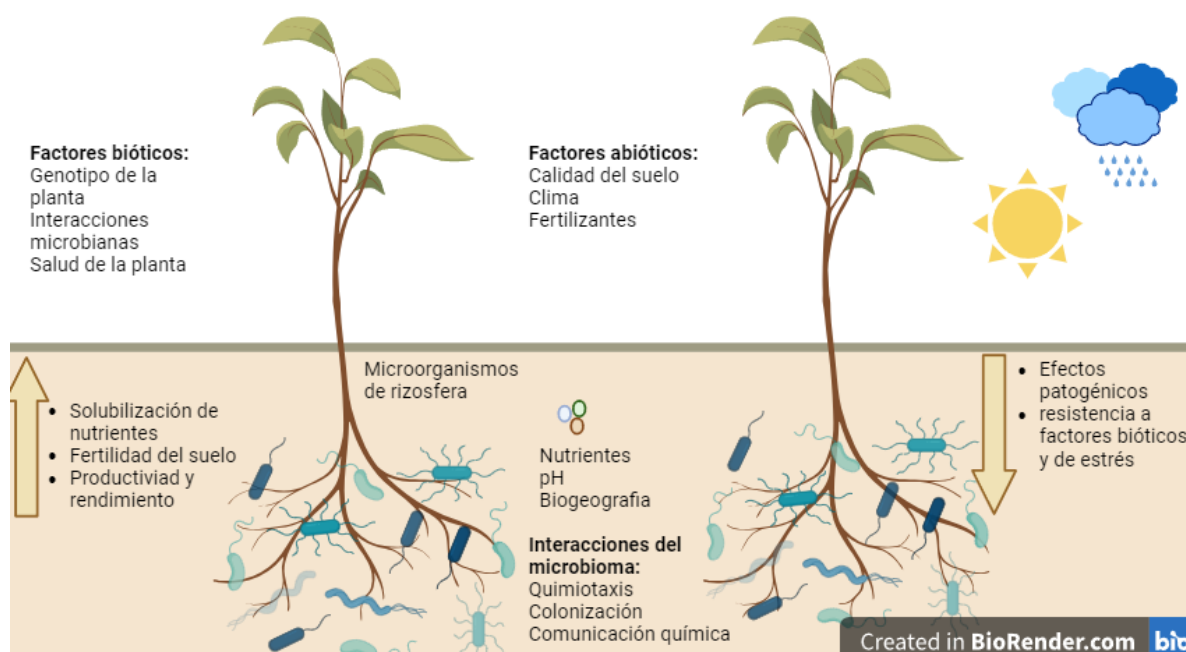


Figura 1. Asociaciones en la rizosfera entre las raíces de las plantas y los microorganismos de las raíces bajo influencias bióticas y abióticas. Elaboración propia en Biorender.

7.2. Terruño microbiano

Los perfiles bioquímicos de los productos agrícolas reflejan los fenotipos metabólicos de las plantas, desarrollados durante su crecimiento y procesamiento (Ferne & Schauer, 2009). Para comprender y potencialmente mejorar estos perfiles, es crucial investigar los factores subyacentes y los mecanismos implicados. Uno de estos factores importantes es el suelo, conocido como "terruño", en el que crecen las plantas. Características como la textura del suelo, el contenido de materia orgánica, el pH, el intercambio catiónico, la disponibilidad de nutrientes, el drenaje y la aireación son de importancia agronómica (Karlen et al., 1997). El microbioma del suelo, que puede variar según la ubicación geográfica, el tipo de cultivo y las prácticas agrícolas, es un componente esencial. Se ha demostrado que las variaciones en el microbioma del suelo pueden influir en la composición de los metabolitos producidos por las plantas, especialmente en cultivos como el de la uva (Figura 2). Por ejemplo, una disminución de la diversidad de bacterias ácido-lácticas en el suelo puede afectar negativamente la producción de ácido láctico, lo que influye en la calidad del vino en términos de suavidad y equilibrio de la acidez (Liu et al., 2019). De manera similar, la disminución de la diversidad de levaduras como *Pichia*, *Hanseniaspora* y *Candida*, puede llevar a una menor producción de compuestos aromáticos y una pérdida de complejidad en el vino, ya que estas levaduras contribuyen a los perfiles aromáticos y de palatabilidad mediante la producción de metabolitos secundarios como terpenos, ésteres y aldehídos (Morata et al., 2019).

El microbioma de las uvas está constituido por diversas fuentes, como endófitos del genotipo de la uva, microorganismos del suelo que colonizan la planta, la actividad humana o los insectos polinizadores. Estas frutas se llevan a bodegas para fermentar, y los cambios microbiológicos en la uva generan modificaciones químicas en el metaboloma durante la producción de vino.

(Zarraonaindia et al., 2015). En diferentes viñedos de Napa Valley, California, se reportó una relación entre los microorganismos presentes en el mosto de uva y la producción de compuestos químicos. La familia de bacterias ácido lácticas *Leuconostocaceae* se relaciona con la producción de metilbenzoato, acetato de fenilo o p-anisealdehído y la especie *Pichia guilliermondii* con producción de éster o lactona (Bokulich et al., 2016). Además, se ha demostrado que la distancia geográfica entre cultivos de la misma variedad de uva y procedentes de las mismas bodegas de fermentación difiere entre bacterias y, mucho más, entre hongos, lo que indica que la biogeografía de las comunidades microbianas asociadas a la uva podría contribuir a la identidad local del vino (Miura et al., 2017). Aunque existen muchos estudios en vinos y uvas, el concepto de terruño microbiano está aún poco estudiado en otras plantas por lo que es importante ampliar esta investigación a otras especies de planta y otros productos agrícolas derivados de hojas, flores, frutos y semillas para comprender el papel de los microorganismos en la producción de compuestos relacionados a la calidad de un producto agrícola.

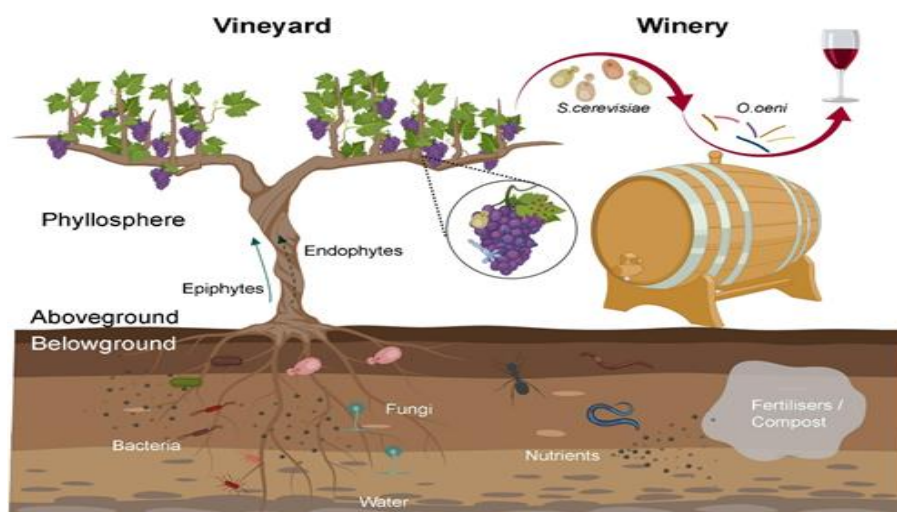


Figura 2. Esquema representativo sobre terruño microbiano representando cómo el microbioma del suelo interactúa con las raíces y coloniza las plantas (tomado de (Liu et al., 2019)).

7.3. Estudiando el impacto de variación en microbiomas sobre los metabolitos en frutas de tomate, hojas de albacá y semillas de café

El estudio del tomate es fundamental por su importancia como uno de los cultivos hortícolas más destacados en términos de producción y valor económico a nivel mundial (FAOSTAT, 2019). Además, el tomate es un ingrediente versátil en la cocina y la gastronomía, utilizado en una amplia variedad de preparaciones culinarias en todo el mundo (Y. Li et al., 2018). También se considera una planta modelo para el estudio de las frutas (Quinet et al., 2019). La importancia nutricional del tomate se debe a sus diversos compuestos, que promueven la salud y mejoran atributos sensoriales como el aroma, el sabor y la textura. Estos compuestos incluyen vitaminas, carotenoides y compuestos fenólicos (Martí et al., 2016). Se ha propuesto que la acumulación de estos compuestos en el tomate está relacionada con el microbioma de la planta. Se han identificado géneros bacterianos como

Hymenobacter, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Sphingomonas*, *Massilia* y *Methylobacterium* que se correlacionan con la producción de compuestos específicos, y la presencia de *Bacillus* rASV_135 se relaciona con la abundancia de fructosa, glucosa y compuestos aromáticos importantes (Escobar-Rodríguez et al., 2021). Además, se ha descubierto que la asociación con micorrizas aumenta la absorción de nutrientes, como el nitrógeno, lo que, a su vez, incrementa la síntesis de compuestos fenólicos y carotenoides (Bowles et al., 2016; Verzeaux et al., 2017). La presencia de *Priestia megaterium* en el suelo del cultivo puede aumentar el contenido de licopeno y de carotenoides totales (Katsenios et al., 2021). Incluso algunos biofertilizantes producidos a partir de microorganismos, como *Trichoderma harzianum* cepa T22, han demostrado mejorar el rendimiento del cultivo y el contenido de licopeno, un antioxidante (Carrau et al., 2020).

La albahaca por su parte presenta un amplio uso culinario, y propiedades medicinales (Filip, 2017) (Beltrán-Noboa et al., 2022). Al analizar nueve especies de albahaca, se observó que los principales compuestos presentes en todas ellas pertenecen a los grupos de terpenos, fenilpropanoides, flavonoides y ácidos orgánicos (Du et al., 2023). Además, a partir de hojas de albahaca se extraen aceites esenciales para aromatizar alimentos, como salsas, aderezos y platos de pasta, y también se emplean en productos cosméticos y perfumes por sus propiedades aromáticas y revitalizantes (Tangpao et al., 2018). En cuanto a la variación de los metabolitos producidos en hojas de albahaca, se ha documentado que la inoculación con micorrizas arbusculares aumenta la producción de compuestos fenólicos y de aceites esenciales en estas hojas (Soumare et al., 2021). Por tal motivo, existen algunos estudios que reportan la aplicación de bioestimulantes a base de hongos micorrizas arbusculares (AMF) y *Trichoderma koningii* en suelos salinos, lo que condujo a la acumulación de polifenoles, especialmente de ácidos ferúlico y achicórico y de quercetina-rutinósido, en albahaca (Saia et al., 2021). Por otra parte, el uso de bioformulaciones que contienen cepas de *Trichoderma afroharzianum* T22, *Azotobacter chroococcum* 76A y 6-pentil- α -pirona modula el cultivo de albahaca, provocando un aumento del contenido de ácido rosmarínico y mejorando el rendimiento y la calidad de las hojas (Comite et al., 2021).

El café es uno de los cultivos de exportación más importantes de Colombia y se conoce por su compleja composición química y por los compuestos bioactivos que influyen en su sabor y aroma. La fermentación de las semillas de café es un proceso fundamental que influye directamente en la calidad y el perfil de sabor de la bebida. Los métodos de fermentación, como el seco (Velásquez & Banchón, 2022) y el húmedo (Girma & Sualeh, 2022), inclusive métodos que utilizan el intestino de pájaros como *Kopi Luwak* (Marcone, 2004) y del pájaro jacu brasileño (Raveendran & Murthy, 2022) permiten el desarrollo de diferentes microorganismos, lo que conlleva perfiles metabólicos únicos. En el contexto colombiano, la fermentación húmeda del café ha sido objeto de estudio, lo que ha revelado una diversidad microbiana que incluye bacterias predominantes como *Leuconostoc* y *Lactobacillus*, así como la levadura *Pichia nakasei*. Durante este proceso se producen metabolitos específicos, como el ácido láctico y el acetaldehído, junto con una amplia gama de compuestos volátiles, ácidos orgánicos, alcoholes y otros componentes que influyen en el sabor y el aroma del café. Además, se reportaron 56 géneros microbianos detectados por primera vez durante la fermentación del café, asociados con el suelo nativo, el agua de mar, las plantas, los insectos y el contacto humano. Estos resultados denotan una alta diversidad microbiana, la cual puede impartir sabores que brinden pistas sobre el terruño de los cafés colombiano (de Oliveira Junqueira et al., 2019).

La investigación en el ámbito del café ha demostrado que la inoculación controlada de cepas específicas de levaduras y bacterias puede tener un impacto significativo en el proceso de fermentación del café (Haile & Kang, 2019). Este enfoque puede acelerar la fermentación, reducir la concentración final de ácido y aumentar la producción de aromas deseables, al tiempo que disminuye la producción de sabores no deseados, lo que sugiere la posibilidad de diseñar de manera más

controlada el perfil de sabor del café en función de los microorganismos seleccionados (Chagas Junior et al., 2021; Elhalis et al., 2021; Pregolini et al., 2021). Si se realizan más trabajos sobre la optimización de los microorganismos presentes en la fermentación de semillas de café, se permitirá “diseñar” o “construir” racionalmente el terruño para el café.

7.4 Teoría del holobionte vegetal

La teoría del holobionte vegetal propone que la planta y su microbioma asociado conforman una unidad ecológica y funcional, en la que ambos componentes interactúan de manera continua para influir en el crecimiento, la defensa y la adaptación al ambiente. En este escenario, el fenotipo vegetal no puede interpretarse únicamente a partir del genoma de la planta, sino que debe entenderse como el resultado de la interacción entre el hospedero y las comunidades microbianas que colonizan la rizósfera, la endósfera, la filosfera y otros compartimentos asociados. Grzyb y Szulc (2024) reportan que las plantas han coevolucionado con los microorganismos circundantes y que esta asociación constituye un ensamblaje discreto con ventajas adaptativas para el holobionte. Considerando este tipo de relaciones, se ha propuesto un concepto denominado fitomicrobionma, fundamental para el crecimiento y la función de la planta. Los microorganismos desempeñan un papel importante en la adquisición de nutrientes, la gestión del estrés biótico y abiótico, la regulación fisiológica mediante señales entre microorganismos y plantas, y la regulación del crecimiento a través de la producción de fitohormonas (Lyu et al. 2021).

En una investigación publicada por Spooren et al. 2024, se evidencia que la coevolución planta-microorganismo se expresa en procesos de selección recíproca, en los que la planta actúa como filtro biológico mediante exudados radiculares, inmunidad y rasgos genéticos que favorecen determinados taxones. A su vez, los microorganismos contribuyen al fitofenotipo mediante la solubilización de nutrientes, la protección frente a patógenos y la modulación hormonal. En este sentido, el microbioma no solo acompaña a la planta, sino que también puede modificar su desempeño ecológico y fisiológico. A lo largo de su vida, la planta puede reclutar microorganismos beneficiosos en respuesta a un ataque patogénico, generando legados ecológicos que protegen a generaciones posteriores.

Desde esta perspectiva, el fenotipo microbiano también cobra relevancia, ya que la expresión funcional de las comunidades asociadas depende del contexto del hospedero y del ambiente. Así, el conjunto planta-microbioma debe entenderse como una entidad dinámica, en la que la estructura comunitaria y la función biológica se codeterminan. Este enfoque resulta especialmente útil para explicar respuestas de resiliencia, productividad y calidad metabólica en sistemas agrícolas complejos (Duret et al. 2024). A pesar de los avances en la investigación sobre el tema, persisten vacíos de conocimiento relacionados con la integración de los holobiontes vegetales en la perspectiva más amplia del holobioma. Por ello, es necesario considerar la interacción de los holobiontes a escala del holobioma, con el fin de predecir y controlar la función del microbioma y, así, mejorar la salud vegetal (Gabriele et al. 2024).

7.5 Ecología del ensamblaje microbiano

Las comunidades microbianas experimentan ocasionalmente cambios abruptos en la composición de especies, a pesar de su estabilidad intrínseca, lo que dificulta el mantenimiento de estados microbiómicos altamente funcionales. Por ello, El diseño estratégico y el control de los entornos de

ensamblaje consolidarán las bases prácticas fundamentales para el despliegue de las funciones del microbioma requeridas para diversos fines médicos, agrícolas e industriales (Toju et al. 2026).

El ensamblaje de comunidades microbianas en la planta responde a procesos ecológicos jerárquicos que incluyen la dispersión, el filtrado ambiental, la selección por el hospedero y las interacciones bióticas. Los microorganismos provienen del suelo, de las semillas, del aire y de los restos orgánicos, pero no todos logran establecerse en un nicho específico. La planta ejerce un filtrado selectivo mediante propiedades fisicoquímicas del microambiente y mecanismos inmunológicos, lo que favorece la persistencia de grupos microbianos compatibles con sus requerimientos fisiológicos. Chen et al. 2025, publicaron una investigación donde indican que la estratificación vertical de la comunidad bacteriana en pastizales áridos y semiáridos contribuye a la comprensión del proceso pedogenético bajo el cambio climático y las estrategias de adaptación microbiana en entornos de suelo heterogéneos.

El filtrado ambiental condiciona la disponibilidad y la supervivencia de los taxones según variables como el pH, la humedad, la temperatura, la textura del sustrato y los nutrientes. Sin embargo, la selección por hospedero introduce una capa adicional de control, pues las raíces y otros tejidos liberan compuestos que reclutan microorganismos específicos. Los exudados radiculares generan “puntos calientes” de actividad biológica y fomentan ensamblajes particulares en la rizósfera, fenómeno destacado por revisiones recientes sobre microbiomas supresivos y salud vegetal (Fadiji et al. 2025).

La diversidad funcional de estas comunidades es importante porque un microbioma diverso no solo incrementa la redundancia ecológica, sino también la capacidad de respuesta ante el estrés biótico o abiótico. Grzyb y Szulc (2024) reportaron que, en bacterias del holobionte vegetal, los procesos de ensamblaje se vinculan con la adquisición de nutrientes esenciales y con la presencia de nichos poco explorados, como semillas y flores, lo que amplía la comprensión ecológica del microbioma vegetal. En consecuencia, estudiar el ensamblaje microbiano permite comprender cómo se estructuran comunidades capaces de sustentar funciones metabólicas y adaptativas de alto valor agronómico.

7.6 Bases bioquímicas de la modulación metabólica

La modulación metabólica mediada por microorganismos se sustenta en mecanismos bioquímicos y moleculares que incluyen la producción de fitohormonas microbianas, la activación de rutas de señalización, la regulación transcripcional y la inducción de metabolitos secundarios. Diversos microorganismos son capaces de sintetizar auxinas, giberelinas, citoquininas y ácido abscísico, o de influir en sus niveles internos, alterando procesos como la elongación celular, la germinación, el desarrollo radicular y las respuestas al estrés. Estas interacciones químicas explican parte del efecto promotor de crecimiento asociado a bacterias y hongos benéficos (Olanrewaju et al. 2024).

La señalización molecular entre planta y microorganismo involucra compuestos como exopolisacáridos, volátiles, lipopeptidos, sideróforos y moléculas derivadas del metabolismo primario y secundario. Estas señales activan cascadas de transducción que reprograman la expresión génica tanto del hospedero como del propio microorganismo. En particular, Lv et al. 2024 indican que los microorganismos pueden modular niveles hormonales, absorción de nutrientes, provisión de precursores y expresión de enzimas y genes relacionados con metabolitos secundarios de la planta.

A nivel transcripcional, la activación de factores de transcripción y de redes regulatorias conduce a la acumulación diferencial de compuestos con funciones defensivas, antioxidantes o de interacción ecológica. Este fenómeno es especialmente importante bajo estrés o en interacción simbiótica, ya que la presencia microbiana puede inducir un metabolismo secundario específico que contribuye a la tolerancia y a la calidad bioquímica del tejido vegetal. En síntesis, la modulación metabólica constituye un mecanismo central de comunicación interreinos y una base fisiológica para la funcionalidad del holobionte (Shabbir et al. 2025).

7.7 Metabolómica

La metabolómica es el estudio global de los metabolitos presentes en un sistema biológico en un momento determinado y constituye una aproximación clave para interpretar el estado fisiológico y funcional de plantas y microorganismos. A diferencia de enfoques dirigidos a compuestos específicos, la metabolómica no dirigida busca capturar la mayor cantidad posible de señales químicas, lo que la convierte en una estrategia exploratoria útil para generar hipótesis biológicas. En el ámbito de productos naturales y sistemas vegetales, la LC-MS se ha consolidado como una de las plataformas más empleadas por su sensibilidad, cobertura amplia y reproducibilidad (Sarkar et al. 2025).

La metabolómica no dirigida basada en LC-MS permite detectar miles de características moleculares, aunque su interpretación exige procesos rigurosos de preprocesamiento, alineación, normalización, anotación y validación. Los estudios recientes destacan que esta metodología es valiosa para el análisis de biomarcadores, alimentos, agricultura y microbiología, pero también señalan desafíos asociados a la identificación inequívoca de metabolitos y a la estandarización del análisis de datos. Por ello, la calidad de la inferencia biológica depende de la integración de datos analíticos, bases de datos químicas y el contexto experimental (Broeckling et al. 2023).

La interpretación biológica de los perfiles metabolómicos requiere relacionar las señales detectadas con rutas metabólicas, respuestas al estrés y fenómenos de interacción planta-microorganismo. En este sentido, los perfiles no solo describen la composición química, sino también los estados funcionales del sistema. La evidencia reciente muestra que la metabolómica puede revelar el crosstalk químico entre plantas y microorganismos, especialmente en la rizosfera, donde los metabolitos participan en la colonización, la señalización y la resiliencia climática. Por tanto, la metabolómica aporta una dimensión funcional indispensable para comprender el holobionte vegetal (Katam et al. 2022).

7.8 Herramientas biotecnológicas para el estudio integrado de microbiomas y metabolomas

Recientemente, la llegada de las herramientas ómicas, las técnicas de edición genética y la tecnología de secuenciación ha permitido evaluar las complejas redes de interacciones planta-microorganismo, mejorando la aptitud de las plantas y su tolerancia a los desafíos bióticos y abióticos. La genómica es una herramienta eficaz para estudiar y predecir las interacciones entre microorganismos y plantas, así como para desarrollar tolerancia al estrés patógeno en las plantas (Afridi et al. 2022).

El estudio integrado de microbiomas y metabolomas se apoya en un conjunto de herramientas biotecnológicas que permiten caracterizar tanto la composición taxonómica como la funcionalidad química de los sistemas biológicos. Entre ellas destacan la secuenciación de amplicones de 16S rRNA e ITS, la metagenómica, la transcriptómica, la LC-MS no dirigida y los enfoques de bioinformática multiómica. Estas tecnologías facilitan la identificación de patrones de asociación entre microorganismos y metabolitos y permiten construir modelos explicativos sobre la función del holobionte (Lai et al. 2024).

La integración microbioma-metaboloma requiere, además, metodologías de análisis multivariado, redes de correlación y estrategias estadísticas que vinculen taxones con metabolitos diferenciales. En los trabajos recientes se reconoce que este enfoque permite inferir mecanismos de regulación metabólica y descubrir microorganismos potencialmente implicados en la acumulación de compuestos de interés. Asimismo, el uso combinado de marcadores moleculares, perfiles químicos y análisis ecológicos fortalece la interpretación de procesos como la adquisición de nutrientes, la supresión de enfermedades y la adaptación ambiental (Wang et al. 2023).

Estas herramientas tienen un valor especial en la investigación agrícola porque posibilitan la evaluación de sistemas complejos en los que intervienen raíces, rizosferas, frutos, hojas o matrices fermentativas. En consecuencia, la integración de microbiomas y metabolomas ofrece una base sólida para el desarrollo de estrategias biotecnológicas orientadas a la sostenibilidad, la calidad de los productos y la salud vegetal. Sin embargo, a pesar de los avances, aún persisten limitaciones en el análisis computacional, las evaluaciones estadísticas, la estandarización y la validación, debido a la gran variabilidad de las muestras, al diseño experimental y a los flujos de trabajo bioinformáticos (Galloway-Peña & Hanson 2020). Actualmente, la convergencia entre la integración multiómica, la inteligencia artificial y las estrategias de modelado híbrido ha comenzado a superar las limitaciones de larga data de los procesos tradicionales. La integración de la biología de sistemas, el modelado computacional y los datos experimentales constituye un enfoque multidisciplinario que permitirá avanzar hacia una nueva generación de soluciones en problemáticas que requieran análisis metabolómicos (Baimakhanova et al. 2025).

8. METODOLOGÍA

En el marco de esta investigación, se seleccionaron tres sistemas vegetales de interés agroindustrial para el estudio de las interacciones entre el microbioma y el perfil metabolómico: semillas de *Coffea arabica* para el proceso de fermentación húmeda; semillas de albahaca genovesa (*Ocimum basilicum*), reconocida por sus hojas pequeñas y su alto contenido de aceites esenciales aromáticos; y la variedad Micro-Tom de tomate (*Solanum lycopersicum*), caracterizada por su porte compacto, capacidad de autofecundación y ciclo de vida corto, lo cual facilita su cultivo en condiciones controladas. En el diseño experimental (figura 3), primero se prepararon los tratamientos: diluciones de suelos de cultivos agrícolas con diferentes características, como suelos de cultivos prósperos y/o enfermos, que se inocularon en la rizosfera de plantas de tomate y albahaca crecidas en arena estéril y en el líquido de fermentación de semillas de café (dos tratamientos para semillas de café fueron levadura y bacteria pura).

Posteriormente, se realizaron la cosecha y el procesamiento de las muestras para su análisis metagenómico de raíz, rizosfera y líquido de fermentación, y el análisis metabolómico a partir del fruto de tomate, la hoja de albahaca y las semillas de café. Finalmente, se aplicaron herramientas de análisis estadístico, bioinformático y quimiinformático para identificar las correlaciones entre microorganismos y metabolitos en los productos vegetales evaluados.

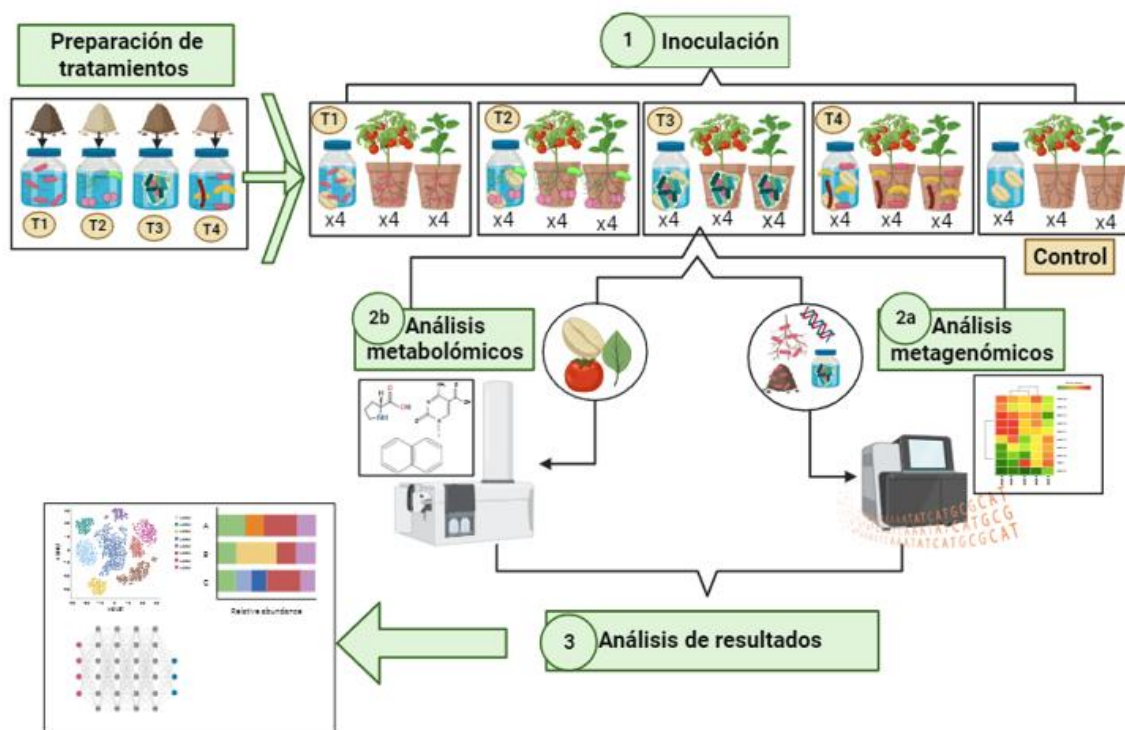


Figura 3. Proceso metodológico del proyecto. Fuente: elaboración propia en Biorender.

8.1. Cultivo de plantas y fermentación de semillas

En esta investigación se emplearon tres modelos vegetales de interés agroindustrial para evaluar la relación entre el microbioma y metaboloma: *Coffea arabica* (variedad Castillo) para el estudio de semillas fermentadas, *Ocimum basilicum* (variedad genovesa vendida por la compañía Fercon) para hojas, y *Solanum lycopersicum* (variedad Micro-Tom de C.M. Rick Tomato Genetics Resource Center, Davis, CA, USA) para frutos. Estas especies fueron seleccionadas por su relevancia comercial, su diversidad fisiológica y por representar diferentes órganos vegetales de valor económico (semillas, hojas y frutos, respectivamente).

Las semillas fueron sometidas a un proceso de desinfección mediante inmersión en etanol al 70% y en solución de hipoclorito de sodio, de acuerdo con el protocolo descrito por Gilbert et al. (2023). Posteriormente, las semillas se colocaron en cajas de Petri, utilizando servilletas humedecidas con agua estéril como cámaras húmedas. Las cajas se sellaron con Parafilm® para mantener condiciones controladas de alta humedad relativa y favorecer la germinación. Una vez germinadas, las plántulas fueron trasplantadas a macetas (tomates) o botellas de 2 litros selladas (Albahaca) que contenían arena de río esterilizada y se dejaron crecer durante dos semanas antes de la inoculación con los tratamientos microbianos.

Los inóculos consistieron en 4 g de suelo suspendidos en 40 mL de agua estéril y se aplicaron por irrigación a las raíces de las plantas sembradas en arena esterilizada. Se incluyeron cuatro suelos con características contrastantes: dos suelos “sanos”; uno denominado “Armando” de una finca de

producción de yuca bajo manejo convencional (Palmira, Valle del Cauca) y otro de café bajo manejo agroecológico sin aplicación de agroquímicos (Dulce Hogar; zona rural de Cali, Valle del Cauca). Dos suelos “enfermos” procedentes de fincas con antecedentes de enfermedades: la finca Cauca produce yuca con alta incidencia de la enfermedad “cuero de sapo” (Popayán, Cauca), mientras que Villa Laura envió suelo de su cafetal, donde muchas plantas sufrían una enfermedad fantasma que pudría las raíces (Trujillo, Valle del Cauca). Para el experimento de fermentación de café, se incluyó adicionalmente un suelo proveniente de la finca Santuario (Valle del Cauca, Colombia), dedicada al cultivo de *Coffea arabica* y cuyas plantas no presentaban síntomas visibles de enfermedad al momento del muestreo. Asimismo, se emplearon inóculos, inóculo puro de la bacteria *Burkholderia gladioli* 3A12 (Shehata et al., 2017) e inóculo puro de la levadura *Yarrowia lipolytica* (Shehata et al., 2017). El control negativo se inoculó únicamente con agua estéril. Estas comunidades constituyeron la variable independiente del experimento. Para cada tratamiento se establecieron cuatro réplicas biológicas.

Con el fin de reducir la variabilidad ambiental, las plantas fueron cultivadas en un cuarto de crecimiento con luz artificial y temperatura ambiental (12 horas luz / 12 horas oscuridad). Las plantas de albahaca incluso estaban sembradas dentro de botellas plásticas de 2 L que se habían esterilizado con etanol y sellado después de la siembra. Cada semana y a todas las plantas, se aplicó un fertilizante completo (Miracle Gro, Water Soluble All Purpose Plant Food) en agua de irrigación herbicida para asegurar la disponibilidad de nutrientes esenciales sin introducir nuevos microorganismos. La recolección de muestras se realizó a los tres meses de cultivo, una vez alcanzada la madurez fisiológica: se recolectaron frutos maduros de tomate y hojas desarrolladas de albahaca.

Para el experimento de fermentación de semillas, se utilizaron cerezas maduras de *Coffea arabica* variedad Castillo provenientes de la finca Dulce Hogar (Cali, Valle del Cauca, Colombia). Las cerezas fueron lavadas con agua estéril y desinfectadas dos veces mediante inmersión en etanol al 70% durante 5 minutos. Después de secar al clima durante 15 minutos, las cerezas se despulparon manualmente con guantes estériles y aproximadamente 5 g de semillas con 9 mL de agua destilada estéril y se transfirieron a tubos cónicos estériles de 50 mL. Cada tubo fue inoculado con 1 mL del inóculo de los diferentes tratamientos de microorganismo puro o suelo previamente preparado, correspondiente al mismo inóculo utilizado para la inoculación de las raíces de albahaca y tomate. El control se preparó mediante la adición de agua estéril en lugar de inóculo. El volumen final en todos los tubos fue de 10 mL. Los tubos se sellaron y se transfirieron a una incubadora a 25 °C durante 72 horas. Además de los tratamientos de suelo, también había fermentación de semillas tipo “honey” (semillas secas con mucílago adherido).

Las muestras de raíz, rizosfera y semillas fermentadas fueron recolectadas en tubos individuales etiquetados con el nombre del tratamiento y el número de réplica. Porque la fermentación húmeda de semillas de café normalmente involucra 3 lavados con agua antes de secar (De Bruyn et al., 2017) y se lavó una vez antes de secar y enviar a análisis metabólico. Las raíces se lavaron cuidadosamente con agua destilada estéril hasta eliminar por completo la arena; el agua del primer lavado se recolectó por separado como muestra de rizosfera, siguiendo el protocolo de Johnston-Monje et al. (2021). Las muestras de raíz, rizosfera y líquido de fermentación se destinaron a la extracción de ADN y a los análisis metagenómicos, mientras que los frutos de tomate, las hojas de albahaca y las semillas de café se utilizaron para los análisis metabólicos.

8.2. Procesamiento de las muestras

8.2.1. Extracción de ADN y metagenómica

El ADN total fue extraído a partir de 1 mL de cada muestra biológica correspondiente a la raíz, la rizosfera y el líquido de fermentación, utilizando el Norgen Plant/Fungus DNA Isolation Kit (Thorold, ON, Canadá), siguiendo las instrucciones del fabricante. La cuantificación del ADN extraído se realizó mediante nanoespectrofotometría, con la que se evaluaron tanto la concentración como la pureza de los ácidos nucleicos. Para la amplificación del material genético, se empleó un protocolo de PCR en dos rondas, adaptado de Johnston-Monje, Gutiérrez et al. (2021). La primera ronda de PCR se efectuó utilizando primers universales dirigidos a la región V3-V4 del gen 16S rRNA para la identificación de bacterias, con los cebadores 515F y 806R, y los bloqueadores PNA de 16S de mitocondrias y de cloroplastos de plantas. Para la identificación de hongos y levaduras, se amplificó la región ITS utilizando los cebadores ITS3-KYO2 e ITS4 y los bloqueadores PNA de ITS de planta. Para la segunda ronda de PCR se aplicaron primers con códigos de barras e índices compatibles con la plataforma de secuenciación de Illumina. La eficacia de la amplificación se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa, observándose bandas de tamaño esperado. Los amplicones obtenidos fueron enviados para secuenciación masiva mediante tecnología de secuenciación de siguiente generación en la plataforma Illumina MiSeq, a través de los servicios prestados por la empresa Azenta Life Sciences (anteriormente Genewiz, Plainfield, NJ, USA).

Las secuencias obtenidas con la plataforma Illumina MiSeq fueron sometidas a un proceso de control de calidad y a un análisis taxonómico. Inicialmente, se evaluó la calidad de las secuencias crudas mediante la inspección de puntuaciones Phred, y se eliminaron secuencias de baja calidad, así como regiones correspondientes a cebadores y adaptadores. Este preprocesamiento garantizó la inclusión únicamente de secuencias de alta calidad en los análisis posteriores.

Las secuencias depuradas fueron alineadas utilizando MT-Toolbox (Yourstone et al. (2014) y posteriormente editadas con USEARCH v6 (Edgar, 2010) para la detección de secuencias redundantes y el agrupamiento en Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs) a un umbral de similitud del 97%. La asignación taxonómica se realizó mediante búsquedas locales BLAST en la plataforma Genius, contra bases de datos de 16S de bacterias de Hsieh et al. (2022) y de ITS de eucariotas para las secuencias de los hongos de Santamaria et al. (2018).

Para obtener análisis metagenómicos más robustos, se combinaron los datos de 16S de bacterias con los de ITS de hongos. Los datos de abundancia fueron integrados en objetos phyloseq dentro del entorno estadístico R. La diversidad alfa se evaluó mediante el índice de Shannon (H') el cual se calculó a partir de conteos de OTUs por muestra. Posteriormente, se calculó el valor promedio de Shannon para cada tratamiento. La diversidad beta se analizó mediante matrices de disimilitud calculadas con la distancia de Bray–Curtis, ampliamente utilizada en estudios de comunidades microbianas. Estas matrices se emplearon para construir gráficos de ordenación por coordenadas principales (PCoA) con el objetivo de visualizar patrones de agrupamiento y mapas de calor que representan el perfil taxonómico de las muestras, contruidos a partir de datos normalizados como porcentaje de abundancia relativa, lo que permitió comparar visualmente las principales comunidades microbianas presentes en los distintos compartimentos evaluados: rizosfera, raíz, fruto y fermentación de café, según el modelo de estudio (Albahaca, tomate o café).

Las diferencias estadísticas en la composición microbiana entre grupos se evaluaron mediante un análisis de varianza permutacional multivariada (PERMANOVA) con 999 permutaciones, lo que permitió determinar la significancia de las agrupaciones observadas. Para identificar OTUs diferencialmente abundantes entre condiciones experimentales (tratamiento vs. control), se utilizó el paquete DESeq2, aplicando criterios de significancia estadística (p valor <0.001 para bacterias y <0.05 para hongos) y magnitud del cambio ($\log_2$ fold change >2).

8.2.2. Análisis metabolómicos

Para el análisis del metaboloma, las muestras fueron enviadas al Centro de Metabolómica de la Universidad de los Andes (MetCore), donde se realizó un análisis metabolómico no dirigido mediante cromatografía líquida de fase reversa acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (RP-LC-MS-QTOF). Cada muestra fue procesada tomando 10 unidades biológicas (por ejemplo, semillas o frutos), que se homogeneizaron mediante maceración con nitrógeno líquido. La extracción de metabolitos se llevó a cabo adicionando 500 μL de una solución metanol: agua (80:20, v/v), seguida de agitación por vórtex durante 15 minutos, sonicación durante 15 minutos adicionales y un segundo ciclo de vórtex durante 15 minutos. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 13,000 rpm durante 10 minutos a 4 °C y se recuperaron 80 μL de la fase orgánica para el análisis instrumental.

Los extractos se analizaron utilizando un sistema de cromatografía líquida Agilent Technologies 1260, acoplado a un espectrómetro de masas QTOF 6545 con fuente de ionización por electrospray en modo positivo y negativo. Las condiciones de separación incluyeron una columna C18 y un gradiente de elución basado en ácido fórmico en agua (fase A) y acetonitrilo (fase B). Para asegurar la calidad del análisis, se incluyeron controles de calidad (QC) preparados mediante una mezcla equimolar de todas las muestras, los cuales fueron analizados periódicamente a lo largo de la corrida para evaluar la estabilidad del sistema analítico y la reproducibilidad del procesamiento.

El procesamiento de los datos crudos, incluyendo la conversión de archivos, la detección de picos, el alineamiento de tiempos de retención, la corrección de desplazamientos y el agrupamiento de señales, fue realizado por el centro de metabolómica utilizando flujos de trabajo bioinformáticos estándar, comúnmente empleados en estudios metabolómicos basados en espectrometría de masas (Pluskal et al., 2010). Como resultado, se obtuvo una matriz de características metabolómicas en la que cada muestra está representada por un conjunto de señales definidas por su relación masa/carga (m/z), tiempo de retención (RT) y una medida semicuantitativa basada en la intensidad de ionización registrada por el espectrómetro, incluyendo las muestras de control de calidad (QC).

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante la plataforma MetaboAnalyst 5.0 Pang et al. (2021). Antes del análisis, se aplicaron filtros de calidad para eliminar metabolitos con baja reproducibilidad (alta variación entre réplicas de control de calidad, QCs) y aquellos con baja variabilidad entre los grupos experimentales. Posteriormente, los datos fueron normalizados por suma total para corregir diferencias en la cantidad de muestra, transformados mediante logaritmo en base 10 para reducir la asimetría de distribución, y escalados usando el método Pareto, a fin de equilibrar la influencia relativa de los distintos metabolitos.

La anotación tentativa de metabolitos se realizó utilizando la herramienta en línea CEU Mass Mediator Gil-de-la-Fuente et al. (2018), mediante búsquedas batch de las masas protonadas ($[M+H]^+$) correspondientes únicamente a los metabolitos diferencialmente significativos entre tratamientos. Las búsquedas se realizaron en modo positivo, con una tolerancia máxima de ± 10 ppm, considerando múltiples aductos posibles, incluidos $[M+H]^+$, $[M+2H]^2+$, $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$, $[M+NH_4]^+$ y $[M+H-H_2O]^+$. Las búsquedas se realizaron en las bases de datos disponibles en la plataforma, incluidas METLIN, KEGG y LipidMaps.

Debido a que una misma masa podía generar múltiples candidatos putativos según el aducto y la base de datos consultada, la selección final de los compuestos se realizó considerando la

plausibilidad biológica de los compuestos en relación con la matriz analizada y su asociación conocida con el metabolismo primario y secundario de las plantas (Anexo 4). Dado que estas asignaciones se basaron exclusivamente en coincidencias de masa exacta (MS1), sin validación adicional mediante fragmentación (MS/MS), tiempo de retención o comparación con estándares auténticos, las anotaciones reportadas deben considerarse tentativas y corresponden principalmente a un nivel 3 de confianza según la Metabolomics Standards Initiative (MSI). Por tanto, las asignaciones químicas presentadas representan aproximaciones funcionales útiles para los análisis estadísticos exploratorios y la integración con los datos metagenómicos, pero permanecen sujetas a validación estructural en estudios futuros.

Se realizaron comparaciones entre cada tratamiento y su respectivo control mediante la prueba t de Student, considerando como significativos los metabolitos con $p < 0.05$. Además, se evaluaron los cambios relativos mediante el cálculo del fold change (FC) para cuantificar la magnitud de las diferencias. Los resultados se visualizaron mediante gráficos de dispersión tipo volcano plot, que integran tanto la significancia estadística como la magnitud del cambio, lo que permitió priorizar los metabolitos más relevantes para cada contraste. Adicionalmente, se calcularon los valores de Variable Importance in Projection (VIP) de los modelos supervisados PLS-DA, con el objetivo de identificar los metabolitos que más contribuyeron a la discriminación multivariada entre los tratamientos. Los metabolitos seleccionados para su inclusión en los análisis de correlación microbioma–metaboloma fueron los que cumplían con estos criterios ($p < 0.05$, $VIP > 1$).

8.2.3. Integración de datos metagenómicos y metabolómicos mediante análisis de correlación

Para evaluar la concordancia entre la estructura de las comunidades microbianas y los perfiles metabolómicos, se construyeron tanglegamas a partir de los dendrogramas jerárquicos de cada conjunto de datos. Los dendrogramas se generaron a partir de matrices de distancia Bray–Curtis, calculadas sobre las matrices normalizadas de abundancia microbiana y de suma de metabolitos. Posteriormente, los dendrogramas se visualizaron conjuntamente mediante tanglegamas utilizando funciones del paquete dendextend en R, lo que permitió evaluar visualmente el grado de correspondencia entre ambos agrupamientos (Galili, 2015).

Para integrar los datos del microbioma (bacteriano y fúngico) con los perfiles metabolómicos de las muestras, se utilizaron rutinas de análisis implementadas en R (v4.x), con el apoyo de los paquetes readr, dplyr, tidyr, psych, pheatmap, igraph y ggraph. Se trabajó con matrices previamente normalizadas: para el microbioma, se utilizaron abundancias transformadas mediante DESeq2, para el metaboloma, se usaron datos procesados en MetaboAnalyst mediante normalización por suma total, transformación log10 y escalado Pareto.

Las matrices se alinearon por muestra mediante la intersección de los identificadores comunes y se reordenaron para mantener la correspondencia en el análisis. Para reducir la dimensionalidad del análisis, las correlaciones se calcularon únicamente entre OTUs y metabolitos previamente identificados como diferencialmente significativos.

Las correlaciones entre variables microbianas y metabolitos se estimaron mediante coeficientes de Spearman, considerando observaciones completas por pares. Dado el número de comparaciones y la dimensión reducida de la muestra, se utilizó un umbral exploratorio para selección de asociaciones candidatas, definido como $p \leq 0.01$ y $|p| \geq 0.35$.

9. RESULTADOS

9.1. Albahaca

9.1.1. Composición y variación de comunidades microbianas en raíz y rizósfera de albahaca según tratamiento del suelo

La caracterización del microbioma asociado a raíces y rizosfera de albahaca genovesa (*Ocimum basilicum*), inoculada con microbioma proveniente de diferentes suelos (Cauca, Armando, Dulce Hogar, Villa Laura), evidenció patrones específicos de colonización microbiana, tanto a nivel bacteriano como fúngico.

El análisis de componentes principales (PCA) de metagenómica de bacterias y hongos evidenció distintos impactos de los tratamientos en la estructura de las comunidades microbianas de la raíz y la rizosfera de albahaca (Figura 4). En la fracción de raíz, los dos primeros componentes explicaron el 22.06% de la variación total (Dim1 = 19.64% y Dim2 = 12.92%). Se observó una tendencia de agrupación de las muestras según el tratamiento, donde Cauca se distribuyó hacia valores positivos en ambos ejes, Dulce-Hogar se concentró en el cuadrante inferior derecho, Villa-Laura se ubicó en el lado negativo de Dim1, mientras que Armando se mantuvo cercano al centro del plano multivariado. El tratamiento de control (raíces creciendo en arena estéril, irrigadas con agua estéril en botellas selladas) fue muy similar al de las raíces de Villa Laura, lo que podría indicar un efecto limitado del inóculo de este tratamiento sobre la estructura de la comunidad microbiana de la raíz.

En la rizosfera, los dos primeros componentes explicaron un porcentaje mayor de la variación total (Dim1 = 18.81% y Dim2 = 14.26%), lo que indica una mayor estructuración de las comunidades microbianas en comparación con la fracción de raíz. En este caso, las muestras del control se separaron claramente de los tratamientos inoculados, ubicándose en valores altos de Dim2 y alejadas del resto de los grupos. Esta separación sugiere que la inoculación con suelo introdujo comunidades microbianas distintas en la rizosfera de la albahaca en comparación con el control estéril. Entre los tratamientos, Dulce-Hogar se agrupó en el cuadrante inferior derecho del plano multivariado; Villa-Laura se ubicó en valores negativos de Dim1; Cauca se distribuyó en valores positivos de Dim1, con variación en Dim2, mientras que Armando se mantuvo en la región central inferior del análisis.

El análisis PERMANOVA confirmó diferencias significativas en la composición microbiana entre tratamientos tanto en la raíz ($R^2 = 0.39$, $F = 1.60$, $p = 0.002$) como en la rizosfera ($R^2 = 0.44$, $F = 2.00$, $p = 0.001$), siendo mayor la variación explicada en la rizosfera.

A nivel de phylum, las comunidades microbianas asociadas a la albahaca mostraron diferencias en su composición según el compartimento vegetal y el tratamiento de inoculación (Figura 5). En las comunidades bacterianas, Proteobacteria fue el phylum dominante tanto en la raíz como en la rizosfera, seguido por Firmicutes y Bacteroidota, cuyas abundancias relativas variaron entre los tratamientos.

En las comunidades fúngicas, Ascomycota predominó claramente en ambos compartimentos, mientras que Basidiomycota, Mortierellomycota y Mucoromycota estuvieron presentes en proporciones menores y con distribuciones dependientes del tratamiento. En la raíz, fue sorprendente ver que solo el tratamiento Cauca introdujo Basidiomycota en la endosfera, ya que normalmente este grupo de hongos es el segundo más abundante en el microbioma de las plantas. Los Chytridiomycota son con frecuencia patógenos de raíces y constituyen el segundo filo más común de hongos en la endosfera de las raíces de albahaca.

Análisis PCA de comunidades bacterianas y fúngicas en raíz y rizosfera en Albahaca

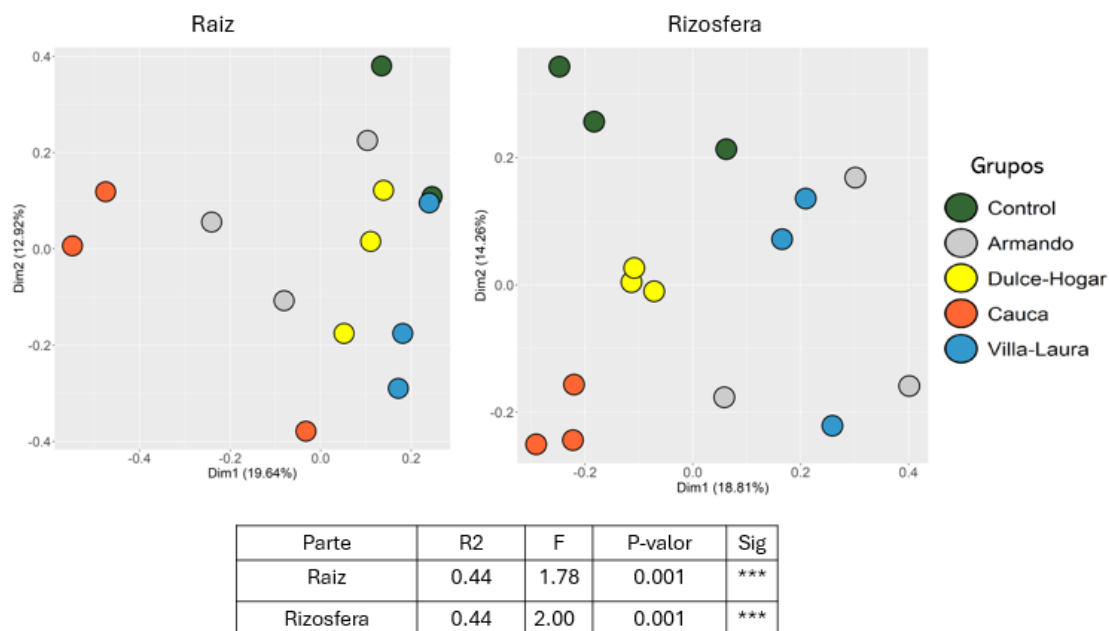


Figura 4. Análisis de componentes principales (PCA) de la composición de las comunidades bacterianas (16S rRNA) y fúngicas (ITS) asociadas a la raíz y la rizosfera de *Ocimum basilicum* (albahaca) bajo diferentes tratamientos de inoculación. Los gráficos muestran la distribución de las muestras en función de los dos primeros componentes principales para bacterias y hongos, diferenciando entre tejido (raíz y rizosfera) y tratamiento (Control, Armando, Dulce Hogar, Cauca y Villa Laura). Las flechas representan las OTUs que más contribuyen a la separación de las muestras en el espacio multivariado. La tabla inferior resume los resultados del análisis PERMANOVA, indicando los valores de R^2 , el estadístico F y la significancia estadística para cada combinación de microorganismo y tejido.

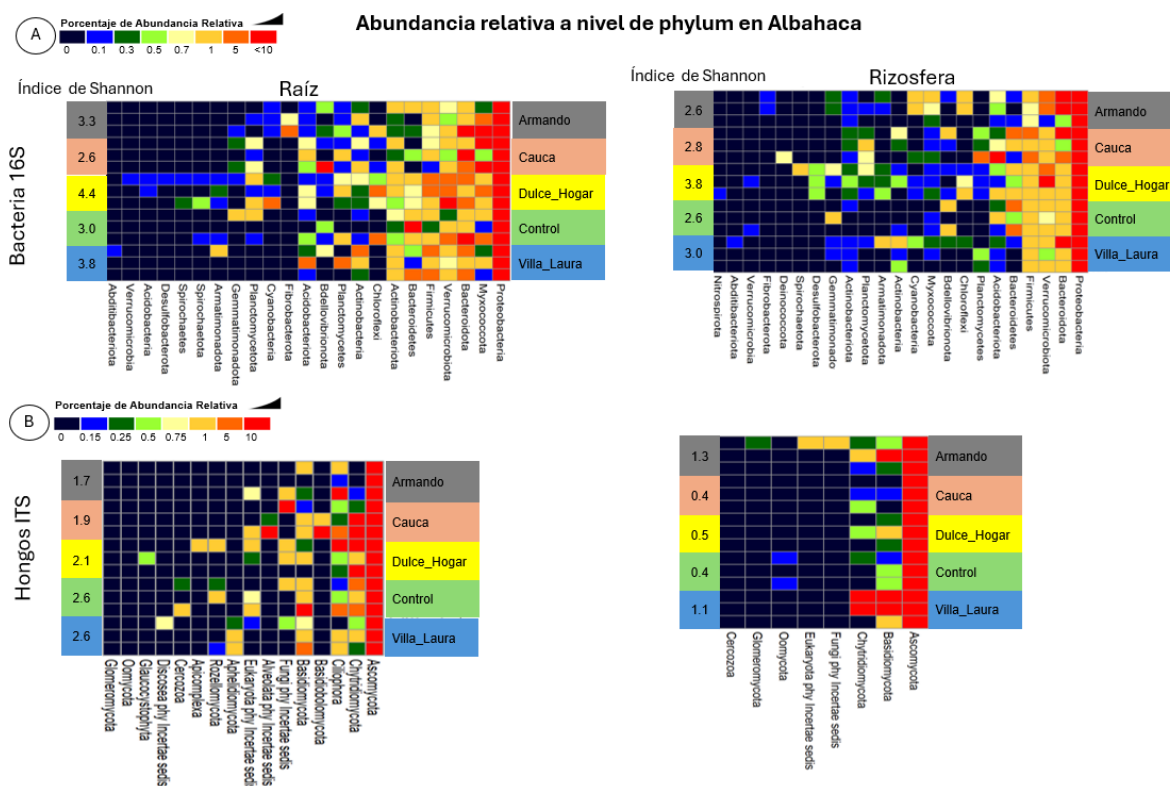


Figura 5. Abundancia relativa a nivel de phylum de las comunidades microbianas asociadas a la raíz y la rizosfera de albahaca (*Ocimum basilicum*) bajo diferentes tratamientos de inoculación. (A) Comunidad bacteriana (gen 16S rRNA) y (B) comunidad fúngica (región ITS). Para cada grupo microbiano se muestran los perfiles correspondientes a la raíz (panel izquierdo) y la rizosfera (panel derecho). Los colores representan el porcentaje de abundancia relativa de cada phylum según la escala indicada, y las filas corresponden a los tratamientos: Armando, Cauca, Dulce Hogar, Control y Villa Laura. Los valores mostrados en el margen izquierdo de cada panel corresponden al promedio del índice de diversidad de Shannon de cada tratamiento. Los phyla se ordenaron según su abundancia relativa promedio para facilitar la comparación entre tratamientos y compartimentos.

En albahaca, los valores del índice de Shannon en bacterias (Figura 5) a nivel de raíz oscilaron entre 2.6 y 4.4, donde el tratamiento Dulce Hogar presentó la mayor diversidad ($H' = 4.4$), mientras que Cauca mostró la menor diversidad ($H' = 2.6$). En la rizósfera, los valores oscilaron entre 2.6 y 3.8, donde Dulce Hogar presentó la mayor diversidad ($H' = 3.8$), seguido de Villa Laura ($H' = 3.0$), mientras que Armando y Control mostraron los valores más bajos ($H' = 2.6$).

A nivel de OTU, se observaron composiciones distintivas según el tratamiento y el compartimento (Figura 6). En las bacterias endofíticas, sobresalieron OTUs pertenecientes a *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Bacillus*, con abundancias relativas superiores al 5% en varios tratamientos. *Pseudomonas* fue dominante en Armando, mientras que *Streptomyces* se enriqueció en Cauca y *Bacillus* presentó una distribución más equilibrada en Villa Laura. El análisis de abundancia relativa de OTUs bacterianas en raíces reveló diferencias marcadas en la composición microbiana entre los tratamientos inoculados y el control. En general, varias OTUs mostraron un enriquecimiento notable en las raíces provenientes de suelos inoculados, mientras que estuvieron ausentes o en muy baja abundancia en el control. Entre las OTUs más abundantes se destacó BactOTU2, que representó una proporción importante de la comunidad bacteriana en los tratamientos Armando (15%) y Cauca (23%), mientras que en el control su abundancia fue inferior al 1%. De manera similar, BactOTU14

mostró incrementos claros en los tratamientos inoculados, con abundancias promedio de 3.8%, 1.6%, 1.3% y 0.7% en Armando, Cauca, Dulce-Hogar y Villa-Laura, respectivamente, mientras que en el control se mantuvo en niveles muy bajos (0.31%). Un patrón similar se observó para BactOTU22, cuyas abundancias promedio fueron de 2.7%, 1.4%, 1.2% y 0.9% en Armando, Cauca, Dulce-Hogar y Villa-Laura, respectivamente, y apenas 0.19% en el control.

En contraste, las raíces del control estuvieron dominadas por BactOTU3, que representó aproximadamente el 49% de la comunidad bacteriana total, mientras que en los tratamientos inoculados su abundancia fue considerablemente menor. Este patrón sugiere que la inoculación con microbiota del suelo modificó significativamente la estructura de la comunidad bacteriana asociada a la raíz, favoreciendo el establecimiento de OTUs específicas derivadas del suelo.

En hongos (ITS), los valores del índice de Shannon en raíz oscilaron entre 1.7 y 2.6, donde Control y Villa Laura presentaron la mayor diversidad ($H' = 2.6$), mientras que Armando mostró la menor diversidad ($H' = 1.7$). En la rizósfera, los valores oscilaron entre 0.4 y 1.3, donde Armando presentó la mayor diversidad ($H' = 1.3$), seguido de Villa Laura ($H' = 1.1$), mientras que Cauca y Control mostraron los valores más bajos ($H' = 0.4$). El análisis de abundancia relativa de OTUs fúngicas en las raíces reveló diferencias significativas en la composición de las comunidades entre los tratamientos inoculados y el control. Entre las OTUs más abundantes se encontraron FungiOTU15, FungiOTU8, FungiOTU10 y FungiOTU7, que representaron una proporción considerable de la comunidad fúngica total. FungiOTU15 fue particularmente abundante en los tratamientos Armando (36.7%) y Cauca (31.5%), mientras que en Dulce-Hogar y Villa-Laura su abundancia promedio fue menor (15.9% y 7.3%, respectivamente) y en el control (3.4%). De manera similar, FungiOTU8 mostró abundancias relativamente altas en varios tratamientos, con valores promedio de 23.6% en Armando, 19.7% en Cauca, 17.7% en Dulce-Hogar y 14.8% en Villa-Laura mientras en control (3.9%)

Por su parte, FungiOTU10 también contribuyó de manera importante a la comunidad fúngica radicular, especialmente en el tratamiento Cauca (31.7%), mientras que en los demás tratamientos presentó abundancias entre 10% y 17%. En contraste, FungiOTU7 mostró un patrón distinto, con mayor abundancia en el control (32.2%) y en Dulce-Hogar (29.8%), pero con valores menores en otros tratamientos.

En la rizosfera se observó una mayor diversidad, con predominio de *Flavobacterium*, *Paenibacillus* y *Pseudomonas*. El análisis de abundancia relativa de OTUs bacterianas en la rizosfera mostró diferencias claras en la composición microbiana entre los tratamientos inoculados y el control. Entre las OTUs más abundantes se encontró BactOTU3, que representó una proporción importante de la comunidad bacteriana en todos los tratamientos. En el tratamiento, Armando presentó una abundancia promedio cercana al 51%, mientras que en Cauca fue de aproximadamente 19% y en Villa-Laura, alrededor de 23%. En contraste, en el control esta OTU alcanzó valores considerablemente mayores, con un promedio cercano al 41%, lo que indica que esta OTU está transmitida por semilla y domina la comunidad bacteriana cuando no hay competencia entre el microbioma del suelo.

Otra OTU dominante fue BactOTU72, que también presentó abundancias relativas elevadas. En Armando se presentó un promedio aproximado de 1.1%, mientras que en Cauca alcanzó valores más elevados, alrededor de 8% en promedio. En Villa-Laura su abundancia fue menor, cercana al 1%, mientras que en el control se observaron valores relativamente altos, alrededor del 11%, lo que indica que esta OTU también es característica de comunidades no inoculadas.

En los tratamientos inoculados también se observaron incrementos en la abundancia de varias OTUs de abundancia intermedia. Por ejemplo, BactOTU22 mostró abundancias cercanas al 2% en algunos tratamientos inoculados, mientras que en el control permaneció en niveles más bajos. De manera

similar, BactOTU34 presentó abundancias bajas y relativamente constantes entre los tratamientos (≈ 0.05 – 0.07%). En contraste, BactOTU15 mostró un claro enriquecimiento en los tratamientos inoculados, con abundancias promedio de 0.97% en Villa-Laura, 0.89% en Armando, 0.79% en Dulce-Hogar y 0.50% en Cauca, mientras que en el control fue considerablemente menor ($\approx 0.23\%$).

Las comunidades fúngicas mostraron OTUs dominantes asociadas a *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mortierella*, *Penicillium* y *Cladosporium*, con variaciones marcadas según el tratamiento.

La OTU más abundante en todos los tratamientos fue FungiOTU11 (*Pichia eremophila*), que representó la mayor proporción de la comunidad fúngica. En el tratamiento Armando esta OTU presentó una abundancia promedio cercana al 59% . En Cauca, Dulce-Hogar y el control, FungiOTU11 fue aún más dominante, alcanzando entre 93% y 95% de la comunidad total. En Villa-Laura su abundancia promedio fue menor ($\approx 57\%$), debido a una mayor contribución de otras OTUs fúngicas en este tratamiento.

La segunda OTU más importante fue FungiOTU2 (*Rhizophydiaceae* sp.), que mostró abundancias moderadas y variables entre los tratamientos. En Armando presentó valores cercanos al 14% , mientras que en Villa-Laura alcanzó aproximadamente 16% en promedio. En contraste, en Cauca, Dulce-Hogar y en el control, su abundancia fue considerablemente menor, generalmente inferior al 3 – 5% .

Otras OTUs contribuyeron en menor medida a la estructura de la comunidad. Por ejemplo, FungiOTU7 (*Fusarium graminearum*) presentó abundancias cercanas al 4 – 5% en algunos tratamientos como Villa-Laura, mientras que en el resto de los tratamientos permaneció por debajo del 2 – 3% . De manera similar, FungiOTU33 (*Auricularia nigricans*) y FungiOTU47 (*Trametes elegans*) mostraron contribuciones menores ($<3\%$) y aparecieron de forma esporádica en algunas réplicas.

En conjunto, estos resultados indican que la comunidad fúngica de la rizosfera estuvo fuertemente dominada por una OTU principal (FungiOTU11), mientras que las demás OTUs representaron fracciones pequeñas de la comunidad. No obstante, algunos tratamientos inoculados, en particular Villa-Laura y Armando, mostraron una mayor contribución de OTUs secundarias, lo que sugiere que la inoculación con microbiota del suelo puede incrementar ligeramente la heterogeneidad de la comunidad fúngica en la rizosfera.

Los índices de Shannon (Figura 5) también demuestran que la inoculación con microbiota del suelo aumenta la diversidad y redistribuye la abundancia relativa de OTUs fúngicos en la rizosfera, favoreciendo el establecimiento de hongos provenientes de los suelos de origen y reduciendo la dominancia de unas pocas OTUs transmitidas por semilla. *Penicillium* dominó en la rizósfera de Villa Laura, mientras que *Mortierella* se enriqueció en Dulce Hogar. OTUs que aparecieron dentro de todas las rizosferas (que podrían haberse transmitidas por semilla) fueron BactOTU513 (*Ilyomonas limi*), BactOTU227 (*Chitinophaga taiwanensis*) y BactOTU801 (*Thermorudis peleae*). Hongos presentes en controles podrían ser transmitidos por semilla y fueron FungiOTU2 (*Rhizophydiaceae* sp.), FungiOTU11 (*Pichia eremophila*) y FungiOTU3 (*Yarrowia lipolytica*).

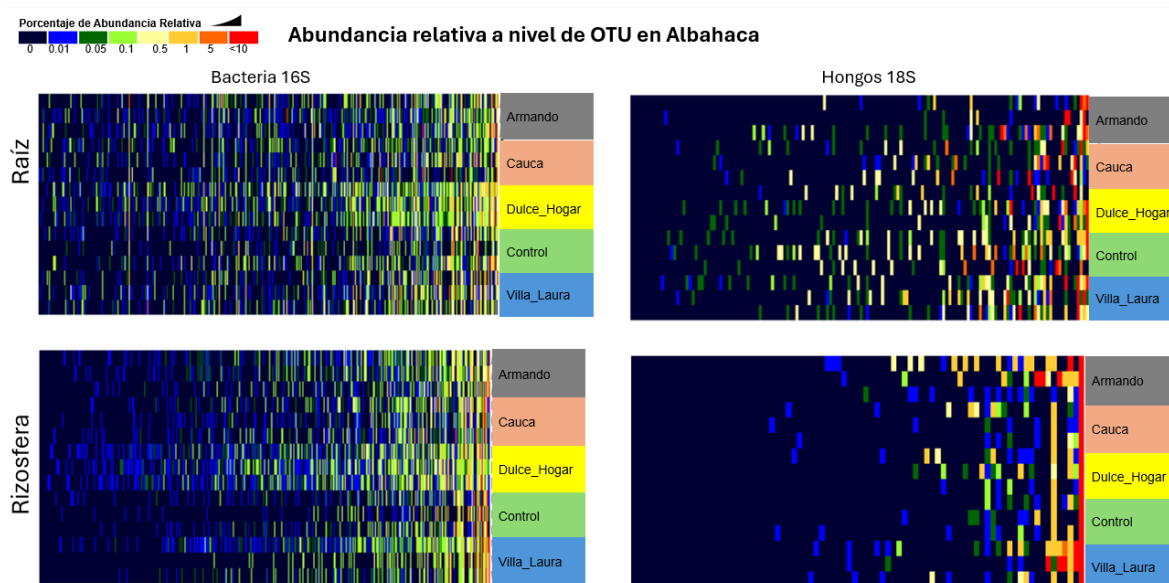


Figura 6. Abundancia relativa a nivel de OTU de las comunidades microbianas asociadas a la raíz y la rizosfera de albahaca (*Ocimum basilicum*) bajo diferentes tratamientos de inoculación. Se muestran los perfiles de abundancia relativa de OTUs bacterianas (16S rRNA; panel izquierdo) y fúngicas (18S rRNA; panel derecho) para la raíz (panel superior) y la rizosfera (panel inferior). Los colores representan el porcentaje de abundancia relativa de cada OTU según la escala indicada, mientras que las filas corresponden a los tratamientos Armando, Cauca, Dulce Hogar, Control y Villa Laura. Las OTUs se ordenaron por abundancia relativa para facilitar la comparación entre tratamientos y compartimentos.

El análisis de abundancia diferencial a nivel de OTU reveló respuestas contrastantes entre compartimentos y tratamientos en las comunidades microbianas asociadas a la albahaca (Figura 7; Tabla 1). En la raíz, se identificó un número reducido de OTUs significativamente moduladas, con cambios más marcados en las comunidades fúngicas. En particular, en el tratamiento Cauca se observaron OTUs fúngicas con incrementos significativos, como FungiOTU25 (*Stagonospora heteroderae*) y FungiOTU64 (*Fusarium suttonianum*), así como OTUs con disminuciones pronunciadas, como FungiOTU11 (*Pichia eremophila*) y FungiOTU59 (*Acrocalymma pterocarpi*), lo que indica una respuesta fúngica altamente específica a este tratamiento.

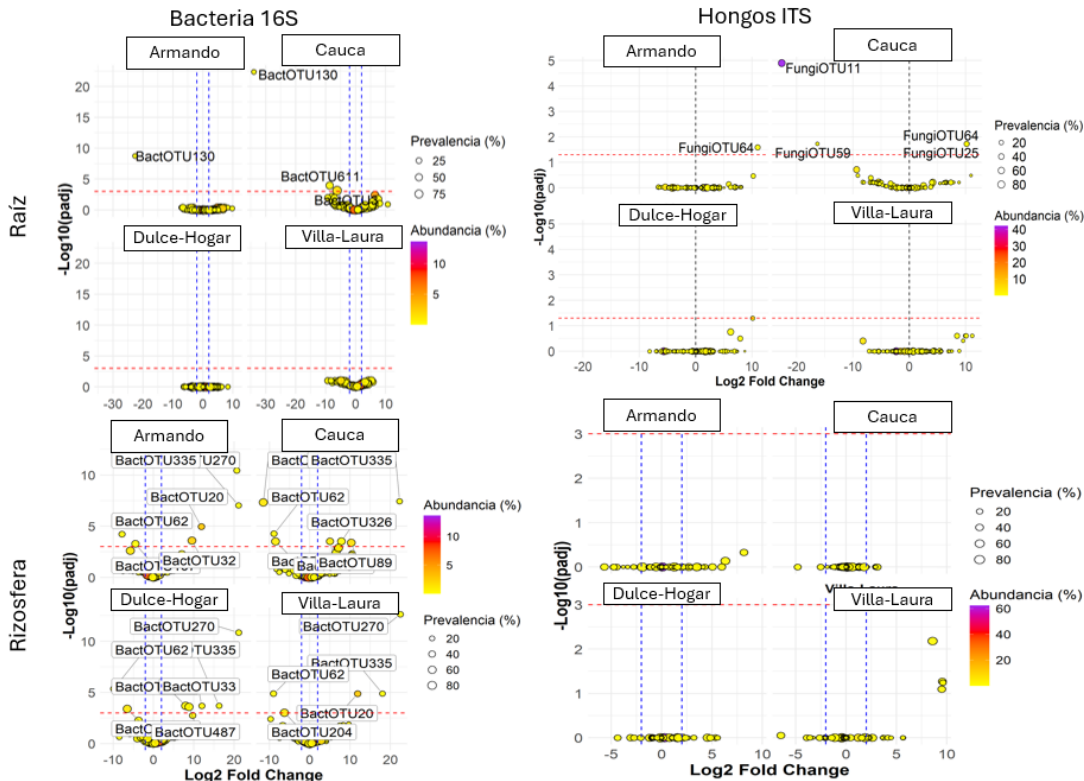


Figura 7. Análisis de la abundancia diferencial de las comunidades microbianas asociadas a la raíz y la rizosfera de la albahaca (*Ocimum basilicum*) mediante gráficos de volcán. Se muestran las comparaciones entre los tratamientos de inoculación (Armando, Cauca, Dulce Hogar y Villa Laura) frente al control para bacterias (gen 16S rRNA; panel izquierdo) y hongos (región ITS; panel derecho), diferenciando los compartimentos de raíz (panel superior) y rizosfera (panel inferior). El eje X representa el cambio en abundancia, expresado como el logaritmo en base 2 del cambio de proporción, mientras que el eje Y corresponde a $-\log_{10}$ del valor ajustado de p (padj). Las líneas verticales discontinuas indican los umbrales de cambio en abundancia y la línea horizontal discontinua indica el umbral de significancia estadística. El tamaño de los puntos representa la prevalencia de cada OTU en las muestras, y el color indica su abundancia relativa promedio.

En contraste, la rizosfera presentó una mayor cantidad de OTUs bacterianas diferencialmente abundantes en todos los tratamientos evaluados. OTUs como BactOTU335 (*Dyadobacter soli*) y BactOTU270 (*Fimbriimonas ginsengisoli*) mostraron incrementos significativos y consistentes en la rizosfera bajo Armando, Cauca, Dulce Hogar y Villa Laura, con valores de log₂ fold change entre ~16 y 22 respecto al control, lo que sugiere un enriquecimiento marcado de estos taxones tras la inoculación. Por el contrario, OTUs como BactOTU62 (*Flavobacterium succinicans*) y BactOTU204 (*Noviherbaspirillum malthae*) presentaron disminuciones significativas en la rizosfera en múltiples tratamientos (log₂FC entre -6 y -11), lo que refleja una reducción relativa respecto al control.

En conjunto, estos resultados indican que la rizosfera constituye el compartimento más sensible a los tratamientos de inoculación en términos de abundancia bacteriana diferencial, ya que en este compartimento se identificaron 14 OTUs bacterianas diferencialmente abundantes, mientras que en la raíz solo se detectaron 3 OTUs bacterianas. En contraste, los cambios en la comunidad fúngica se concentraron principalmente en la raíz, donde se identificaron 4 OTUs fúngicas diferencialmente

abundantes, mientras que en la rizosfera no se detectaron OTUs fúngicas que superaran el umbral de significancia, en concordancia con los patrones observados en los análisis multivariados.

Tabla 1. OTUs significativamente diferentes en raíces y rizósfera de albahaca

OTU	log ₂ FC	padj	Prevalencia	Abundancia	Tratamiento	Parte	Especie
FungiOTU64	11.02	0.026	30.77	0.4573	Armando	Raiz	<i>Fusarium suttonianum</i>
FungiOTU11	-22.63	1.26E-05	82.69	62.3140	Cauca	Raiz	<i>Pseudomonas eremophila</i>
FungiOTU25	10.32	0.019	26.92	1.3442	Cauca	Raiz	<i>Streptomyces heteroderae</i>
FungiOTU64	10.18	0.019	30.77	0.4573	Cauca	Raiz	<i>Fusarium suttonianum</i>
FungiOTU59	-16.30	0.019	9.62	0.2352	Cauca	Raiz	<i>Alternaria pterocarp</i>
BactOTU130	-22.61	1.87E-09	17.31	0.5557	Armando	Raiz	<i>Massilia mobilis</i>
BactOTU130	-33.90	4.83E-23	17.31	0.5557	Cauca	Raiz	<i>Massilia mobilis</i>
BactOTU611	-8.64	0.000	57.69	0.6168	Cauca	Raiz	<i>Burkholderia stabilis</i>
BactOTU3	-6.17	0.001	94.23	2.1671	Cauca	Raiz	<i>Burkholderia gladioli</i>
BactOTU335	21.14	9.67E-08	25.00	0.0630	Armando	Rizosfera	<i>Devosia soli</i>
BactOTU270	20.68	3.63E-11	26.92	0.1236	Armando	Rizosfera	<i>Flavisolibacter ginsengisoli</i>
BactOTU107	-4.53	0.001	53.85	0.2482	Armando	Rizosfera	<i>Rhodobacter massiliensis</i>
BactOTU62	-7.83	6.06E-05	40.38	0.6922	Armando	Rizosfera	<i>Flavobacterium succinicans</i>
BactOTU32	9.52	0.000	44.23	2.9615	Armando	Rizosfera	<i>Paenibacillus luojiensis</i>
BactOTU20	11.90	1.11E-05	36.54	3.6682	Armando	Rizosfera	<i>Loktanella nautarum</i>
BactOTU335	22.30	3.72E-08	25.00	0.0630	Cauca	Rizosfera	<i>Devosia soli</i>
BactOTU326	7.86	0.000	38.46	0.0989	Cauca	Rizosfera	<i>Novosphingobium oligomobis</i>
BactOTU62	-8.83	5.43E-05	40.38	0.6922	Cauca	Rizosfera	<i>Flavobacterium succinicans</i>
BactOTU113	-8.52	0.000	46.15	0.6057	Cauca	Rizosfera	<i>Ohtaekwangia koreensis</i>
BactOTU204	-11.51	4.71E-08	51.92	1.7598	Cauca	Rizosfera	<i>Nocardioidees malthae</i>
BactOTU28	5.02	0.000	53.85	1.5862	Cauca	Rizosfera	<i>Terrimonas mepensis</i>
BactOTU89	10.29	0.000	44.23	0.2619	Cauca	Rizosfera	<i>Inquilinus terrae</i>
BactOTU335	16.29	0.000	25.00	0.0630	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Devosia soli</i>
BactOTU270	21.13	1.43E-11	26.92	0.1236	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Flavisolibacter ginsengisoli</i>
BactOTU487	8.83	0.000	48.08	0.2336	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Rhodocyclus gelatinosus</i>
BactOTU62	-9.89	4.45E-06	40.38	0.6922	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Flavobacterium succinicans</i>
BactOTU131	7.98	0.000	53.85	0.6268	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Paraburkholderia taiwanensis</i>

OTU	log ₂ FC	p _{adj}	Prevalencia	Abundancia	Tratamiento	Parte	Especie
BactOTU33	11.98	0.000	32.69	0.9763	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Paraburkholderia delhiensis</i>
BactOTU204	-6.52	0.000	51.92	1.7598	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Nocardioides malthae</i>
BactOTU335	18.07	1.32E-05	25.00	0.0630	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Devosia soli</i>
BactOTU270	22.52	2.28E-13	26.92	0.1236	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Flavisolibacter ginsengisoli</i>
BactOTU62	-8.95	1.32E-05	40.38	0.6922	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Flavobacterium succinicans [DJM1.1]</i>
BactOTU204	-6.27	0.001	51.92	1.7598	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Nocardioides malthae</i>
BactOTU20	11.90	1.32E-05	36.54	3.6682	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Loktanella nautarum</i>

9.1.2. Perfil metabolómico de hojas de albahaca

Los modelos de PLS-DA se emplearon para comparar los perfiles metabolómicos de las hojas de albahaca de cada tratamiento de inoculación con los del control. Los resultados evidenciaron distintos grados de separación entre los tratamientos y el control en el espacio de componentes latentes, lo que indica una influencia diferencial de los consorcios microbianos sobre la composición química foliar (Figura 8). El tratamiento Cauca mostró una separación clara respecto al control, acompañada de un desempeño robusto del modelo ($R^2 = 0.976$; $Q^2 = 0.548$), lo que indica una buena capacidad predictiva. De manera similar, Dulce Hogar presentó una separación consistente, con valores positivos de Q^2 ($R^2 = 0.865$; $Q^2 = 0.412$), lo que respalda la estabilidad del modelo. En el caso de Villa Laura, se observó una separación visual moderada, con un valor de Q^2 positivo pero reducido ($R^2 = 0.845$; $Q^2 = 0.154$), lo que sugiere un modelo de carácter exploratorio. En contraste, el tratamiento Armando mostró una separación visual respecto al control, pero presentó un valor negativo de Q^2 ($R^2 = 0.971$; $Q^2 = -0.802$), lo que limita su capacidad predictiva y requiere cautela en la interpretación del modelo. En conjunto, los resultados indican que los tratamientos Cauca y Dulce Hogar generaron las modificaciones más consistentes en el perfil metabolómico de las hojas de albahaca, mientras que los efectos observados para Villa Laura y Armando fueron más moderados o variables.

Análisis metabolómicos

PLSDA: Comparación tratamiento vs control

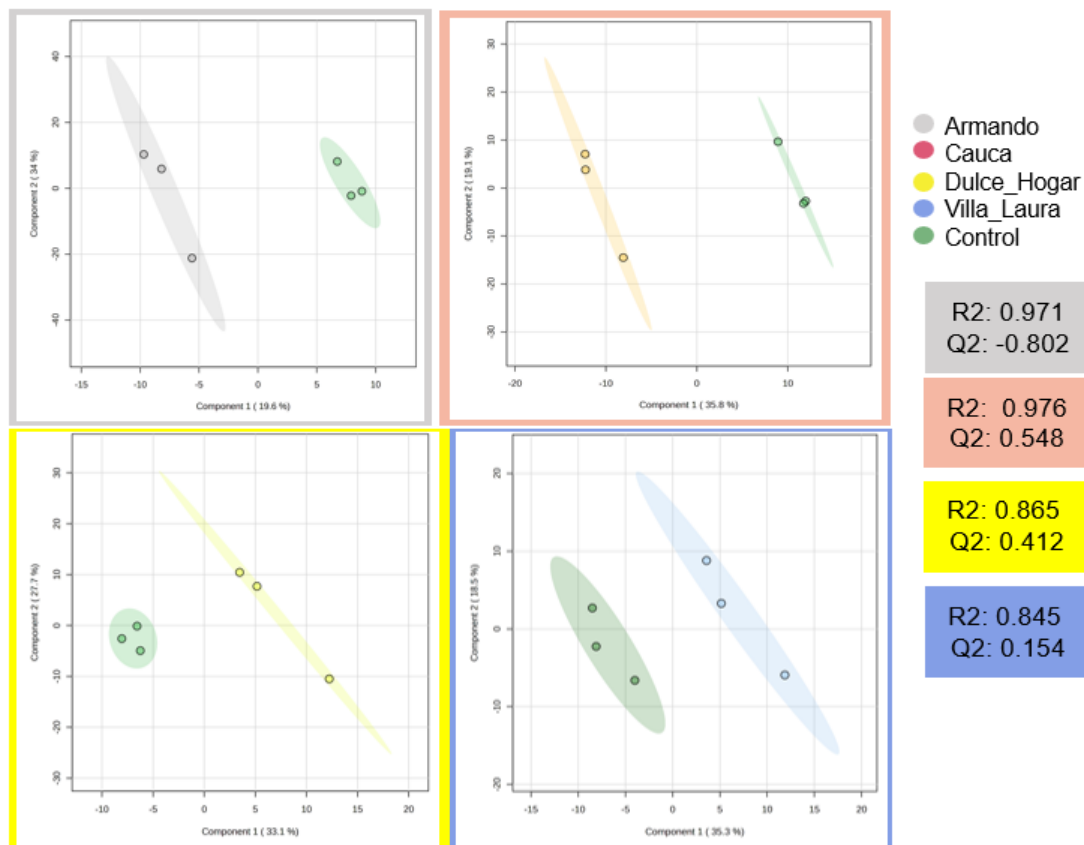


Figura 8. Análisis PLS-DA de los perfiles metabolómicos en hojas de albahaca. Comparación de cada tratamiento microbiano frente al control. Se muestran los valores de R² y Q² para cada modelo.

En el análisis con PLS-DA mostró que los 4 tratamientos con microorganismos del suelo modificaron los metabolomas de las hojas de albahaca. Los resultados en forma de volcano plots (comparación de metabolitos en hojas de plantas tratadas versus plantas control) muestran cuántos y cuáles metabolitos cambian (Figura 9). En este análisis solo se incluyeron los metabolitos cumpliendo con criterios estadísticos rigurosos ($p < 0.05$, $|\log_2 FC| \geq 1$, $VIP \geq 1.5$), lo que permitió identificar aquellos compuestos con mayor relevancia biológica y estadística (Anexo 1). El número de metabolitos diferencialmente expresados fue mayor en Cauca, con 113, seguido por Dulce Hogar, con 38; Armando, con 36; y Villa Laura, con 33. Cauca presentó una tendencia marcada a la disminución de metabolitos, incluidos Met1023, Met1118, Met138 y Met72, asociados principalmente a compuestos fenólicos y flavonoides. Armando también mostró una tendencia general a la disminución, incluyendo Met494 y Met1202, aunque con incrementos puntuales de gran magnitud, como Met1115 y Met1169. En contraste, Dulce Hogar y Villa Laura presentaron una mayor proporción de metabolitos sobre expresados, destacándose Met850, Met1056 y Met836.

Algunos metabolitos mostraron patrones consistentes entre los tratamientos. Met494, Met850 y Met1112 disminuyeron en Armando y Cauca, y aumentaron en Dulce Hogar y Villa Laura, evidenciando respuestas dependientes de la composición del microbioma. Este patrón indica efectos funcionales similares generados por comunidades microbianas distintas.

Comparación entre tratamientos vs control

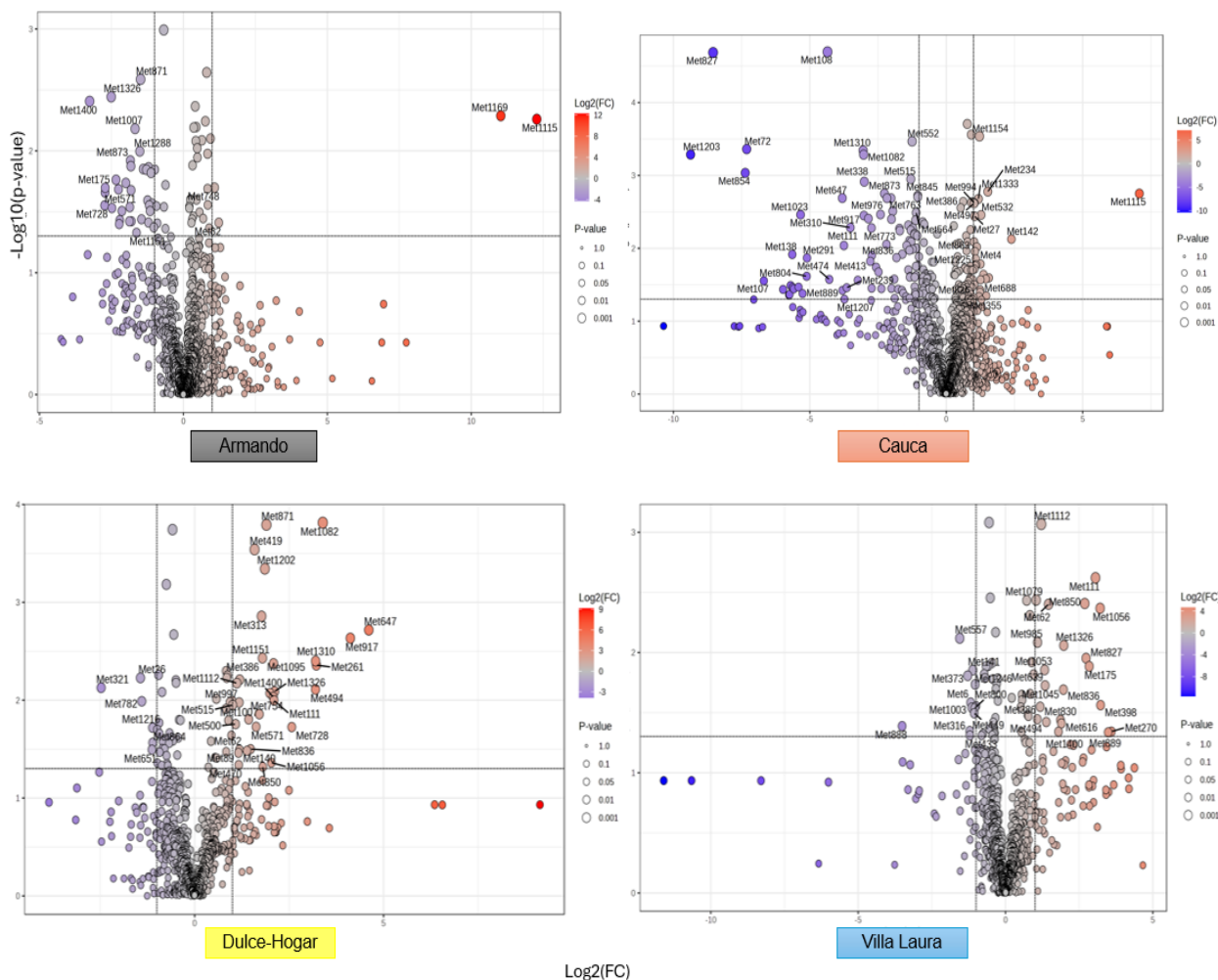


Figura 9. Volcano plots de los metabolitos diferencialmente abundantes en hojas de albahaca entre los tratamientos y el control. Los puntos representan metabolitos; el color indica el valor de $\log_2\text{FC}$ y el tamaño del punto, el p-valor.

Los metabolitos anotados corresponden principalmente a compuestos del metabolismo secundario, incluidos compuestos fenólicos, alcaloides, péptidos, terpenoides y cumarinas. Los metabolitos anotados corresponden principalmente a compuestos del metabolismo secundario, incluidos compuestos fenólicos, alcaloides, péptidos, terpenoides y cumarinas. En el tratamiento Cauca, que mostró una sólida separación en PLS-DA y una mayor diversidad de metabolitos diferencialmente expresados, se destacaron compuestos como Benzaldehído (Met1023, Met1118), Versiconal (Met348), Panchovillín (Met310), y el alcaloide Floribundina (Met494). Además, se identificaron compuestos de tipo cumarínico como 8-hidroxi-2H-cromen-2-one (Met536), así como el péptido Pro-Tyr-His (Met647) y el disulfuro Captopril-cysteine disulfide (Met314).

En Dulce_Hogar, se observó una mayor proporción de metabolitos con abundancia aumentada en comparación con el control. Entre los compuestos anotados figuran Valerianina (Met1202), Val-His-Tyr (Met1095), 3-Metilsalicilaldehído (Met1112), y nuevamente Floribundina (Met494), común a varios tratamientos. También se identificaron compuestos bioactivos como Tephrocarpín (Met836),

así como péptidos regulados como Lys-Trp-OH (Met261) y Pro-Tyr-His (Met647, Met917), lo cual podría estar asociado a respuestas de defensa o de señalización inducidas por la microbiota.

Para el tratamiento Villa_Laura, los metabolitos diferencialmente expresados incluyeron el alcaloide Theophylline (Met850), la cumarina 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-6,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one (Met175) y, nuevamente, Tephrocarpin (Met836), lo cual indica que ciertos compuestos bioactivos son modulados por más de un tratamiento. También se identificaron lípidos del tipo fosfatidilserina (Met62, Met639) y compuestos oxigenados de estructura compleja, como 14-O-acetylinsulicolide A (Met1056).

En Armando, aunque el modelo PLS-DA no fue predictivo, se identificaron algunos metabolitos de interés como Hydroxy-gamma-sanshool (Met1400), Piperidolate (Met1326), y nuevamente Floribundine (Met494), junto con aminoácidos modificados y péptidos como Val-Pro-Ala (Met1151) y Trp-Arg-Met (Met313). Sin embargo, dada la baja capacidad predictiva del modelo, estos resultados deben interpretarse con cautela.

Estos resultados sugieren que la inoculación con microbiota proveniente de diferentes suelos induce respuestas metabólicas específicas en la albahaca, evidenciadas por la presencia de metabolitos únicos en los tratamientos. Algunos metabolitos (por ejemplo, Met494 (Floribundine), Met850 (Theophylline) y Met1112 (3-Methylsalicylaldehyde)) subieron o bajaron en todos los tratamientos, sugiriendo que los microbiomas de suelo contenían todos los mismos microorganismos, o que diferentes microorganismos en todos los suelos tenían las mismas funciones fisiológicas (p. ej., fijación de nitrógeno). Estos metabolitos, seleccionados por su relevancia estadística y biológica, se emplearon en la siguiente fase del estudio, destinada a explorar posibles correlaciones con los perfiles microbianos previamente caracterizados.

9.1.3. Correlaciones entre comunidades microbianas y metabolitos

Las asociaciones entre OTUs microbianas y metabolitos se evaluaron mediante correlaciones de Spearman calculadas a nivel de muestra individual, utilizando matrices alineadas por identificador de muestra (intersección y en el mismo orden) e incorporando todas las réplicas de todos los tratamientos y del control. En consecuencia, las correlaciones reflejan patrones de covariación entre abundancias normalizadas de OTUs y metabolitos a lo largo del conjunto completo de muestras y no corresponden a promedios por tratamiento ni a contrastes directos tratamiento-control.

El mapa de calor evidenció una estructura modular en las correlaciones microorganismo-metabolito (Figura 10), con agrupamientos definidos tanto de OTUs como de metabolitos según la similitud de sus perfiles de asociación. Se observaron bloques de correlaciones positivas ($p > 0$) y negativas ($p < 0$), indicando que subconjuntos de OTUs co-varían de manera consistente con conjuntos específicos de metabolitos.

En la rizosfera, varias OTUs bacterianas enriquecidas en tratamientos inoculados, como BactOTU33 (*Pseudomonas delhiensis*), BactOTU335 (*Dyadobacter soli*) y BactOTU270 (*Fimbriimonas ginsengisoli*), presentaron correlaciones positivas con metabolitos específicos, lo que sugiere una asociación directa entre su abundancia y la acumulación de compuestos químicos particulares en las hojas. En contraste, otras OTUs bacterianas, como BactOTU62 (*Flavobacterium succinicans*) y BactOTU204 (*Noviherbaspirillum malthae*), mostraron correlaciones negativas con varios metabolitos, lo que sugiere relaciones potencialmente inversas entre estos microorganismos y determinadas rutas metabólicas.

En el caso de los hongos, OTUs como FungiOTU11 (*Pichia eremophila*) y FungiOTU64 (*Fusarium suttonianum*) mostraron correlaciones significativas, tanto positivas como negativas, con múltiples metabolitos, lo que sugiere un papel relevante de las comunidades fúngicas en la modulación del perfil químico de la planta. Estas asociaciones fueron consistentes con los patrones de enriquecimiento y reducción observados previamente en los análisis de abundancia diferencial.

En este análisis se resaltaron únicamente las asociaciones que cumplieron los umbrales de significancia y de tamaño de efecto ($p \leq 0.01$; $|\rho| \geq 0.35$), lo que permitió enfocar la interpretación en las relaciones robustas entre microbioma y metaboloma.

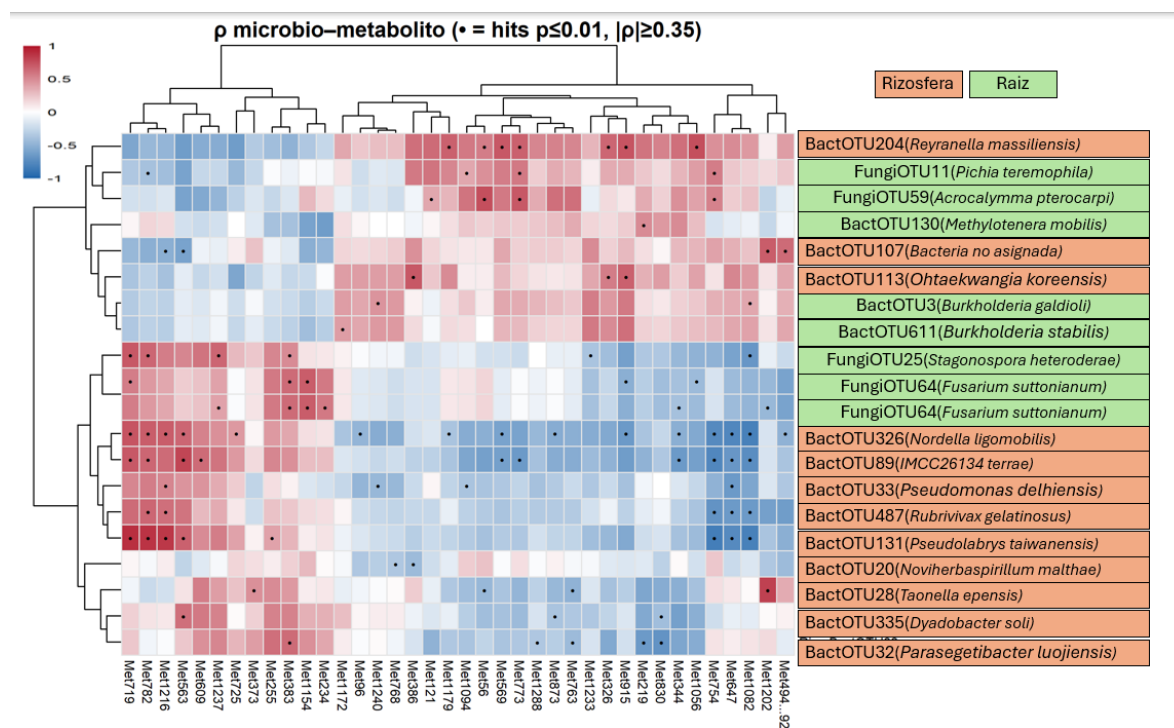


Figura 10. Mapa de calor de las correlaciones de Spearman (ρ) entre OTUs microbianas y metabolitos en albahaca. Las correlaciones se calcularon a nivel de muestra individual, utilizando abundancias normalizadas, integrando todas las muestras de los tratamientos y del control. Los colores representan el coeficiente ρ (rojo: correlación positiva; azul: correlación negativa) y los dendrogramas muestran el agrupamiento jerárquico de OTUs (filas) y metabolitos (columnas) según la similitud de sus patrones de correlación. Los puntos (•) indican pares OTU-metabolito que cumplen los criterios de reporte $p \leq 0.01$ y $|\rho| \geq 0.35$.

Con el fin de complementar los patrones de asociación identificados en el mapa de calor, se construyó una red de correlaciones microorganismo-metabolito que permitió visualizar de manera integrada la estructura y la complejidad de estas interacciones (Figura 11). La red se basó en correlaciones de Spearman calculadas a nivel de muestra individual, utilizando todas las muestras de todos los tratamientos y del control, e incorporó únicamente OTUs microbianos y metabolitos previamente seleccionados como significativos.

La red evidenció interacciones específicas entre determinados microorganismos y metabolitos. Por ejemplo, la OTU bacteriana Rizo-BactOTU33 (*Pseudomonas delhiensis*) mostró correlaciones negativas con los metabolitos Met725 (flavonoide glicosilado: 5,4'-Dihydroxy-6-C-prenylflavanone 4'-xylosyl-(1→2)-rhamnoside), Met873 (derivado bilirrubínico: Bilirubin beta-diglucuronide) y Met1154

(ácido fenólico: 3,4-Methylenedioxybenzoic acid), mientras que presentó correlaciones positivas con Met234 (antibiótico: Rifamycin Z) y Met1216 (lípidos: Linolenic Acid ethyl ester), sugiriendo una relación diferencial con distintos grupos de compuestos.

De manera similar, Rizo-BactOTU335 (*Dyadobacter soli*) se correlacionó negativamente con Met569 (no identificado) y Met782 (derivado de dihidropiridina nitrada: 5-((2-hydroxy-2-methylpropoxy)carbonyl)-2-(hydroxymethyl)-6-methyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxylic acid), y positivamente con Met1094 (derivado bilirrubínico: Mono(glucosyluronic acid)bilirubin) y Met1202 (alcaloide: Valerianine), lo que indica asociaciones consistentes, pero de signo opuesto dependiendo del metabolito.

Otras OTUs bacterianas, como Rizo-BactOTU131 (*Paraburkholderia taiwanensis*) y Rizo-BactOTU487 (*Rhodocyclus gelatinosus*), mostraron correlaciones negativas predominantes con metabolitos como Met386 (no identificado) y Met326 (lípidos tipo fosfatidato: PA(20:3(8Z,11Z,14Z)-2OH(5,6)/12:0)). En contraste, Rizo-BactOTU204 (*Nocardioides malthae*) presentó correlaciones positivas con Met754 (compuesto volátil aromático: Vinyl toluene) y Met1288 (péptido modificado nitrogenado: 2-amino-4-({1-[(carboxymethyl)-C-hydroxycarbonimidoyl]-2-[(2-hydroxy-3-oxo-1-phenylpropyl)sulfanyl]ethyl}-C-hydroxycarbonimidoyl)butanoic acid).

En el caso de los hongos, las OTUs asociadas a la raíz presentaron asociaciones más específicas. Raiz-FungiOTU11 (*Pichia eremophil*) se correlacionó positivamente con Met569 (no identificado) y Met1094 (derivado bilirrubínico), mientras que Raiz-FungiOTU25 mostró correlaciones positivas con Met754 (Vinyl toluene) y negativas con Met915 (no identificado). Asimismo, Raiz-FungiOTU59 (*Alternaria pterocarp*) presentó correlaciones positivas con Met1216 (Linolenic Acid ethyl ester) y Met234 (Rifamycin Z), lo que sugiere posibles vínculos funcionales entre estos hongos y rutas metabólicas específicas durante la fermentación.

Red de correlaciones
Aristas: $p \leq 0.01$ & $|p| \geq 0.35$

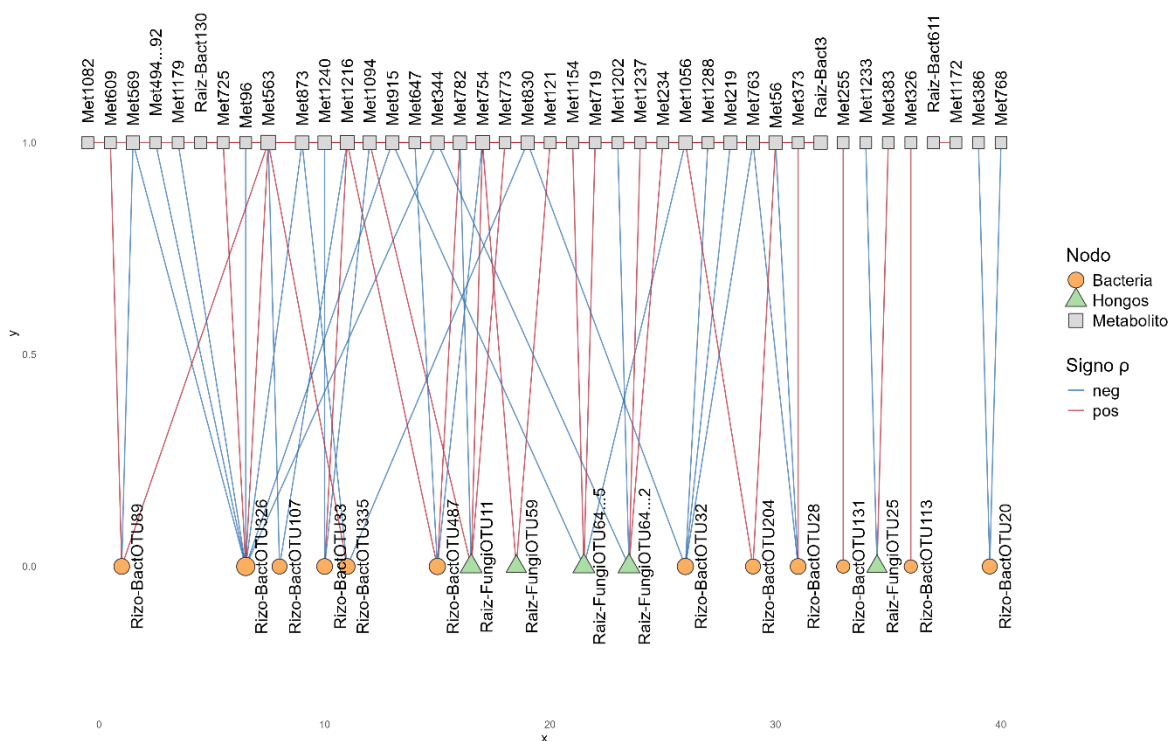


Figura 11. Red de correlaciones microorganismo–metabolito en plantas de albahaca. Los nodos circulares representan microorganismos (bacterias en naranja, hongos en verde), y los nodos cuadrados corresponden a metabolitos. Las líneas indican correlaciones, donde el color azul representa correlaciones negativas, y el color rojo, positivas. El grosor de las aristas es proporcional al valor absoluto de ρ .

Tabla 2. Correlaciones microorganismo–metabolito en albahaca con significancia estadística exploratoria.

Otu_ID	Género y especie (tentativo)	ID Metabolito	Identificación tentativa del metabolito	rho	p	q
Rizo-BactOTU487	<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	Met782	5-((2-hydroxy-2-methylpropoxy)carbonyl)-2-(hydroxymethyl)-6-methyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxylic acid	0.66	8E-06	0.0260
Rizo-BactOTU131	<i>Pseudolabrys taiwanensis</i>	Met255	No match	0.41	1E-04	0.0589
Rizo-BactOTU326	<i>Nordella ligomobilis</i>	Met569	No match	-0.60	2E-04	0.0589
Raiz-Bact130	<i>Methylothermobacter mobilis</i>	Met219	p-coumaroyltriacytic acid lactone	0.50	3E-04	0.0702
Raiz-FungiOTU11	<i>Pichia eremophila</i>	Met754	Vinyl toluene	0.55	3E-04	0.0702
Raiz-FungiOTU11	<i>Pichia eremophila</i>	Met782	5-((2-hydroxy-2-methylpropoxy)carbonyl)-2-	-0.39	3E-04	0.0709

Otu_ID	Género y especie (tentativo)	ID Metabolito	Identificación tentativa del metabolito	rho	p	q
			(hydroxymethyl)-6-methyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxylic acid			
Raiz-FungiOTU25	<i>Stagonospora heteroderae</i>	Met1233	5-Nitro-2-(3-phenylpropylamino)benzoic acid	-0.38	5E-04	0.0913
Rizo-BactOTU335	<i>Dyadobacter soli</i>	Met873	Bilirubin beta-diglucuronide	-0.37	5E-04	0.0927
Rizo-BactOTU89	<i>IMCC26134 terrae</i>	Met569	No match	-0.62	6E-04	0.1019
Rizo-BactOTU326	<i>Nordella ligomobilis</i>	Met344	Kaempferol 3-[6"-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)glucoside]-7-glucoside	-0.51	7E-04	0.1075
Rizo-BactOTU487	<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	Met1216	Linolenic Acid ethyl ester	0.61	9E-04	0.1179
Rizo-BactOTU326	<i>Nordella ligomobilis</i>	Met873	Bilirubin beta-diglucuronide	-0.54	9E-04	0.1179
Rizo-BactOTU326	<i>Nordella ligomobilis</i>	Met725	5,4'-Dihydroxy-6-C-prenylflavanone 4'-xylosyl-(1->2)-rhamnoside	0.44	1E-03	0.1237
Raiz-FungiOTU11	<i>Pichia eremophila</i>	Met1094	Mono(glucosyluronic acid)bilirubin	0.37	1E-03	0.1237
Rizo-BactOTU487	<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	Met754	Vinyl toluene	-0.68	2E-03	0.1361
Rizo-BactOTU28	<i>Taonella epensis</i>	Met763	Bromelain	-0.50	2E-03	0.1706
Raiz-Bact3	<i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia gladioli</i>	Met1240	Haloaromatic compound	0.45	3E-03	0.1764
Rizo-BactOTU107	<i>Bacteria no asignada</i>	Met1216	Linolenic Acid ethyl ester	-0.51	3E-03	0.1804
Raiz-FungiOTU64	<i>Fusarium suttonianum</i>	Met1056	14-O-acetylinsulicolide A	-0.44	3E-03	0.1853
Raiz-FungiOTU59	<i>Acrocalymma pterocarp</i>	Met754	Vinyl toluene	0.54	4E-03	0.1860
Raiz-FungiOTU64	<i>Fusarium suttonianum</i>	Met1154	3,4-Methylenedioxybenzoic acid	0.70	4E-03	0.1860
Rizo-BactOTU204	<i>Reyranella massiliensis</i>	Met1056	14-O-acetylinsulicolide A	0.75	1E-02	0.2194

Con el fin de evaluar la correspondencia entre la estructura de las comunidades microbianas y el perfil metabolómico de las hojas de albahaca, se construyeron tanglegramas independientes para los compartimentos de raíz (Figura 12A) y rizosfera (Figura 12B), utilizando datos de abundancia relativa de OTUs bacterianas y fúngicas, junto con metabolitos diferencialmente abundantes previamente seleccionados y normalizados. Los metabolitos en hojas de albaca formaron dos agrupaciones principales: una de los controles con hojas de Villa-Laura y otra del resto de los tratamientos, sin organización (Figura 12). Los microbiomas dentro del compartimento de raíces de albaca (Figura 12A), no formaron agrupaciones tan profundas como los metabolitos, pero los controles, Villa-Laura, Armando y Cauca sí salieron juntos. En contraste con las raíces, entre las agrupaciones de microbiomas de rizosfera (Figura 12B) se observaron agrupaciones más profundas de Villa-Laura y de los controles, que concordaban con las agrupaciones profundas de los

metabolitos de estas mismas muestras. Esto sugiere que, en albahaca, los microbiomas de rizosfera fueron más sensibles a la inoculación que las raíces, y que tenían más influencia sobre el metaboloma de las hojas. Por tener microbiomas y metabolomas similares a los de los controles, las plantas inoculadas con suelo de Villa-Laura parecen haber recibido muy pocos microorganismos, lo cual podría explicarse si el suelo de Villa-Laura estaba casi estéril al momento de la inoculación. En contraste, la inoculación con los suelos Cauca, Armando y Dulce-Hogar no resultó en agrupaciones fuertísimas de microbiomas o metabolomas, sugiriendo que la mayoría de lo que había en estos suelos fueron microorganismos cosmopolitas.

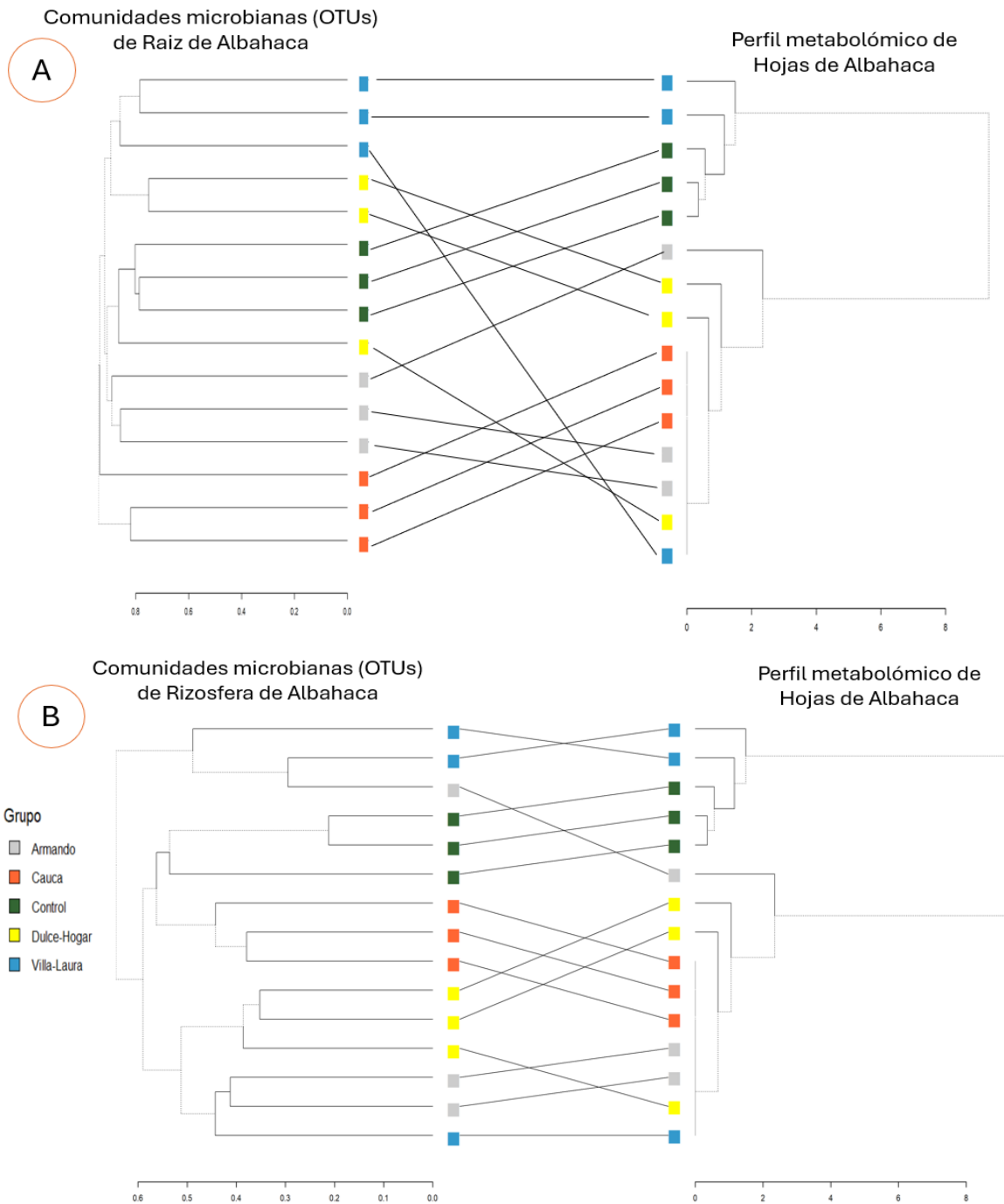


Figura 12. Los tanglegramas muestran la correspondencia entre los dendrogramas jerárquicos construidos a partir de todas las OTUs microbianas de la raíz de albahaca (A) y de la rizosfera (B), y del conjunto completo de metabolitos detectados en las hojas de albahaca. Los dendrogramas se generaron a partir de distancias de Bray–Curtis a partir de matrices de abundancia relativa de OTUs y de datos metabolómicos normalizados por suma. Las líneas conectan las mismas muestras en ambos dendrogramas, mientras que los colores indican los distintos tratamientos (Armando, Cauca, Control, Dulce Hogar y Villa-Laura).

9.2. Tomate

9.2.1. Composición y variación de comunidades microbianas en raíz y rizósfera de tomate según tratamiento del suelo

La estructura de las comunidades bacterianas y fúngicas asociadas a la raíz y la rizosfera de *Solanum lycopersicum* fue evaluada mediante análisis de componentes principales (PCA) a partir de las abundancias relativas combinadas de los datos de 16S rRNA e ITS. En ambos compartimentos se observó una clara diferenciación entre los tratamientos según el origen del inoculante edáfico (Figura 13). En el compartimento radicular, los dos primeros componentes principales explicaron conjuntamente el 39.75% de la variación total (Dim1 = 16.23%; Dim2 = 23.52%). La distribución de las muestras en el espacio multivariado evidenció agrupamientos consistentes por tratamiento, con una separación visible entre los distintos suelos inoculados. Particularmente importante es notar que las muestras de raíces sin inóculo (control) se toman lejos del resto, con la excepción de Villa-Laura. El análisis PERMANOVA confirmó que estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($R^2 = 0.50$; $F = 2.52$; $p = 0.001$), lo que indica que el 45% de la variación en la composición microbiana radicular puede atribuirse al tratamiento aplicado.

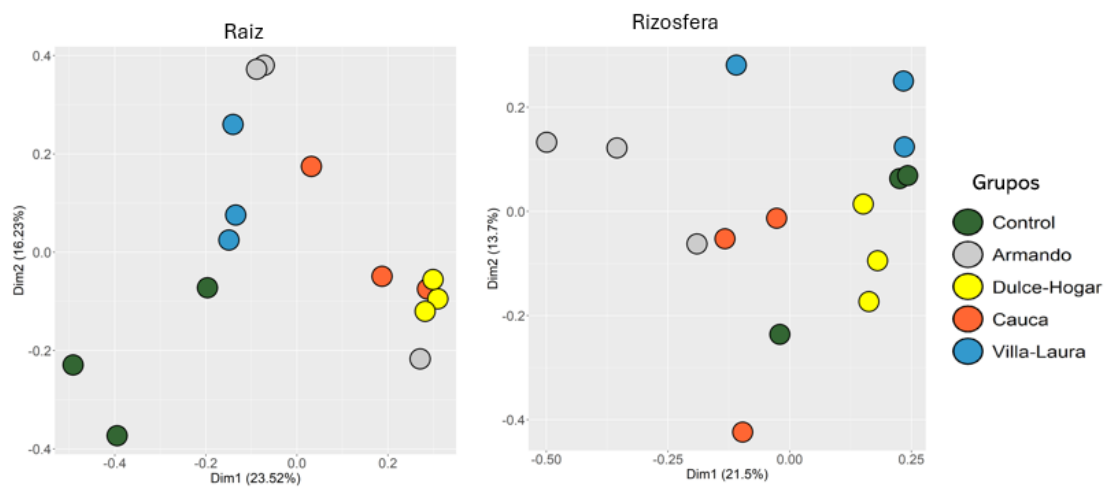
En la rizosfera, los dos primeros componentes principales explicaron el 25.46% de la variación total (Dim1 = 13.7%; Dim2 = 21.5%). De manera similar a lo observado en la raíz, se observaron agrupamientos diferenciados entre los tratamientos. Particularmente importante es notar que las muestras de rizosferas sin inóculo (control) no se separan bien de las rizosferas de Villa-Laura, Dulce-Hogar o Cauca. El análisis PERMANOVA indicó un efecto significativo del origen del suelo sobre la estructura comunitaria rizosférica ($R^2 = 0.44$; $F = 1.94$; $p = 0.001$), lo que explica el 35.2% de la variación total.

La caracterización taxonómica a nivel de phylum reveló diferencias notables en la composición microbiana entre los tratamientos de suelo, además, se calculó el índice de diversidad de Shannon para evaluar la diversidad alfa de las comunidades bacterianas (16S) y fúngicas (ITS) en raíz y rizósfera (Figura 14).

En general, las bacterias estuvieron dominadas por los phyla Proteobacteria, Actinobacteriota, Firmicutes y Bacteroidota, aunque su abundancia relativa varió según el tratamiento y el compartimento. En la raíz, Proteobacteria fue el phylum dominante en todos los tratamientos, con una mayor proporción en Dulce_Hogar y Cauca, mientras que Actinobacteriota y Firmicutes mostraron una presencia destacada en Villa_Laura y Armando. En la rizósfera, Proteobacteria también prevaleció, especialmente en Dulce_Hogar y Cauca, mientras que Verrucomicroorganismota y Gemmatimonadota estuvieron más representadas en Control y Villa_Laura, lo que indica diferencias en la estructuración del microbioma edáfico.

En cuanto a la taxonomía de los hongos, se observó un predominio generalizado de los phyla Ascomycota y Basidiomycota, seguidos, en menor proporción, por Mortierellomycota y por grupos no clasificados. En la raíz, Ascomycota presentó una alta abundancia relativa en los tratamientos Cauca, Dulce_Hogar y Armando, mientras que Basidiomycota fue más abundante en los tratamientos Control y Villa_Laura. En la rizósfera, Ascomycota se mantuvo como el grupo dominante en todos los tratamientos, aunque con variaciones en su proporción, destacando un enriquecimiento en Dulce_Hogar. También se identificaron varios phyla fúngicos no clasificados con baja abundancia relativa, cuya presencia puede reflejar una diversidad fúngica aún poco caracterizada en estos suelos agrícolas.

Análisis PCA de comunidades bacterianas y fúngicas en raíz y rizosfera en Tomate



Parte	R ²	F	P-valor	Sig
Raiz	0.50	2.52	0.001	***
Rizosfera	0.44	1.94	0.001	***

Figura 13. Análisis de Componentes Principales (PCA) de las comunidades bacterianas (16S) y fúngicas (ITS) en la raíz y la rizósfera del tomate bajo diferentes tratamientos de suelo (Control, Armando, Dulce_Hogar, Cauca y Villa_Laura). Cada punto representa una muestra individual. Las gráficas muestran una separación entre los tratamientos, lo que indica cambios en la estructura de las comunidades microbianas. Los valores de R², el estadístico F y los p-valores provienen de un análisis PERMANOVA, lo que evidencia diferencias significativas en la composición microbiana entre los tratamientos ($p < 0.01$ en todos los casos).

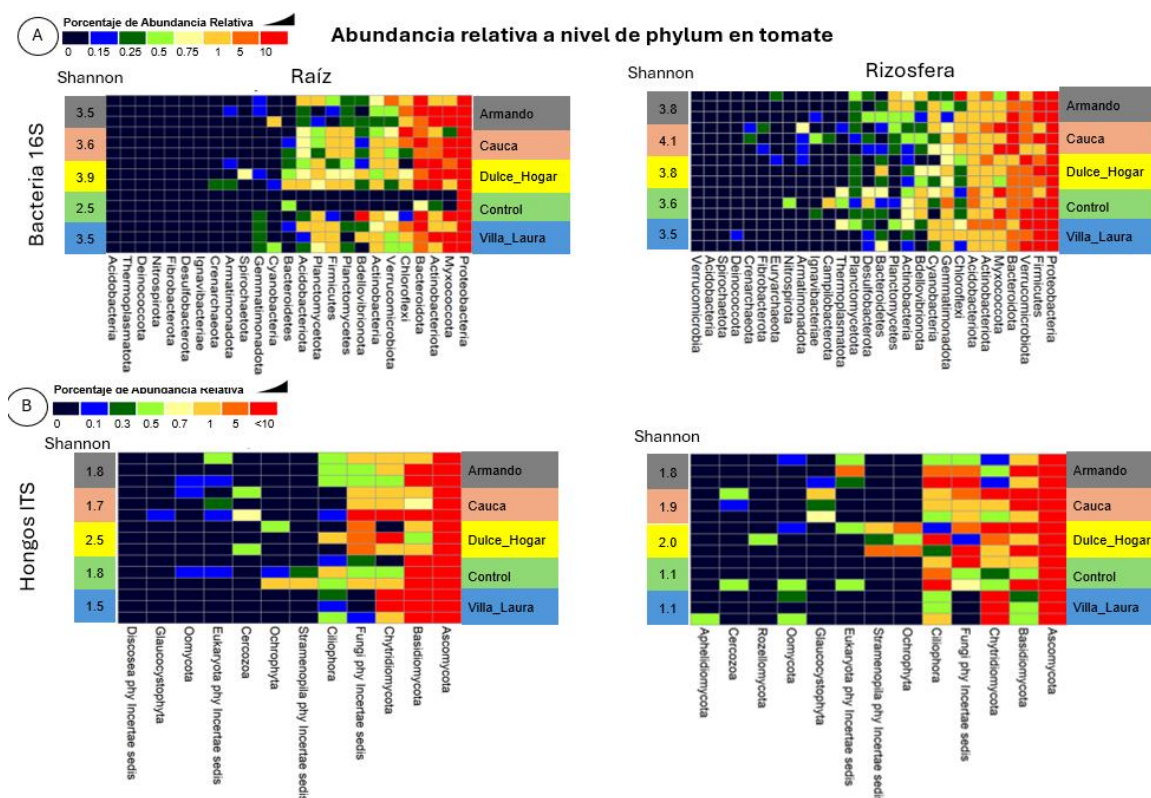


Figura 14. Abundancia relativa de bacterias (A) y hongos (B) a nivel de phylum en muestras de raíz y rizósfera de tomate bajo cinco tratamientos de suelo (Armando, Cauca, Dulce_Hogar, Control y Villa_Laura). Los mapas de calor muestran los porcentajes de abundancia relativa por muestra, codificados por color según la escala.

Usando mapas de calor para visualizar la abundancia relativa de microbiomas a nivel de OTU permitió observar diferencias más específicas en la estructura de las comunidades en raíz y rizósfera de tomate (Figura 15). En las comunidades bacterianas asociadas a la raíz (16S), se observó una alta diversidad de OTUs distribuidas en todos los tratamientos, sugiriendo que muchas bacterias son transmitidas por semilla y quizás también que mucha contaminación podría existir en el cuarto de crecimiento (ejemplo. polvo, movimiento de insectos, etc). El análisis de diversidad alfa mostró que el tratamiento Dulce Hogar presentó el mayor índice de Shannon ($H' = 3.9$), seguido de Cauca ($H' = 3.6$), Villa Laura ($H' = 3.5$) y Armando ($H' = 3.5$), mientras que el control presentó el menor valor de diversidad ($H' = 2.5$) (Figura 14). Estos resultados indican que la inoculación con microbiota de diferentes suelos promovió comunidades bacterianas más diversas que las del control. El análisis de abundancia relativa mostró que el control presentó una alta dominancia de unas pocas OTUs, con abundancias relativas superiores al 40 %, mientras que los tratamientos inoculados, particularmente Dulce Hogar y Cauca, mostraron una distribución más equitativa de las abundancias relativas entre las OTUs, lo que explica sus mayores valores de diversidad.

El análisis de OTUs permitió identificar un conjunto de OTUs asociadas principalmente a las raíces inoculadas, como BactOTU734 y BactOTU726 (*Xanthomonas*), BactOTU851 y BactOTU56 (*Pseudomonas*), BactOTU829 y BactOTU494 (*Burkholderia*), BactOTU97 (*Pantoea*), BactOTU657 (*Noviherbaspirillum*), BactOTU87 (*Lysobacter*), BactOTU826 (*Stenotrophomonas*) y BactOTU203 (*Acinetobacter*), lo que sugiere que la inoculación con estos diferentes suelos puede introduce nuevos microorganismos a la raíz y modificar la estructura de la comunidad microbiana.

En las comunidades bacterianas de la rizósfera (16S), se observó una alta riqueza y diversidad de OTUs en todos los tratamientos. El índice de diversidad de Shannon mostró valores relativamente altos en la rizósfera en comparación con la raíz, lo que indica una comunidad microbiana más diversa en este compartimento. Los tratamientos inoculados, particularmente Dulce Hogar ($H' = 3.8$) y Cauca ($H' = 4.1$), presentaron valores de diversidad superiores a los del control ($H' = 3.6$), lo que sugiere que la inoculación con microbiota de diferentes suelos incrementa la diversidad microbiana en la rizósfera (Figura 14).

El análisis de abundancia relativa a nivel de OTU mostró que la comunidad bacteriana de la rizósfera estuvo compuesta por un número reducido de OTUs dominantes, con abundancias relativas superiores al 20 % en algunas muestras, y un gran número de OTUs de baja abundancia relativa (< 1 %), lo que indica una comunidad altamente diversa, pero con dominancia de ciertos taxones. Este patrón es característico de las comunidades microbianas del suelo y de la rizósfera.

El análisis de OTUs compartidas reveló la presencia de un conjunto de OTUs que aumentaron de forma significativa en los tratamientos inoculados, incluyendo BactOTU851 (*Pseudomonas*), BactOTU829 (*Burkholderia*), BactOTU726 (*Xanthomonas*), BactOTU740 (*Stenotrophomonas*), BactOTU87 (*Lysobacter*) y BactOTU657 (*Noviherbaspirillum*). Aunque estas OTUs también estuvieron presentes en el control, su abundancia relativa fue mayor en los tratamientos inoculados, lo que sugiere que la inoculación con microbiota de diferentes suelos no solo introduce nuevos microorganismos, sino que también modifica la abundancia relativa de los microorganismos presentes, alterando la estructura de la comunidad microbiana de la rizósfera.

El análisis de las comunidades fúngicas asociadas a la raíz reveló diferencias en la composición y la abundancia relativa de OTUs entre los tratamientos de inoculación y el control. En general, la comunidad fúngica estuvo compuesta por un número reducido de OTUs dominantes y un gran número de OTUs de baja abundancia relativa, lo que indica una estructura comunitaria desigual típica de microbiomas endofíticos radiculares. Los valores de Shannon fueron menores que los de las bacterias. En la raíz, el tratamiento Dulce Hogar presentó la mayor diversidad fúngica ($H' = 2.5$), mientras que Villa Laura presentó la menor ($H' = 1.5$), y las raíces del tratamiento Control presentaron un valor de $H' = 1.8$. En rizósfera, Dulce Hogar y Cauca mostraron los valores más altos de diversidad ($H' = 2.0$ y 1.9 , respectivamente), mientras que el control y Villa Laura presentaron los valores más bajos ($H' = 1.1$). Estos resultados sugieren que los tratamientos de suelo aumentaron la diversidad microbiana tanto en la raíz como en la rizósfera (Figura 14).

En el análisis de la comunidad fúngica se identificaron OTUs presentes principalmente en los tratamientos inoculados y ausentes o con muy baja abundancia en el control. Entre estas se encontraron OTUs afiliadas a géneros como *Fusarium* (FungiOTU96), *Alternaria* (FungiOTU144), *Curvularia* (FungiOTU181), *Diaporthe* (FungiOTU14), *Septoria* (FungiOTU132) y *Pythium* (FungiOTU168), que incluyen especies reportadas como fitopatógenas. Estas OTUs se detectaron principalmente en los tratamientos Cauca, Dulce_Hogar y Villa_Laura, lo que sugiere que la inoculación con microbiota de suelo introdujo o favoreció la proliferación de estos hongos en la raíz.

También se identificaron hongos conocidos como biocontroladores y promotores del crecimiento vegetal, incluyendo OTUs asociadas a *Trichoderma* (FungiOTU62), *Purpureocillium* (FungiOTU40), *Penicillium* (FungiOTU11), *Talaromyces* (FungiOTU164) y *Chaetomium* (FungiOTU333). Estos solo se identificaron en los tratamientos inoculados de suelo, sugiriendo que podrían ayudar el crecimiento de la planta.

El análisis de la abundancia relativa de OTUs fúngicas en la rizosfera reveló diferencias en la estructura de la comunidad entre los tratamientos de suelo. En particular, *Trichoderma* fue más abundante en los tratamientos Cauca, Dulce_Hogar y Villa_Laura; *Purpureocillium* en Dulce_Hogar;

Talaromyces en Villa_Laura; y Chaetomium en Cauca, lo que sugiere que cada suelo inoculado aportó microorganismos benéficos específicos de la rizósfera. Asimismo, se identificaron OTUs asociadas a hongos potencialmente fitopatógenos, como *Fusarium* (FungiOTU96), *Alternaria* (FungiOTU144), *Curvularia* (FungiOTU181), *Diaporthe* (FungiOTU14), *Septoria* (FungiOTU132) y *Pythium* (FungiOTU168), las cuales se encontraron principalmente en los tratamientos inoculados y en menor abundancia en el control.

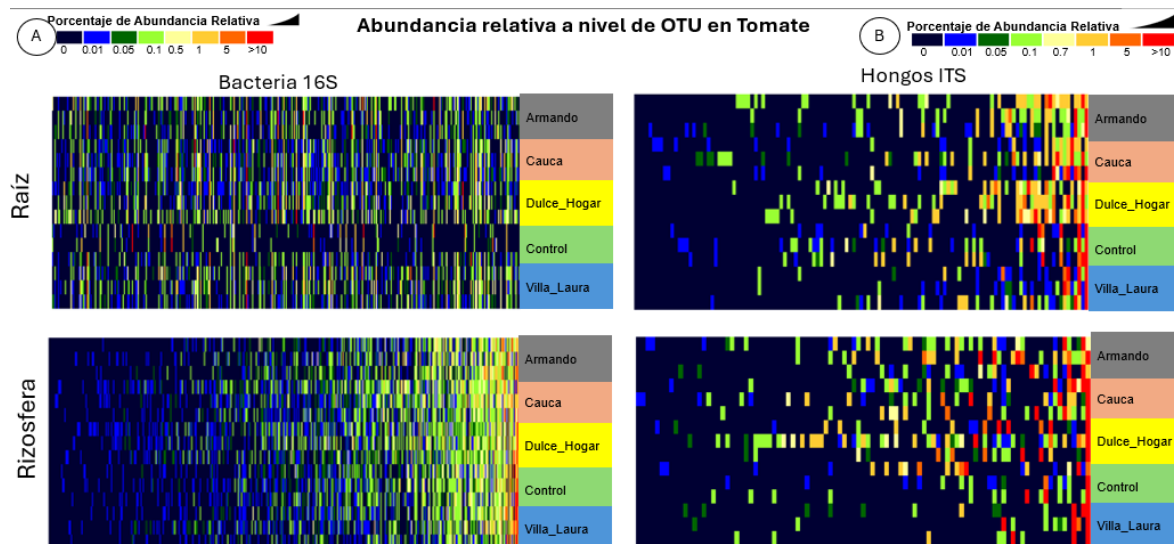


Figura 15. Abundancia relativa de OTUs bacterianas (A) y fúngicas (B) en muestras de raíz y rizósfera de tomate bajo cinco tratamientos de suelo (Armando, Cauca, Dulce_Hogar, Control y Villa_Laura). Cada fila representa una muestra y cada columna una OTU. Los colores indican el porcentaje de abundancia relativa, codificado según las escalas mostradas (azul: baja abundancia, rojo: alta abundancia).

El análisis de OTUs en raíces y rizosferas de tomate que fueron diferencialmente abundantes mediante volcano plot mostró cambios específicos en la abundancia relativa de diversos taxones bacterianos y fúngicos entre tratamientos y compartimentos (Figura 16). En la comunidad bacteriana de raíz, se identificaron varias OTUs enriquecidas de manera significativa en los tratamientos inoculados en comparación con el control. En el tratamiento Armando se enriquecieron OTUs como BactOTU113 (*Ohtaekwangia koreensis*), BactOTU116 (*Zavarzinella caldifontis*) y BactOTU220 (*Haliangium gulosus*), con valores de $\log_2$ fold change entre 7.5 y 10.8 y prevalencias superiores al 40%. En Cauca se observaron OTUs enriquecidas como BactOTU145 (*Rhizobium brasiliensis*), BactOTU154 (*Steroidobacter agariperforans*) y BactOTU305 (*Ishiwatariella tertiaricarbonis*), mientras que en Dulce_Hogar destacaron BactOTU114 (*Actinomadura philippinensis*), BactOTU182 (*Paraburkholderia oxydans*) y BactOTU552 (*Streptomyces hygroscopicus*). En Villa_Laura, la OTU más representativa fue BactOTU326 (*Nocardioides oligomobilis*). En contraste, algunas OTUs, como BactOTU3 (*Burkholderia gladioli*), mostraron valores negativos de $\log_2$ fold change, lo que indica una menor abundancia relativa en comparación con el control.

En la rizósfera también se observaron OTUs diferencialmente abundantes, aunque con una menor magnitud de cambio en comparación con la raíz. En Cauca se enriquecieron OTUs como BactOTU300 (*Aquicola aerophilus*), BactOTU150 (*Luteimonas nigricans*) y BactOTU59 (*Streptomyces stelliscabiei*), mientras que en Dulce_Hogar se observaron incrementos en BactOTU4 (*Thermomonas diaoshuihuensis*), BactOTU10 (*Vibrio diabolicus*) y BactOTU11 (*Vibrio*

cyclitrophicus). En Villa_Laura, algunas OTUs como BactOTU44 (*Pseudomonas mexicana*) y BactOTU311 (*Aromatoleum aromaticivorans*) mostraron cambios negativos significativos, indicando una menor abundancia relativa en este tratamiento.

En la comunidad fúngica de raíz, se detectaron OTUs diferencialmente abundantes en todos los tratamientos, destacando FungiOTU11 (*Pichia eremophila*) y FungiOTU20 (*Coniothyrium sidae*) en Armando y Cauca, así como FungiOTU2 (*Rhizophydiaceae* sp.) y FungiOTU36 (*Spizellomyces punctatus*) en Cauca y Villa_Laura. Asimismo, se identificaron patógenos potenciales como *Corynespora cassiicola* (FungiOTU34) enriquecidos en Cauca, que se incluyó como tratamiento justamente por la posibilidad de contener fitopatógenos que podrían dañar la raíz y alterar el metaboloma de la planta. Los datos completos, incluyendo valores de padj, log₂ fold change, prevalencia y abundancia relativa para cada OTU, se presentan en la Tabla 3.

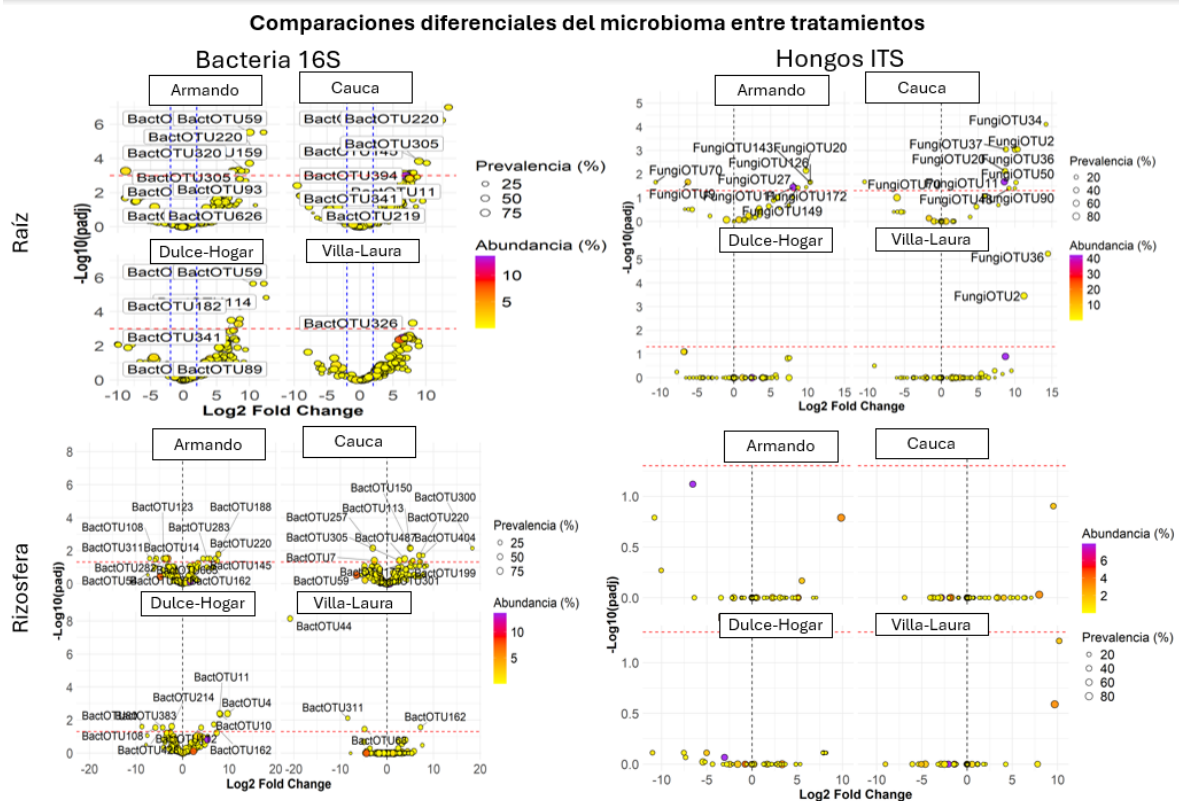


Figura 16. Análisis de abundancia diferencial de las comunidades microbianas asociadas a raíz y rizosfera de tomate mediante gráficos de volcán. Se muestran las comparaciones entre cada tratamiento de inoculación (Armando, Cauca, Dulce Hogar y Villa Laura) frente al control para bacterias (gen 16S rRNA; panel izquierdo) y hongos (región ITS; panel derecho), diferenciando los compartimentos de raíz (panel superior) y rizosfera (panel inferior). El eje X representa el cambio en abundancia expresado como log₂ fold change, mientras que el eje Y corresponde a $-\log_{10}$ del valor ajustado de p (padj). Las líneas verticales discontinuas indican los umbrales de cambio en abundancia, y la línea horizontal discontinua el umbral de significancia estadística. El tamaño de los puntos representa la prevalencia de cada OTU entre las muestras, y el color indica su abundancia relativa promedio.

Tabla 3. OTUs significativamente diferentes en las raíces y la rizósfera del tomate.

OTU	log ₂ FC	padj	Prevalencia	Abundancia	Tratamiento	Parte	Especie
BactOTU113	7.5	0.0005	62	0.9992	Armando	Raiz	<i>Ohtaekwangia koreensis</i>
BactOTU116	10.0	0.0000	61	0.4761	Armando	Raiz	<i>Zavarzinella caldifontis</i>
BactOTU159	10.0	0.0002	50	0.2672	Armando	Raiz	<i>Pseudomonas uvarum</i>
BactOTU220	10.8	0.0000	44	1.1740	Armando	Raiz	<i>Herbaspirillum gulosum</i> [DJM1.1]
BactOTU3	-8.8	0.0005	93	1.7390	Armando	Raiz	<i>Burkholderia gladioli</i>
BactOTU305	8.4	0.0005	63	0.2454	Armando	Raiz	<i>Inquilinus tertiaricarbonis</i>
BactOTU320	9.4	0.0005	24	0.0591	Armando	Raiz	<i>Actinoplanes auranticolor</i>
BactOTU59	12.1	2.9e-06	28	0.6852	Armando	Raiz	<i>Streptomyces stelliscabiei</i>
BactOTU626	8.8	0.0005	29	0.0603	Armando	Raiz	<i>Actinoplanes brasiliensis</i>
BactOTU93	7.6	0.0005	30	0.0514	Armando	Raiz	<i>Luteimonas soli</i>
BactOTU11	7.5	0.0007	51	0.1828	Cauca	Raiz	<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
BactOTU145	10.1	0.0002	33	0.1127	Cauca	Raiz	<i>Rhodococcus brasiliensis</i>
BactOTU154	12.4	0.0000	38	0.4586	Cauca	Raiz	<i>Saprochaete</i> <i>agariperforans</i>
BactOTU219	7.8	0.0007	44	0.1372	Cauca	Raiz	<i>Paenibacillus aureus</i>
BactOTU220	13.4	0.0000	44	1.1740	Cauca	Raiz	<i>Herbaspirillum gulosum</i>
BactOTU305	8.9	0.0001	63	0.2454	Cauca	Raiz	<i>Inquilinus tertiaricarbonis</i>
BactOTU341	6.8	0.0007	54	0.1532	Cauca	Raiz	<i>Lactobacillus parvula</i>
BactOTU394	8.1	0.0007	32	0.1210	Cauca	Raiz	<i>Candidatus Stylophorae</i> <i>stylophorae</i>
BactOTU114	12.5	0.0000	17	0.3800	Dulce- Hogar	Raiz	<i>Actinomadura</i> <i>philippinensis</i>
BactOTU182	8.6	0.0001	41	0.2912	Dulce- Hogar	Raiz	<i>Pseudomonas oxydans</i>
BactOTU341	7.2	0.0003	54	0.1532	Dulce- Hogar	Raiz	<i>Lactobacillus parvula</i>
BactOTU394	8.5	0.0003	32	0.1210	Dulce- Hogar	Raiz	<i>Candidatus Stylophorae</i> <i>stylophorae</i>
BactOTU552	10.5	0.0000	27	0.1246	Dulce- Hogar	Raiz	<i>Streptomyces</i> <i>hygroscopicus</i>
BactOTU59	12.2	0.0000	28	0.6852	Dulce- Hogar	Raiz	<i>Streptomyces stelliscabiei</i>
BactOTU326	8.0	0.0005	59	0.1870	Villa-Laura	Raiz	<i>Novosphingobium</i> <i>oligomobilis</i>
BactOTU282	-5.9	0.0381	14	0.0336	Armando	Rizosfera	<i>Acidovorax ferrireducens</i>
BactOTU665	4.4	0.0304	33	0.0648	Armando	Rizosfera	<i>Streptomyces terrae</i>
BactOTU283	5.3	0.0304	30	0.1099	Armando	Rizosfera	<i>Rhodococcus roseus</i>
BactOTU145	7.5	0.0405	34	0.1156	Armando	Rizosfera	<i>Rhodococcus brasiliensis</i>
BactOTU311	-7.1	0.0290	21	0.0805	Armando	Rizosfera	<i>Alicyclophilus</i> <i>aromaticivorans</i>
BactOTU162	5.9	0.0304	33	0.1424	Armando	Rizosfera	<i>Nocardia amazonensis</i>
BactOTU188	7.0	0.0291	21	0.2389	Armando	Rizosfera	<i>Dyella silviterrae</i>
BactOTU108	-5.7	0.0304	48	0.2679	Armando	Rizosfera	<i>Luteimonas flavescens</i>
BactOTU123	-4.1	0.0291	39	0.3982	Armando	Rizosfera	<i>Lysobacter terrae</i>
BactOTU220	7.7	0.0159	45	1.2033	Armando	Rizosfera	<i>Herbaspirillum gulosum</i>

OTU	log ₂ FC	padj	Prevalencia	Abundancia	Tratamiento	Parte	Especie
BactOTU54	-3.6	0.0304	71	1.0193	Armando	Rizosfera	<i>Methylobacterium extorquens</i>
BactOTU37	-3.6	0.0304	71	1.5693	Armando	Rizosfera	<i>Sulfuritalea denitrificans</i>
BactOTU14	-3.2	0.0291	70	5.2458	Armando	Rizosfera	<i>Herpetosiphon ochraceus</i>
BactOTU300	18.3	0.0071	11	0.0584	Cauca	Rizosfera	<i>Azoarcus aerophilus</i>
BactOTU404	7.8	0.0193	19	0.0377	Cauca	Rizosfera	<i>Thermomonas aquaticum</i>
BactOTU301	7.0	0.0464	20	0.0931	Cauca	Rizosfera	<i>Rubrobacter radiotolerans</i>
BactOTU177	5.6	0.0397	26	0.1005	Cauca	Rizosfera	<i>Nocardia amazonensis</i>
BactOTU199	7.2	0.0464	25	0.1376	Cauca	Rizosfera	<i>Deinococcus nigrescens</i>
BactOTU305	2.7	0.0397	64	0.2513	Cauca	Rizosfera	<i>Inquilinus tertiicarbonis</i>
BactOTU487	3.8	0.0309	65	0.2556	Cauca	Rizosfera	<i>Rhodocyclus gelatinosus</i>
BactOTU150	5.1	0.0071	39	0.2334	Cauca	Rizosfera	<i>Luteibacter nigricans</i>
BactOTU59	5.5	0.0397	29	0.7024	Cauca	Rizosfera	<i>Streptomyces stelliscabiei</i>
BactOTU257	-3.0	0.0071	63	0.6193	Cauca	Rizosfera	<i>Variovorax silvestris</i>
BactOTU113	5.0	0.0071	64	1.0242	Cauca	Rizosfera	<i>Ohtaekwangia koreensis</i>
BactOTU220	6.9	0.0197	45	1.2033	Cauca	Rizosfera	<i>Herbaspirillum gulosum</i>
BactOTU7	-2.7	0.0397	83	0.8358	Cauca	Rizosfera	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
BactOTU428	-4.3	0.0283	31	0.0245	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Ureibacillus thermophilus</i>
BactOTU383	-4.3	0.0283	35	0.0485	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Leclercia aerophila</i>
BactOTU162	6.7	0.0183	33	0.1424	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Nocardia amazonensis</i>
BactOTU108	-5.9	0.0283	48	0.2679	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Luteimonas flavescens</i>
BactOTU214	-2.3	0.0239	58	0.3201	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Marinobacter maritipicum</i>
BactOTU11	7.9	0.0040	53	0.1874	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
BactOTU10	8.1	0.0044	55	0.2306	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Vibrio diabolicus</i>
BactOTU80	-8.7	0.0246	23	0.3106	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Herbaspirillum glycolicum</i>
BactOTU4	9.7	0.0040	69	0.5086	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Thermus diaoshuihuensis</i>
BactOTU112	4.0	0.0283	38	0.0944	Dulce-Hogar	Rizosfera	<i>Bacillus pseudomegaterium</i>
BactOTU311	-8.4	0.0076	21	0.0805	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Alicyclophilus aromaticivorans</i>
BactOTU162	7.2	0.0280	33	0.1424	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Nocardia amazonensis</i>
BactOTU63	-4.8	0.0350	41	0.3764	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Olivibacter tunisiensis</i>
BactOTU44	-20.8	7.20e-09	44	0.2865	Villa-Laura	Rizosfera	<i>Pseudomonas mexicana</i>
FungiOTU11	8.1	0.0359	74	41.5008	Armando	Raiz	<i>Pichia eremophila</i>
FungiOTU9	-6.3	0.0220	55	7.8868	Armando	Raiz	<i>Falcocladium turbinatum</i>
FungiOTU20	9.8	0.0071	49	1.1498	Armando	Raiz	<i>Coniothyrium sidae</i>
FungiOTU27	8.7	0.0359	10	0.4102	Armando	Raiz	<i>Poaceascoma</i> sp.
FungiOTU149	8.7	0.0376	23	0.1072	Armando	Raiz	<i>Stagonosporopsis vannaccii</i>
FungiOTU70	-10.6	0.0220	13	0.4055	Armando	Raiz	<i>Tetracladium</i> sp.

OTU	log ₂ FC	padj	Prevalencia	Abundancia	Tratamiento	Parte	Especie
FungiOTU126	10.4	0.0220	27	0.2276	Armando	Raiz	<i>Trametes menziesii</i>
FungiOTU143	10.3	0.0220	7	0.1137	Armando	Raiz	<i>Papiliotrema leoncinii</i>
FungiOTU172	9.8	0.0359	7	0.0672	Armando	Raiz	<i>Polyporaceae sp.</i>
FungiOTU11	8.5	0.0211	74	41.5008	Cauca	Raiz	<i>Pichia eremophila</i>
FungiOTU20	8.6	0.0074	49	1.1498	Cauca	Raiz	<i>Coniothyrium sidae</i>
FungiOTU34	14.2	7.82e-05	15	1.6296	Cauca	Raiz	<i>Corynespora cassicola</i>
FungiOTU90	10.0	0.0400	9	0.1455	Cauca	Raiz	<i>Knufia sp.</i>
FungiOTU48	9.2	0.0400	20	0.9365	Cauca	Raiz	<i>Ophiosphaerella agrostidis</i>
FungiOTU50	10.1	0.0226	20	0.3836	Cauca	Raiz	<i>Humicola repens</i>
FungiOTU70	-10.5	0.0211	13	0.4055	Cauca	Raiz	<i>Tetracladium sp.</i>
FungiOTU2	10.0	0.0009	68	2.1196	Cauca	Raiz	<i>Rhizophydiaceae sp.</i>
FungiOTU36	10.3	0.0009	41	1.8071	Cauca	Raiz	<i>Spizellomyces punctatus</i>
FungiOTU37	8.8	0.0009	40	1.7471	Cauca	Raiz	<i>Fungi sp.</i>
FungiOTU2	11.2	0.0003	68	2.1196	Villa-Laura	Raiz	<i>Rhizophydiaceae sp.</i>
FungiOTU36	14.5	5.78e-06	41	1.8071	Villa-Laura	Raiz	<i>Spizellomyces punctatus</i>

9.2.2. Perfil metabolómico de frutos de tomate

El análisis multivariado de los perfiles metabolómicos de frutos de tomate mediante PLS-DA permitió identificar diferencias significativas en la composición química asociada a los distintos tratamientos de suelo, en comparación con el control (Figura 17). La separación observada en el espacio de componentes latentes indica que algunos tratamientos indujeron cambios metabolómicos notables en los frutos, mientras que otros mostraron una menor diferenciación.

El tratamiento Dulce_Hogar presentó la separación más clara respecto al control, con un modelo bien ajustado ($R^2 = 0.902$) y una capacidad predictiva aceptable ($Q^2 = 0.206$), lo que sugiere un efecto consistente del tratamiento sobre el metabolismo del fruto. De forma similar, el tratamiento Cauca también evidenció una separación visual clara, respaldada por un valor de $R^2 = 0.776$, aunque con una Q^2 negativa (-0.106), lo que indica un modelo explicativo, pero con menor capacidad de predicción.

En el caso del tratamiento Armando, se observó una separación moderada entre grupos, con $R^2 = 0.721$, pero con Q^2 negativa (-0.441), lo que limita su utilidad para inferencias predictivas. Por su parte, Villa_Laura mostró la menor separación frente al control, con $R^2 = 0.694$ y Q^2 fuertemente negativa (-1.673), lo cual indica baja estabilidad del modelo y escasa confiabilidad para describir patrones metabolómicos robustos en este tratamiento.

Análisis metabolómico de frutos de tomate

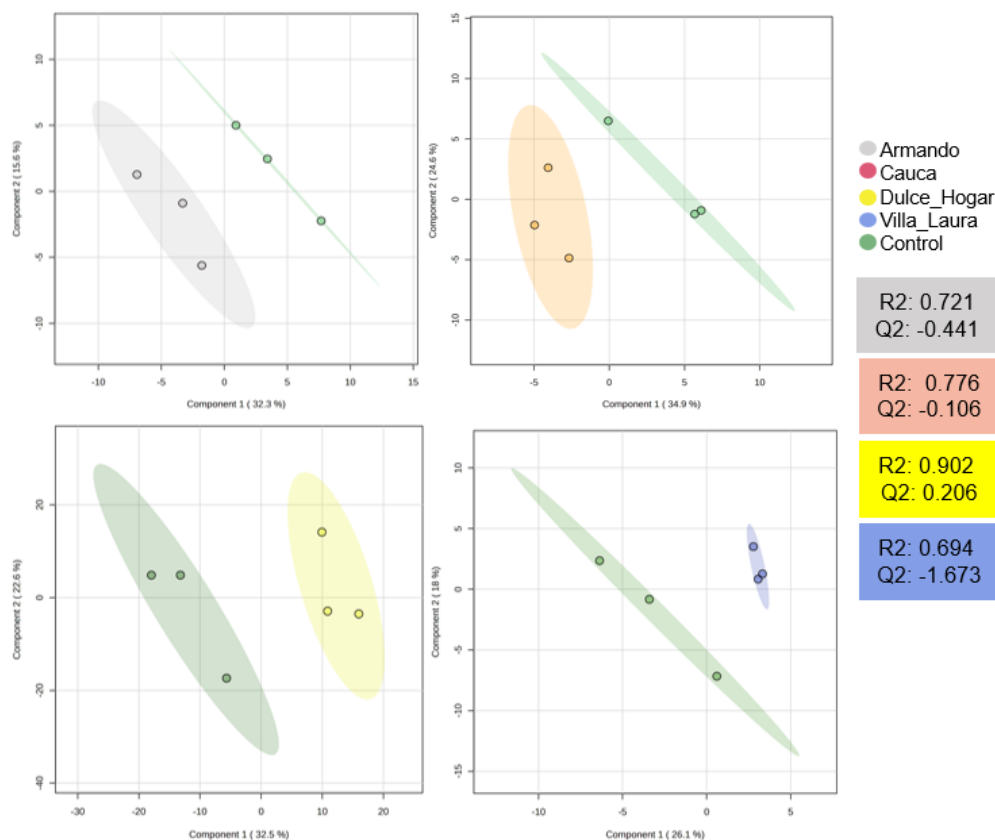


Figura 17. Análisis PLS-DA de perfiles metabolómicos de frutos de tomate cultivados bajo cinco tratamientos de suelo (Armando, Cauca, Dulce_Hogar, Villa_Laura y Control). Cada gráfico compara un tratamiento (color) frente al control (verde). Los modelos muestran el grado de separación entre los grupos en el espacio de componentes latentes, junto con los valores de R^2 (bondad de ajuste) y Q^2 (capacidad predictiva). Se observan separaciones más marcadas en los tratamientos Dulce_Hogar y Cauca, lo que indica una mayor influencia en la composición química del fruto.

Posterior al análisis multivariado, se realizó una evaluación univariado para identificar metabolitos diferencialmente expresados entre tratamientos y el control. Los resultados se presentan en forma de volcano plots (Figura 18), donde se resaltan los metabolitos que cumplen con los criterios de significancia estadística ($p < 0.05$) y de magnitud del cambio respecto al control ($|\log_2 FC| \geq 1$). El mayor número de metabolitos diferencialmente expresados se observó en Dulce Hogar, con 14 metabolitos, seguido de Cauca con 3 y de Armando con 1, mientras que en Villa Laura no se detectaron metabolitos que cumplieran simultáneamente los criterios establecidos. En Dulce Hogar predominó la disminución de metabolitos, incluidos compuestos como Met62, Met268, Met323, Met118 y Met350, asociados principalmente a lípidos, glucósidos fenólicos y saponinas. También se observaron incrementos puntuales, destacándose Met29, que presentó el mayor aumento. En el tratamiento Cauca se identificaron pocos metabolitos diferenciales, entre ellos el aumento de Met386 y la disminución de Met459 y Met218, correspondientes a lípidos, alcaloides y terpenoides. En Armando se observó una disminución de Met322, asociado a los carotenoides, lo que sugiere una alteración de compuestos relacionados con la pigmentación del fruto. La lista completa de metabolitos anotados tentativamente, junto con sus valores de $\log_2 FC$, p y nivel de identificación, se presenta en el anexo 2.

Comparación entre tratamientos vs control

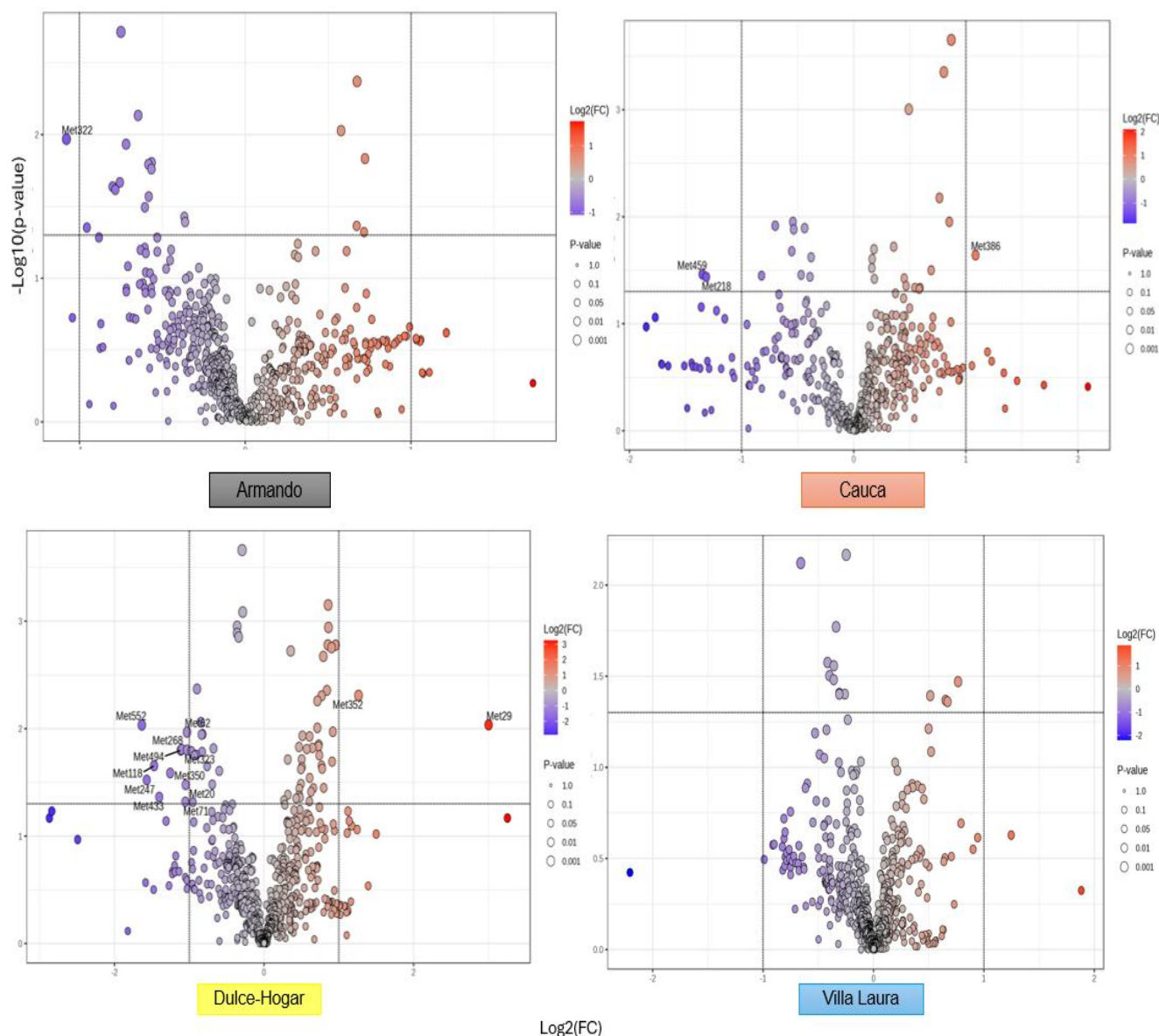


Figura 18. Volcano plots de los metabolitos diferencialmente abundantes en frutos de tomate entre tratamientos y control. Los puntos representan metabolitos; el color indica el valor de $\log_2(\text{FC})$ y el tamaño del punto el p-valor.

9.2.3. Correlaciones

Con el objetivo de evaluar la posible asociación entre la estructura del microbioma rizosférico y el perfil metabolómico de los frutos de tomate, se realizó un análisis integrativo que combinó enfoques de correlación y de comparación estructural. Para ello, se utilizaron las abundancias relativas de todas las OTUs bacterianas y fúngicas detectadas en rizósfera, sin filtrado previo por significancia

estadística, junto con los metabolitos previamente identificados como diferencialmente abundantes en los frutos. En el caso del metaboloma, se emplearon exclusivamente los metabolitos significativos, cuyos datos se normalizaron por suma antes de realizar los análisis de distancia.

Inicialmente, se construyó una matriz de correlación cruzada entre las abundancias relativas de las OTUs y los niveles relativos de los metabolitos. Las matrices fueron alineadas con base en las muestras comunes, incluyendo todas las réplicas biológicas y los tratamientos de control, garantizando así una representación integral del sistema experimental. Se aplicó una correlación no paramétrica de Spearman, utilizando la eliminación por pares para el manejo de los valores faltantes. Posteriormente, se establecieron criterios de filtrado estrictos para seleccionar asociaciones robustas, definidos como un valor de $p \leq 0.01$ y un coeficiente de correlación absoluto $|\rho| \geq 0.35$, entre metabolitos específicos y microorganismos presentes en la raíz y la rizósfera (Figura 19). Se observaron correlaciones negativas entre Raiz-BactOTU626 y el metabolito Met494 ($\rho = -0.52$; $p = 7.95 \times 10^{-5}$), así como entre Raiz-BactOTU114 y Met552 ($\rho = -0.86$; $p = 0.003$), siendo esta la correlación más fuerte observada. Por otro lado, se detectaron correlaciones positivas entre Raiz-FungiOTU36 y Met20 ($\rho = 0.47$; $p = 0.003$), entre Rizo-BactOTU7 y Met118 ($\rho = 0.37$; $p = 0.003$), y entre Raiz-BactOTU3 y Met459 ($\rho = 0.39$; $p = 0.004$). Estas correlaciones sugieren posibles interacciones entre el metaboloma vegetal y la comunidad microbiana asociada, en las que algunos metabolitos podrían estar relacionados con la abundancia de microorganismos específicos en la raíz y la rizósfera (Tabla 4).

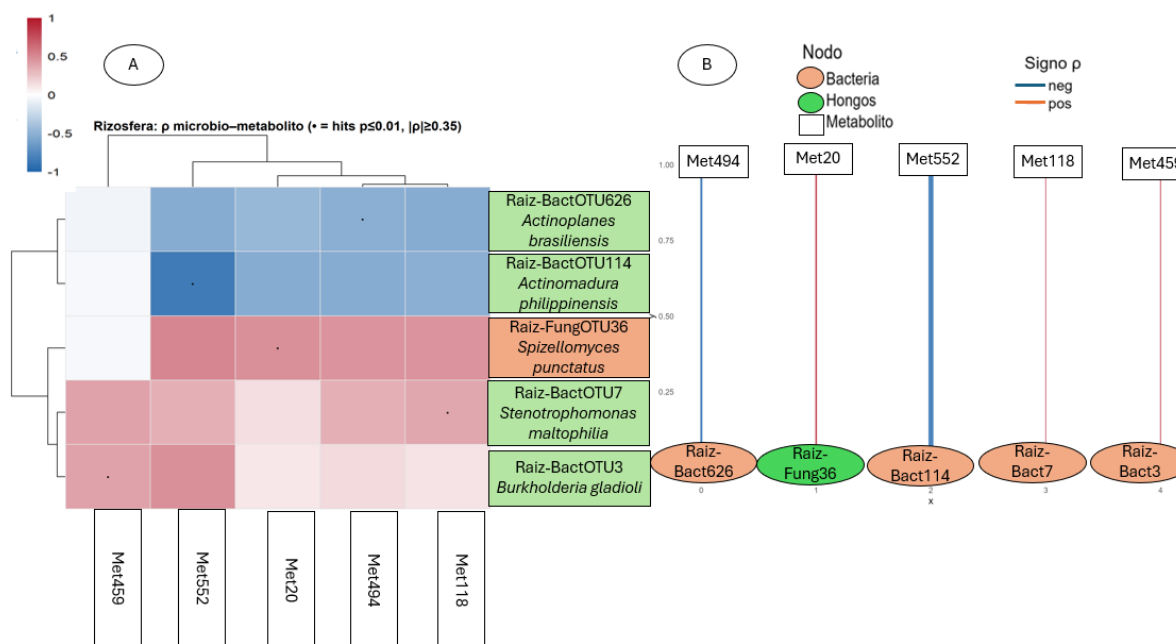


Figura 19. Correlaciones entre metabolitos y OTUs microbianas en la raíz y la rizósfera. (A) Mapa de calor de las correlaciones de Spearman. Solo se muestran las correlaciones significativas ($p \leq 0.01$) y $|\rho| \geq 0.35$. El color rojo indica correlaciones positivas y el azul, correlaciones negativas. (B) Red de correlación metabolito-microorganismo que muestra las asociaciones significativas identificadas. Las líneas rojas indican correlaciones positivas y las azules correlaciones negativas. Los nodos representan OTUs bacterianas, OTUs fúngicas y metabolitos.

Tabla 4. Correlaciones microorganismo–metabolito en tomate con significancia estadística exploratoria

Otu_ID	Género y especie (tentativo)	ID Metabolito	Identificación tentativa	rho	p	q
Raiz-BactOTU626	<i>Actinoplanes brasiliensis</i>	Met494	Esteroidal saponina	-0.5223	0.0001	0.0946
Raiz-FungiOTU36	<i>Spizellomyces punctatus</i>	Met20	Melongoside L	0.4667	0.0031	0.3849
Raiz-BactOTU114	<i>Actinomadura philippinensis</i>	Met552	piridina/aminofenol	-0.8601	0.0034	0.3849
Rizo-BactOTU7	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Met118	Cardiolipina	0.3714	0.0039	0.3849
Raiz-BactOTU3	<i>Burkholderia gladioli</i>	Met459	Indol-dímero tipo 3,3'-diindolylmethane	0.3894	0.0046	0.3912

De manera complementaria, se evaluó la correspondencia estructural global entre la composición del microbioma y el perfil metabolómico mediante la construcción de un tanglegramas (Figura 20), considerando los compartimentos de raíz (Figura 20A) y rizósfera (Figura 20B). Para ello, se calcularon matrices de distancia Bray–Curtis a partir de las abundancias relativas de bacterias y hongos, así como de los metabolitos significativos normalizados por suma en fruto, generando dendrogramas independientes posteriormente conectados entre muestras correspondientes. Los dendrogramas de metabolitos se formaron con dos ramas profundas con frutas Controles y Villa-Laura en uno y el resto en otro – una estructura muy similar al dendrograma que se observó para metabolitos en hojas de albaca.

El dendrograma de microorganismos en raíz (Figura 20A), se formó también con dos profundas ramas, pero los controles aparecieron solitos en una, mientras que el resto callo en la otra. No obstante, las muestras de Villa-Laura salieron juntas al lado de los controles, y muestras de Dulce-Hogar salieron juntas al otro extremo de la rama. Este tanglegrama demuestra que inoculación de las raíces con suelo cambia sus poblaciones de microorganismos, y excepto Villa-Laura (que quizás fue un suelo microbiológicamente muerto), estos cambios significan mente alteraron los metabolitos acumulados en la fruta.

Contrastando con la raíz, el dendrograma de microorganismos en las rizosferas de tomate (Figura 20B) no resultó en ramas profundas entre agrupaciones de tratamiento. La agrupación más importante hubiera sido de las rizosferas control, pero una muestra quedó sola en una rama profunda, lejos de las otras dos. Este tanglegrama sugiere que la población de microorganismos en la rizosfera de tomate no se correlaciona con el metaboloma de sus frutos.

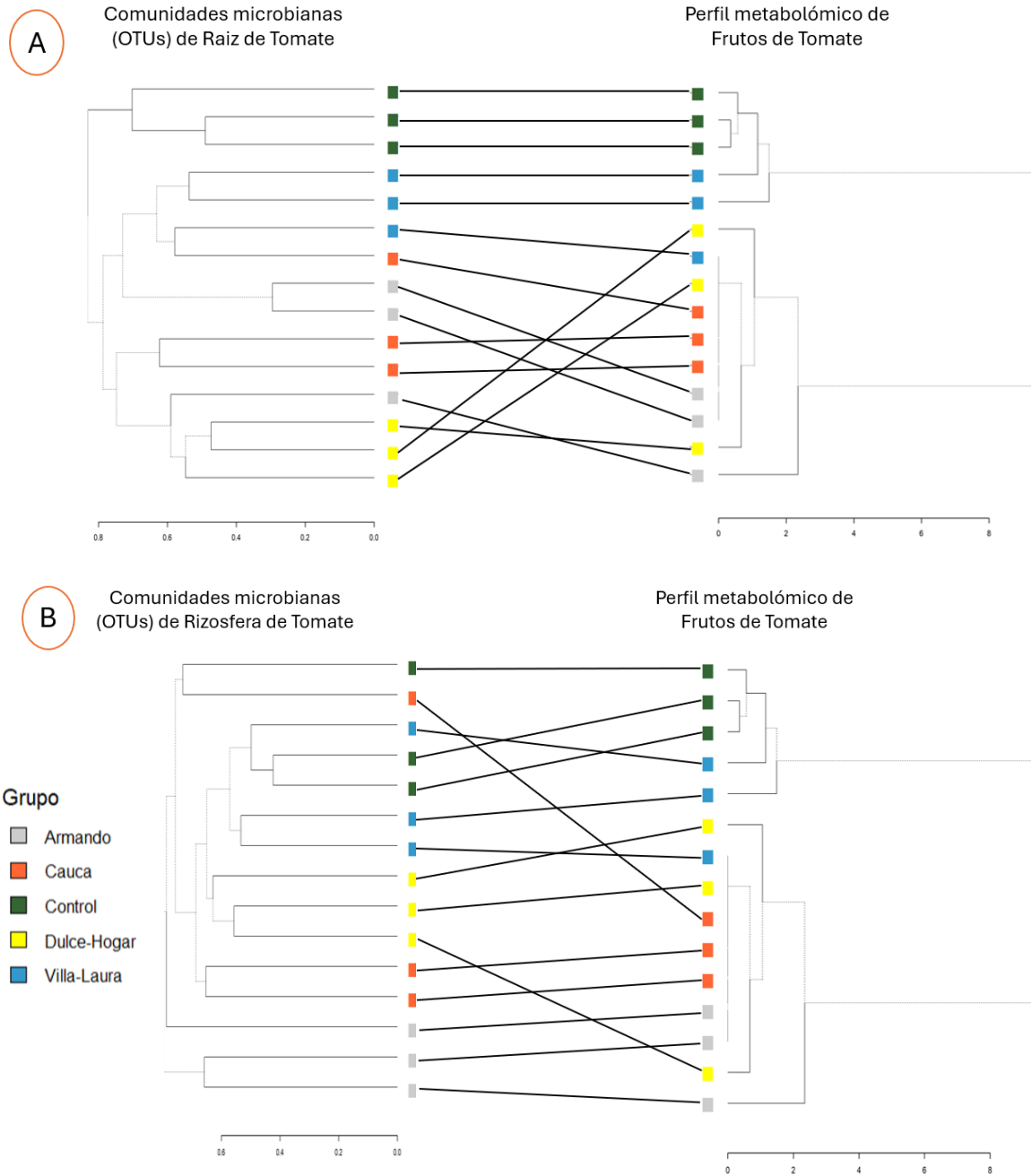


Figura 20. Los tanglegramas muestra la correspondencia entre los dendrogramas jerárquicos construidos a partir de todas las OTUs microbianas de la raíz (A) rizosfera (B) y el conjunto completo de metabolitos detectados en frutos de tomate. Los dendrogramas se generaron utilizando distancias de Bray–Curtis a partir de matrices de abundancia relativa de OTUs y de datos metabolómicos normalizados por suma. Las líneas conectan las mismas muestras en ambos dendrogramas, mientras que los colores indican los distintos tratamientos (Armando, Cauca, Control, Dulce Hogar y Villa-Laura).

9.3. Café

9.3.1. Composición microbiana en fermentaciones de café

Con el objetivo de evaluar si la manipulación del microbioma de fermentación húmeda de semillas de café puede cambiar el sabor, diferentes inóculos (suelos de cafetales, microorganismos puros y superficies de cerezas de café) se introdujeron en fermentaciones de café en agua estéril en tubos cónicos de 50 mL. Se extrajo ADN del líquido de fermentación después de 72 horas; se realizó un solo lavado con agua, y entonces se secó la semilla antes de extraer los metabolitos. Del ADN, se amplificaron el 16S rDNA de bacterias y el ITS rDNA de hongos, y se secuenciaron en un Miseq para observar el microbioma. Posteriormente, las matrices de abundancia relativa de ambos grupos se integraron en un único conjunto de datos y se utilizó para realizar un análisis de componentes principales (PCA), sin aplicar transformaciones adicionales (Figura 21).

Los dos primeros componentes principales explicaron el 98.36% de la variación total observada en la estructura comunitaria (Dim1 = 58.93 %; Dim2 = 34.4 %), evidenciando una diferenciación multivariada entre tratamientos. El tratamiento Honey (semillas extraídas de cerezas esterilizadas y dejadas secar al aire libre sin fermentación) mostro una agrupación apretada y bien diferenciada del resto de tratamientos. Similarmente, los Controles (semillas extraídas de cerezas esterilizadas e inoculadas con agua esterilizada antes de la fermentación) formaron la segunda agrupación compacta, aparte de todas las demás muestras. Todos los demás tratamientos (semillas extraídas de cerezas esterilizadas e inoculadas con microorganismos puros o con suelo de finca antes de la fermentación) dieron lugar a poblaciones microbianas de fermentación similares.

El análisis estadístico basado en PERMANOVA, utilizando distancias de Bray–Curtis, confirmó que las diferencias en la composición microbiana entre tratamientos fueron estadísticamente significativas ($R^2 = 0.91$; $F = 21.5$; $p = 0.001$). El modelo indicó que el tipo de inóculo explicó aproximadamente el 91% de la variación total en la estructura de las comunidades microbianas durante la fermentación.

Análisis PCA de comunidades bacterianas y fúngicas en fermentación de café

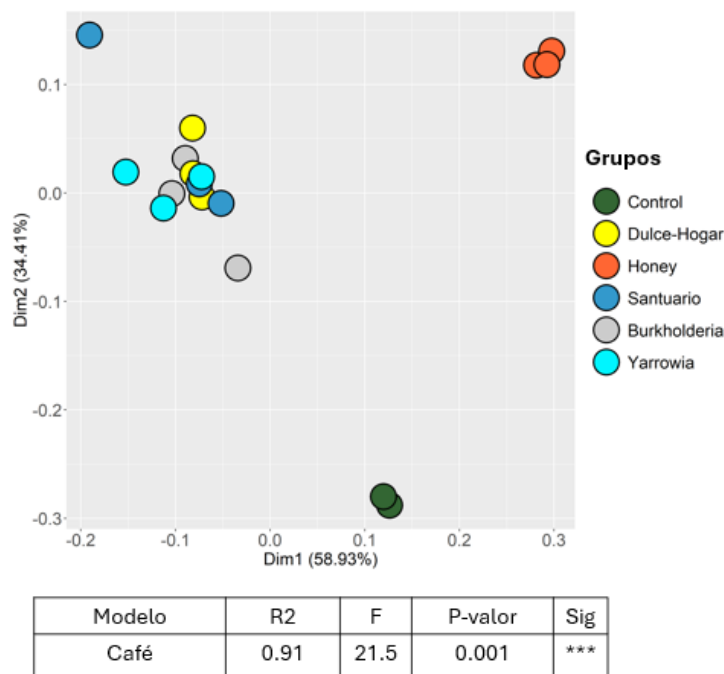


Figura 21. Análisis de componentes principales (PCA) de la comunidad bacteriana (16S) y fúngica (ITS) en fermentación de semillas de café.

La estructura de la comunidad microbiana se visualizó mediante mapas de calor basados en la abundancia relativa de OTUs. Las muestras se organizaron según el tratamiento experimental, lo que permitió identificar patrones diferenciales de abundancia asociados a cada tratamiento (Figura 22).

A nivel de phylum, el dominio bacteriano, se observó un predominio claro del phylum Proteobacteria en la mayoría de las muestras, particularmente en aquellas correspondientes a Dulce-Hogar, Honey, Santuario y los controles. Este grupo presentó abundancias relativas elevadas, superiores al 35% en varias muestras. En menor proporción, también se detectaron los phyla Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes y Planctomycetes, con una distribución más específica y variable entre los distintos entornos de fermentación. Había una diferencia dramática en la abundancia de Proteobacteria y Firmicutes de los controles versus todos los otros tratamientos, que probablemente representan microorganismos que fueron eliminados de la superficie cuando se esterilizó con alcohol, pero que fueron reintroducidos con las inoculaciones. En las comunidades bacterianas, el índice de diversidad de Shannon mostró diferencias entre tratamientos, siendo mayor en el método Honey ($H' = 1.13$), seguido de Santuario ($H' = 0.90$) y Dulce Hogar ($H' = 0.86$), mientras que el Control presentó la menor diversidad ($H' = 0.75$). Estos resultados indican que el proceso de fermentación, particularmente el método Honey, favorece una comunidad bacteriana más diversa y con una distribución más equitativa de abundancias. También suporta la hipótesis básica que inoculación de microorganismos puede aumentar la diversidad bacteriana en fermentaciones de semillas de café.

En el caso de los hongos, el phylum Ascomycota fue el más abundante en la mayoría de las muestras, destacando en Honey y Santuario. Le siguió en frecuencia Basidiomycota, presente con menor abundancia en algunas muestras de Dulce-Hoga. También se registraron phyla minoritarios como Chytridiomycota, Oomycota y Fungi incertae sedis, cuya presencia fue limitada y de bajo nivel. En las comunidades fúngicas, el índice de diversidad de Shannon mostró diferencias entre los métodos de fermentación, siendo mayor en el tratamiento Santuario ($H' = 0.30$), seguido del Control ($H' = 0.22$), Dulce Hogar ($H' = 0.10$) y Honey ($H' = 0.08$). Estos resultados indican que la diversidad fúngica fue mayor en el tratamiento Santuario, mientras que el método Honey presentó la menor diversidad.

La ausencia de un aumento claro en la diversidad o de cambios estructurales asociados a las inoculaciones con *Yarrowia* y *Burkholderia* indica que estas cepas no lograron dominar las comunidades microbianas. Esto puede explicarse por competencia con microorganismos nativos presentes en las semillas o en el ambiente, así como por condiciones del sistema de fermentación que favorecen microorganismos adaptados a altas concentraciones de azúcares y cambios en pH.

El análisis a nivel de OTU mostró que un reducido conjunto de OTUs dominó las comunidades bacterianas durante la fermentación del café. Entre las OTUs más abundantes se encontraron BactOTU5 (*Acetobacter orientalis*), BactOTU9 (*Leuconostoc pseudomesenteroides*), BactOTU23 (*Gluconobacter frateurii*), BactOTU685 (*Leuconostoc lactis*) y BactOTU253 (*Acetobacter lovaniensis*), las cuales estuvieron presentes en todos los tratamientos, lo que sugiere que forman parte del microbioma núcleo transmitidas dentro de cerezas de café. Estos microorganismos comunes no solo tienen que estar transmitidos por la semilla, sino que también tienen que sobrevivir al ambiente estresante de fermentación de semillas de café. El punto de este experimento fue ver si la inoculación con microorganismos podría cambiar el microbioma de fermentación y, por ende, el metaboloma de las semillas; entonces, fue muy importante ver si algunos OTUs aparecieron después de la inoculación. Varias OTUs asociadas a bacterias fermentativas, como *Bacillus* y *Paenibacillus*, y a bacterias ácido-lácticas presentaron mayores abundancias relativas en el tratamiento Honey en comparación con el Control. Por otro lado, en el tratamiento Santuario se observó una mayor abundancia relativa de OTUs pertenecientes a Proteobacteria, incluyendo BactOTU56 (*Pseudomonas alcaligenes*) y BactOTU474 (*Pseudomonas oryzae*), BactOTU110 (*Burkholderia ferrariae*) y BactOTU444 (*Burkholderia zhejiangensis*), y BactOTU809 (*Sphingomonas parvus*), microorganismos asociados a la degradación de compuestos orgánicos y al metabolismo de compuestos aromáticos. En el tratamiento inoculado con *Burkholderia*, se observó un incremento marcado en la abundancia relativa de OTUs afiliadas a este género, alcanzando aproximadamente 2.7% de la comunidad total. En contraste, en los demás tratamientos estas OTUs se encontraron en proporciones considerablemente menores, generalmente por debajo del 0.1%. Este aumento estuvo asociado a múltiples OTUs, incluidos BactOTU3, BactOTU4, BactOTU22, BactOTU27 y BactOTU444, lo que indica el establecimiento de *Burkholderia* en la comunidad bacteriana. No obstante, estas OTUs no alcanzaron dominancia, ya que otros miembros del microbioma núcleo, como *Acetobacter* y *Leuconostoc*, continuaron representando la mayor proporción de la comunidad.

El análisis a nivel de OTU mostró que la comunidad fúngica estuvo fuertemente dominada por FungiOTU11 (*Pichia eremophila*) en todos los tratamientos, con abundancias relativas entre 74% y 99%. Sin embargo, en el tratamiento Santuario se observó una mayor abundancia relativa de OTUs subdominantes como FungiOTU55 (*Hanseniaspora clermontiae*), FungiOTU3 (*Yarrowia lipolytica*) y FungiOTU13 (*Clavispora lusitanae*), lo que incrementó la diversidad y equidad de la comunidad fúngica, lo que se reflejó en un mayor índice de Shannon. En contraste, en el tratamiento Honey, FungiOTU11 (*Pichia eremophila*) dominó casi por completo la comunidad, con abundancias superiores al 95%, y las demás OTUs estuvieron presentes en muy baja abundancia, lo que se tradujo en el menor valor de diversidad.

En el tratamiento inoculado con *Yarrowia*, FungiOTU3 (*Yarrowia lipolytica*) presentó un incremento de su abundancia relativa en comparación con los demás tratamientos, donde se encontró en proporciones bajas (<5%). En contraste, en el tratamiento con *Yarrowia*, este OTU alcanzó proporciones moderadas dentro de la comunidad (entre el 5% y el 15%), sin llegar a desplazar la dominancia de *Pichia eremophila*.

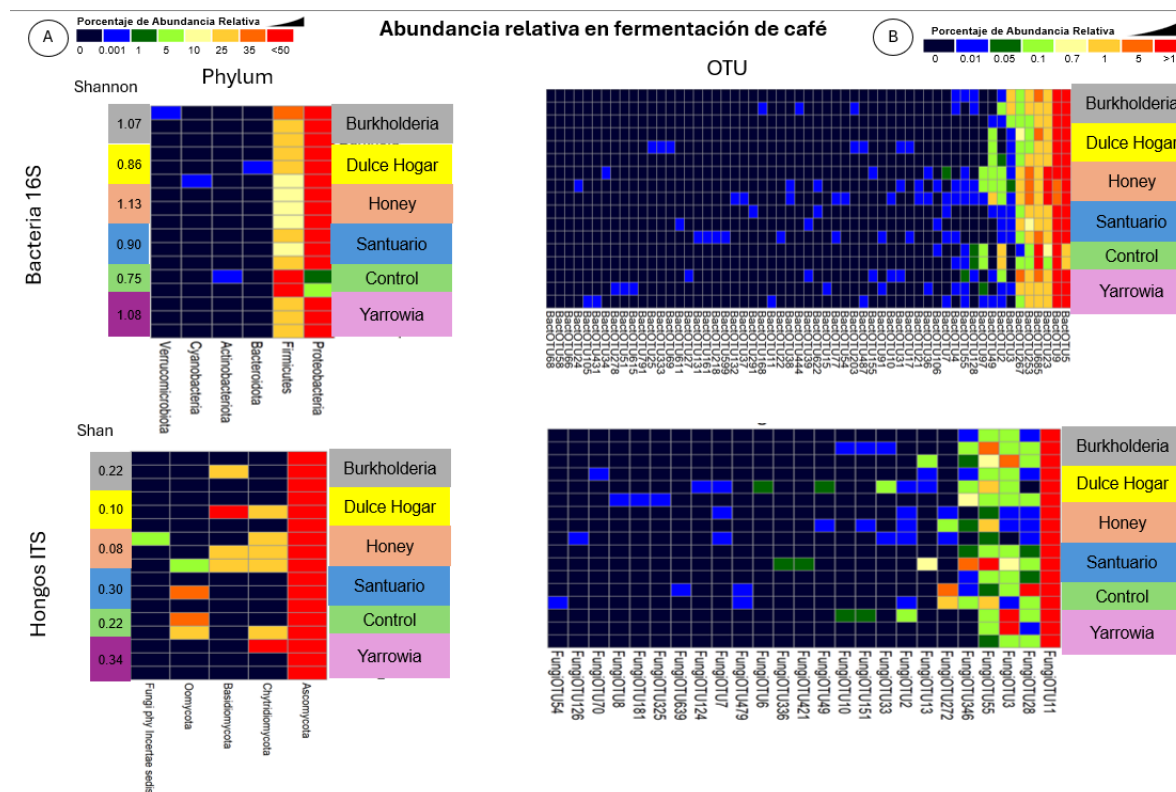


Figura 22. Mapas de calor que muestran el porcentaje de abundancia relativa de bacterias (16S rRNA) y hongos (ITS) asociados al proceso de fermentación de café bajo diferentes tratamientos. (A) Abundancia relativa a nivel de Phylum y OTU para bacterias (16S). (B) Abundancia relativa a nivel de Phylum y OTU para hongos (ITS).

Complementando el análisis de diversidad y estructura del microbioma en la fermentación de café, se evaluaron los cambios en la abundancia relativa de OTUs microbianas entre cada tratamiento y el control mediante análisis de abundancia diferencial, cuyos resultados se representan mediante gráficos de volcán para bacterias (16S) y hongos (ITS) (Figura 23, Tabla 5). Este análisis permitió identificar las OTUs con cambios estadísticamente significativos ($p_{adj} < 0.05$), tanto de enriquecimiento ($\log_2\text{FoldChange} > 0$) como de disminución ($\log_2\text{FoldChange} < 0$), en función del tratamiento evaluado. Los puntos representan OTUs individuales, codificados por color según su abundancia relativa y por tamaño según su prevalencia entre réplicas.

En el microbioma bacteriano (16S), los resultados evidenciaron diferencias entre los tratamientos. En el tratamiento inoculado con *Burkholderia*, se observaron incrementos significativos en OTUs como BactOTU2 (*Komagataeibacter ascorbata*), BactOTU3 (*Gluconobacter albidus*) y BactOTU5 (*Acetobacter orientalis*), con valores elevados de $\log_2\text{FoldChange}$ (4.63–8.59), lo que indica un enriquecimiento marcado de bacterias ácido-acéticas en este tratamiento. En contraste, BactOTU12

(*Komagataeibacter ascorbata*) presentó un valor negativo de $\log_2\text{FoldChange}$ (-4.63), lo que indica una mayor abundancia relativa en el control.

En el tratamiento Dulce Hogar, se observó un enriquecimiento significativo de BactOTU5 (*Acetobacter orientalis*) ($\log_2\text{FC} \approx 5.40$), mientras que OTUs como BactOTU2 (*Komagataeibacter ascorbata*), BactOTU685 (*Lactococcus lactis*) y BactOTU9 (*Leuconostoc pseudomesenteroides*) presentaron valores negativos de $\log_2\text{FoldChange}$ (-2.25 a -6.79), lo que indica una mayor abundancia relativa en el control.

En el tratamiento Honey, se observó el enriquecimiento de bacterias ácido-acéticas como BactOTU23 (*Gluconobacter frateurii*) ($\log_2\text{FC} \approx 5.38$), BactOTU253 (*Acetobacter lovaniensis*) ($\log_2\text{FC} \approx 3.48$) y BactOTU49 (*Dyella soli*) ($\log_2\text{FC} \approx 8.00$). En contraste, OTUs como BactOTU2 (*Komagataeibacter ascorbata*), BactOTU685 (*Lactococcus lactis*) y BactOTU9 (*Leuconostoc pseudomesenteroides*) presentaron valores negativos, lo que indica una mayor abundancia en el control.

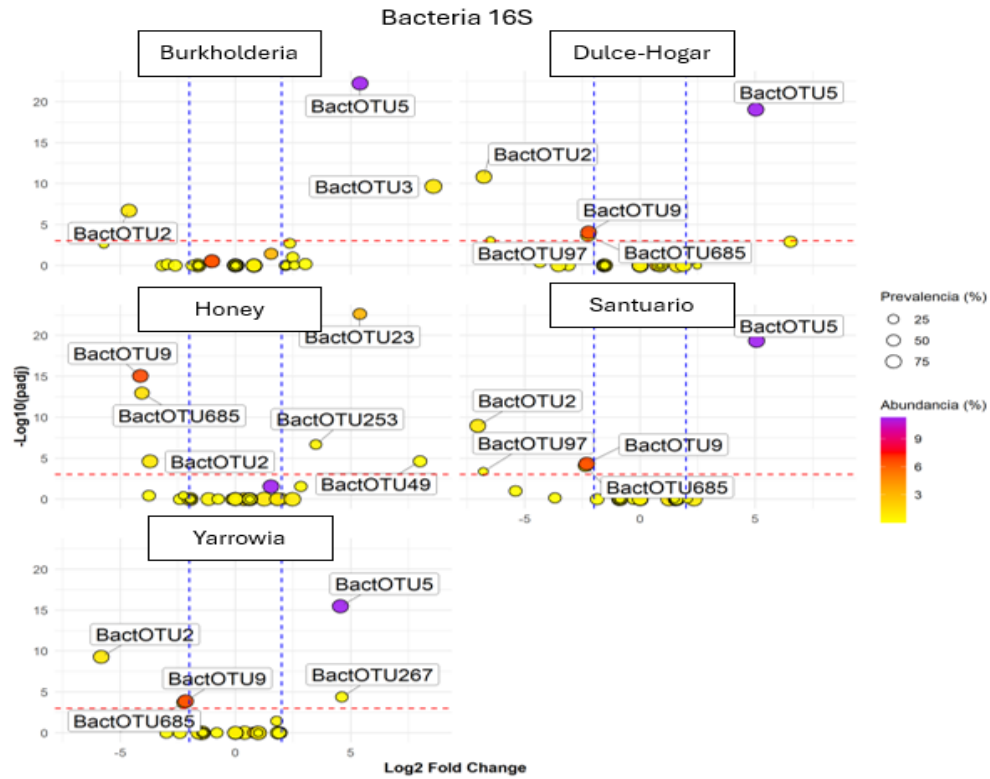
En el tratamiento Santuario, se observó un enriquecimiento significativo de BactOTU5 (*Acetobacter orientalis*) ($\log_2\text{FC} \approx 5.05$), mientras que OTUs como BactOTU2 (*Komagataeibacter ascorbata*), BactOTU685 (*Lactococcus lactis*), BactOTU9 (*Leuconostoc pseudomesenteroides*) y BactOTU97 (*Pseudomonas theicola*) mostraron valores negativos, lo que indica una mayor abundancia relativa en el control.

En el tratamiento con *Yarrowia*, se observaron incrementos en OTUs como BactOTU5 (*Acetobacter orientalis*) ($\log_2\text{FC} \approx 4.54$) y BactOTU267 (*Gluconobacter albidus*) ($\log_2\text{FC} \approx 4.61$), mientras que OTUs como BactOTU2 (*Komagataeibacter ascorbata*) y BactOTU97 (*Pseudomonas theicola*) presentaron valores negativos, lo que indica mayor abundancia en el control.

En las comunidades fúngicas (ITS), se observó que FungiOTU28 (*Geotrichum silvicola*) presentó valores negativos de $\log_2\text{FoldChange}$ en todos los tratamientos (≈ -8.3 a -9.2), lo que indica una mayor abundancia relativa en el control en comparación con las condiciones de fermentación. Por otro lado, en el tratamiento con *Yarrowia* se observó un enriquecimiento significativo de FungiOTU3 (*Yarrowia lipolytica*) ($\log_2\text{FC} \approx 6.63$), lo que confirma el establecimiento de la cepa inoculada en este tratamiento.

A

Comparaciones diferenciales del microbioma entre tratamiento



B

Comparaciones diferenciales del microbioma entre tratamiento

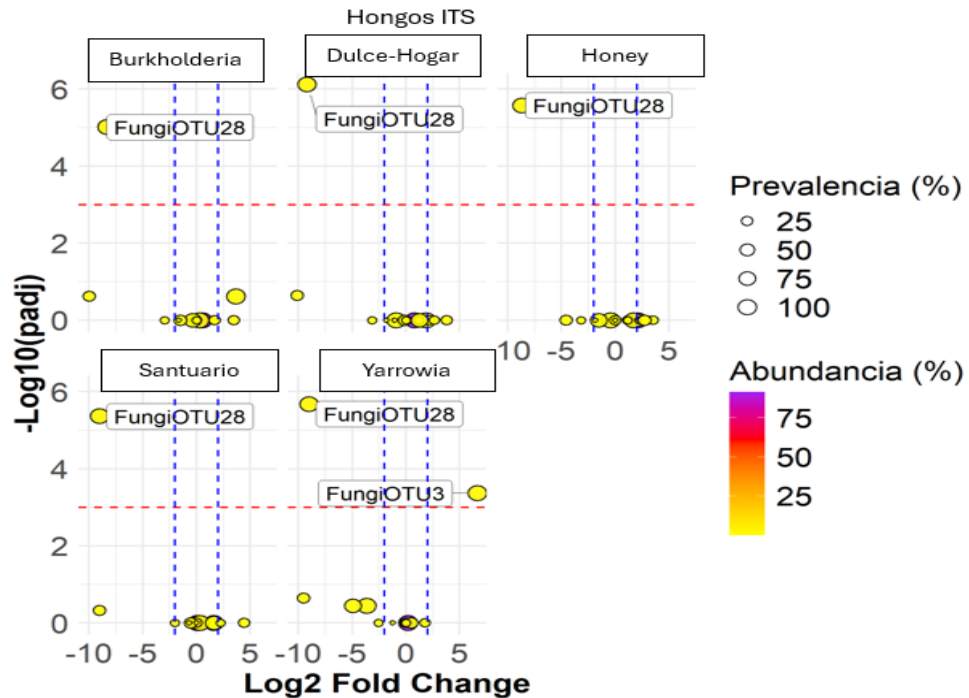


Figura 23. Gráficos de volcán que muestran los cambios diferenciales en la abundancia de OTUs bacterianos

(16S rRNA) (A) y fúngicos (ITS) (B) entre los distintos tratamientos de fermentación de café. El eje X representa el $\log_2$ Fold Change, mientras que el eje Y corresponde a $-\log_{10}$ (p ajustado). Cada punto representa un OTU; el tamaño del punto indica su prevalencia (%) y el color refleja su abundancia relativa (%), según las escalas mostradas. Las líneas horizontales discontinuas indican el umbral de significancia estadística, mientras que la línea vertical punteada indica la ausencia de cambio ($\log_2FC = 0$).

En conjunto, las gráficas de volcán revelan patrones de modulación específicos en las comunidades microbianas asociadas a frutos de café, con especies clave que podrían desempeñar funciones metabólicas relevantes en la fermentación. Estas OTUs diferencialmente abundantes, detalladas en la Tabla 5, se utilizarán en los análisis posteriores de correlación con los perfiles metabolómicos.

Tablas 5. OTUs significativamente diferentes entre la comparación tratamiento vs. control para la fermentación de semillas de café.

OTU	padj	log2FoldChange	Prevalencia	Abundancia	Tratamiento	Especie
BactOTU2	2E-07	-4.63	78.38	1.00	Burkholderia	<i>Komagataeibacter ascorbata</i>
BactOTU3	2E-10	8.59	93.24	1.11	Burkholderia	<i>Burkholderia gladioli</i>
BactOTU5	6E-23	5.40	83.78	11.32	Burkholderia	<i>Acetobacter orientalis</i>
BactOTU2	1E-11	-6.79	78.38	1.00	Dulce-Hogar	<i>Komagataeibacter ascorbata</i>
BactOTU5	9E-20	5.02	83.78	11.32	Dulce-Hogar	<i>Acetobacter orientalis</i>
BactOTU685	2E-04	-2.25	63.51	1.35	Dulce-Hogar	<i>Lactococcus lactis</i>
BactOTU9	9E-05	-2.25	78.38	6.68	Dulce-Hogar	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
BactOTU97	1E-03	-6.50	14.86	0.01	Dulce-Hogar	<i>Pseudomonas theicola</i>
BactOTU2	2E-05	-3.72	78.38	1.00	Honey	<i>Komagataeibacter ascorbata</i>
BactOTU23	2E-23	5.38	47.30	3.12	Honey	<i>Gluconobacter frateurii</i>
BactOTU253	2E-07	3.48	32.43	0.54	Honey	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
BactOTU49	2E-05	8.00	50.00	0.06	Honey	<i>Devosia soli</i>
BactOTU685	1E-13	-4.05	63.51	1.35	Honey	<i>Lactococcus lactis</i>
BactOTU9	8E-16	-4.13	78.38	6.68	Honey	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
BactOTU2	1E-09	-7.04	78.38	1.00	Santuario	<i>Komagataeibacter ascorbata</i>
BactOTU5	5E-20	5.05	83.78	11.32	Santuario	<i>Acetobacter orientalis</i>
BactOTU685	8E-05	-2.36	63.51	1.35	Santuario	<i>Lactococcus lactis</i>
BactOTU9	4E-05	-2.32	78.38	6.68	Santuario	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
BactOTU97	4E-04	-6.80	14.86	0.01	Santuario	<i>Pseudomonas theicola</i>
BactOTU2	5E-10	-5.84	78.38	1.00	Yarrowia	<i>Komagataeibacter ascorbata</i>
BactOTU267	4E-05	4.61	36.49	0.28	Yarrowia	<i>Gluconobacter albidus</i>
BactOTU5	3E-16	4.54	83.78	11.32	Yarrowia	<i>Acetobacter orientalis</i>
BactOTU685	2E-04	-2.23	63.51	1.35	Yarrowia	<i>Lactococcus lactis</i>
BactOTU9	1E-04	-2.18	78.38	6.68	Yarrowia	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
FungiOTU28	1E-05	-8.32	94.12	3.15	Burkholderia	<i>Gluconobacter silvicola</i>
FungiOTU28	8E-07	-9.17	94.12	3.15	Dulce-Hogar	<i>Gluconobacter silvicola</i>

OTU	p _{adj}	log2FoldChange	Prevalencia	Abundancia	Tratamiento	Especie
FungiOTU28	3E-06	-8.69	94.12	3.15	Honey	<i>Gluconobacter silvicola</i>
FungiOTU28	4E-06	-9.02	94.12	3.15	Santuario	<i>Gluconobacter silvicola</i>
FungiOTU3	4E-04	6.63	100.00	2.38	Yarrowia	<i>Yarrowia lipolytica</i>
FungiOTU28	2E-06	-8.99	94.12	3.15	Yarrowia	<i>Gluconobacter silvicola</i>

9.3.2. Perfil metabolómico de semillas fermentadas de café

Se evaluaron los cambios en el perfil químico de las semillas de café durante la fermentación con distintos tratamientos microbianos; se realizó un análisis metabolómico no dirigido mediante LC-MS. Se compararon seis tratamientos microbianos (*Burkholderia*, Dulce Hogar, Honey, Santuario, Surface y *Yarrowia*) con un control no inoculado. Para explorar la variación entre tratamientos, se aplicó un análisis PLS-DA considerando todos los grupos simultáneamente (Figura 24). El modelo mostró cierta separación entre tratamientos, con una diferenciación más evidente en el tratamiento Honey, mientras que el resto de los tratamientos presentó un alto grado de solapamiento entre sí y con el control. Las métricas de validación indicaron una capacidad limitada del modelo para discriminar entre tratamientos. Aunque el modelo explicó parte de la variación de los datos ($R^2 = 0.48$), la baja capacidad predictiva ($Q^2 < 0$) indica que la separación observada no es robusta. En concordancia con esto, solo el tratamiento Honey mostró una diferenciación más consistente respecto a los demás grupos. Estos resultados sugieren que las diferencias metabolómicas inducidas por la mayoría de los tratamientos son débiles o inconsistentes. El proceso de lavado posterior a la fermentación puede reducir la acumulación de compuestos asociados a la actividad microbiana en la superficie de las semillas, lo que limita la detección de cambios metabólicos entre tratamientos.

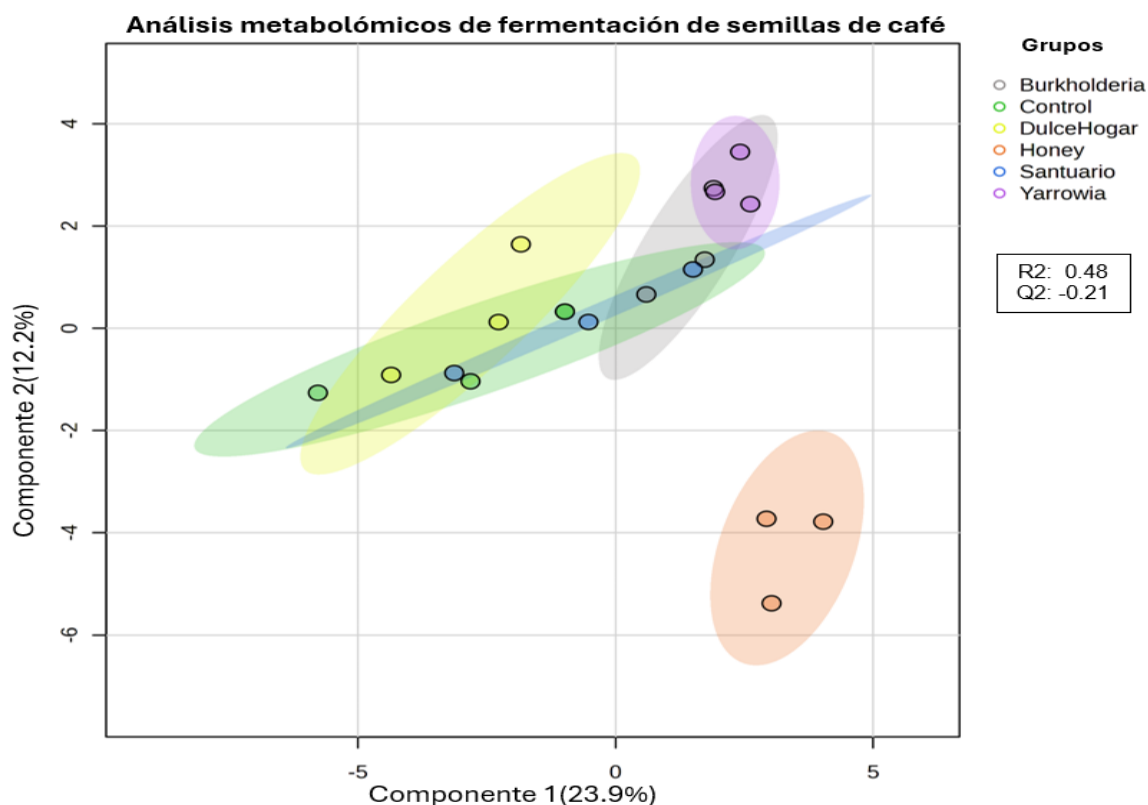


Figura 24. Análisis PLS-DA de los perfiles metabolómicos en fermentación de semillas de café. Se muestran los valores de R^2 y Q^2 para cada modelo. Cada punto representa una muestra y los colores corresponden a los tratamientos.

Durante el análisis metabolómico de las semillas de café fermentadas, se detectaron metabolitos con diferencias significativas en su abundancia relativa entre los distintos tratamientos microbianos y el grupo de control. A partir de un análisis univariado basado en criterios estadísticos ($p < 0.05$, $|\log_2FC| \geq 1$ y $VIP \geq 1.5$), se seleccionó un conjunto de compuestos con regulación diferencial. Posteriormente, los metabolitos seleccionados fueron anotados mediante comparación con bases de datos de referencia, principalmente CEU Mass Mediator, considerando únicamente aquellos con niveles de identificación 2, 3 o 4 según los criterios de la Metabolomics Standards Initiative (MSI). La lista completa de metabolitos, junto con su $\log_2FC$, valor de p , VIP y categoría química, se presenta en el anexo 3.

El análisis comparativo evidenció diferencias en el número y el tipo de metabolitos diferencialmente expresados entre los tratamientos (Figura 25). El tratamiento Honey presentó el mayor número de metabolitos significativos (116), seguido de *Yarrowia* (113) y *Burkholderia* (48), mientras que Dulce Hogar (25) y Santuario (14) mostraron un menor número de cambios.

En Dulce Hogar, el perfil metabólico mostró una tendencia al aumento de metabolitos, incluyendo flavonoides glicosilados y compuestos nitrogenados como quercetin 3-(sinapoylsophorotrioside) (Met1), quercetin caffeoyl-glycoside (Met641), trans-urocanic acid (Met1023) y D-1-aminopropan-2-ol O-phosphate (Met676), mientras que las disminuciones fueron menos frecuentes.

El tratamiento Honey presentó las modificaciones más extensas en el metaboloma, con incrementos y disminuciones marcados. Se observaron reducciones en flavonoles y antocianinas, incluyendo kaempferol 3-rhamnosyl-(coumarylrobinobioside) (Met101), kaempferol 3-rutinoside-7-rhamnoside

(Met606) y malvidin diglucoside (Met182), así como en derivados de pelargonidina y cianidina. También se detectó acumulación de metabolitos nitrogenados, como tryptamine (Met1208) y pyridoxamine (Met655), así como de metabolitos no identificados con cambios de alta magnitud.

En *Yarrowia*, el número de metabolitos fue similar al de Honey, pero predominó la disminución de la abundancia relativa, especialmente en compuestos fenólicos y pigmentos, lo que indica un efecto distinto sobre el metabolismo secundario. En *Burkholderia*, los cambios fueron intermedios y no presentaron un patrón dominante claro. El tratamiento Santuario mostró un número reducido de metabolitos diferenciales, con incrementos puntuales en compuestos fenólicos y pigmentos.

Algunos metabolitos presentaron respuestas compartidas entre los tratamientos. El quercetin caffeoyl-glycoside (Met641) mostró incrementos en Dulce Hogar y Santuario, mientras que diversos polifenoles y antocianinas tendieron a disminuir principalmente en Honey y *Yarrowia*.

Estas diferencias pueden verse influidas por el tipo de proceso de fermentación. En los tratamientos húmedos, el lavado posterior puede eliminar metabolitos asociados a la actividad microbiana en la superficie de las semillas, lo que reduce las diferencias detectables entre los tratamientos. En contraste, el tratamiento Honey, al corresponder a una fermentación en seco sin lavado, permite la acumulación de estos compuestos, lo que explica la mayor magnitud de los cambios observados.

Volcano plot Comparación entre tratmientos vs control

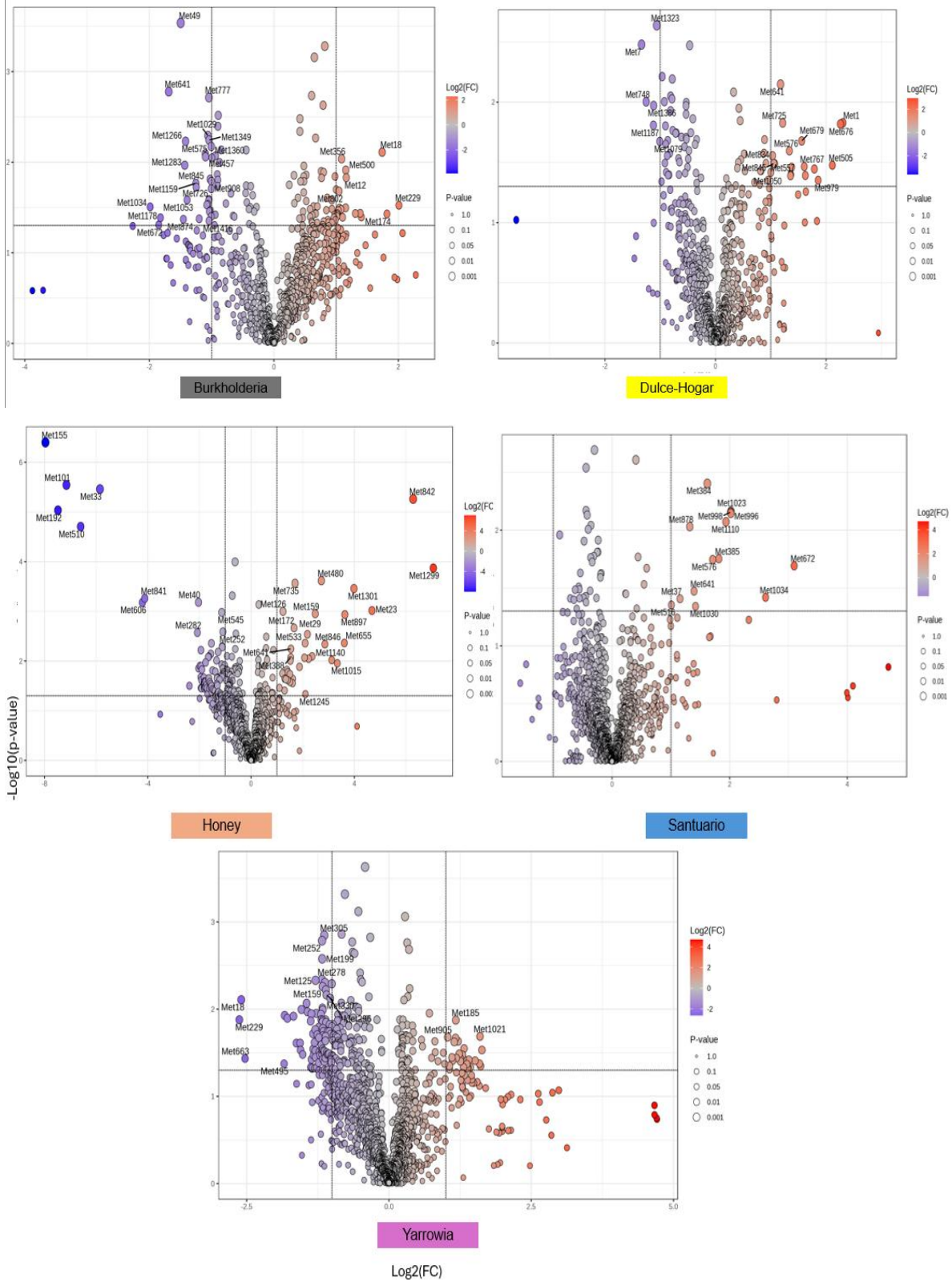


Figura 25. Volcano plots de los metabolitos diferencialmente abundantes en frutos de tomate entre los tratamientos y el control. Los puntos representan metabolitos; el color indica el valor de $\log_2FC$ y el tamaño del punto, el p-valor.

9.3.3. Correlaciones

Las interacciones entre microorganismos y metabolitos durante la fermentación de café se evaluaron mediante un análisis de correlación basado en el coeficiente de Spearman, utilizando las abundancias normalizadas de OTUs y de metabolitos previamente identificados como significativamente diferenciales. El análisis incluyó todas las muestras correspondientes a los distintos tratamientos y controles, lo que permitió evaluar asociaciones a lo largo de todo el gradiente de la variación experimental.

Se aplicaron criterios de significancia estrictos ($p \leq 0.01$ y $|\rho| \geq 0.35$) para identificar correlaciones robustas. Las asociaciones significativas se visualizaron mediante un mapa de calor con agrupamiento jerárquico (Figura 26). El análisis integró OTUs bacterianas y fúngicas diferencialmente abundantes, junto con metabolitos significativamente regulados, y se identificaron múltiples correlaciones microorganismo–metabolito que cumplieron los criterios estadísticos establecidos.

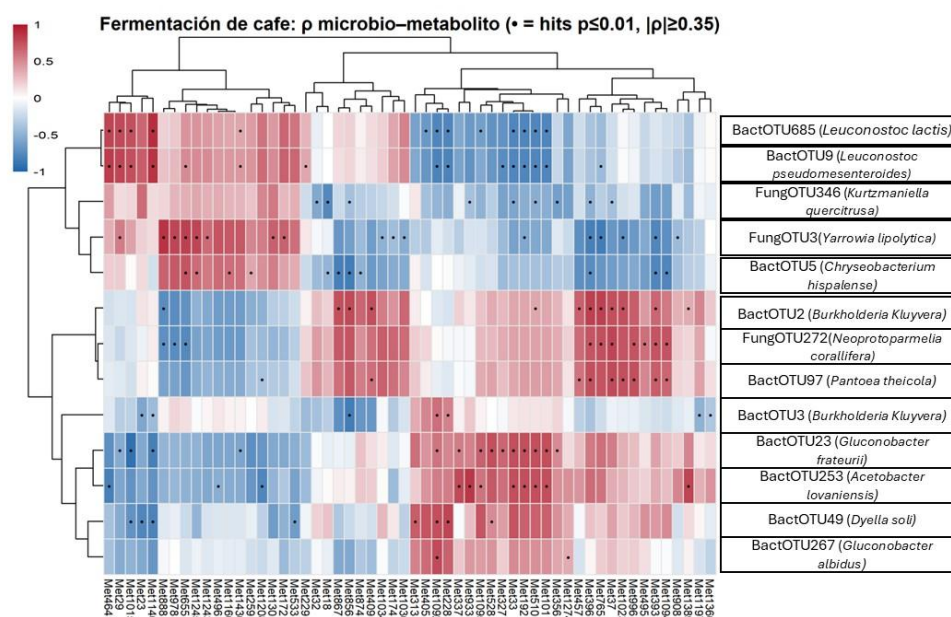


Figura 26. Mapa de calor de las correlaciones de Spearman (ρ) entre microorganismos (OTUs bacterianas y fúngicas) y metabolitos detectados durante la fermentación de semillas de café, construido a partir del conjunto completo de muestras (todos los tratamientos y controles). Se muestran únicamente las correlaciones que cumplen los criterios de significancia $p \leq 0.01$ y $|\rho| \geq 0.35$. El color indica la dirección y la magnitud del coeficiente de correlación (rojo: correlación positiva; azul: correlación negativa). Los puntos negros (•) señalan las asociaciones que cumplen con ambos umbrales estadísticos.

Se identificaron múltiples correlaciones significativas entre OTUs microbianas y metabolitos diferencialmente abundantes ($|p| \geq 0.35$, $p \leq 0.01$, $q \leq 0.15$), lo que evidencia asociaciones específicas entre determinados microorganismos y compuestos durante la fermentación del café.

El mapa de calor evidenció patrones de asociación estructurados entre grupos microbianos y metabolitos específicos. En particular, OTUs bacterianas como BactOTU23 (*Gluconobacter frateurii*), BactOTU2 (*Komagataeibacter ascorbata*) y BactOTU97 (*Pseudomonas theicola*) mostraron principalmente correlaciones positivas con diversos metabolitos, lo que sugiere una posible asociación entre la abundancia de estas bacterias y la acumulación de compuestos generados durante la fermentación. En contraste, OTUs como BactOTU685 (*Lactococcus lactis*) y BactOTU9 (*Leuconostoc pseudomesenteroides*) presentaron principalmente correlaciones negativas, lo que indica una relación inversa entre la abundancia de bacterias ácido-lácticas y los niveles de dichos metabolitos.

Entre las bacterias, *Gluconobacter frateurii* (BactOTU23) presentó múltiples asociaciones significativas, incluyendo correlaciones positivas con metabolitos fenólicos y flavonoides, como Met337 (isómeros de ácido coumarínico; $p = 0.55$), Met356 (N-feruloylglicil-L-fenilalanina; $p = 0.49$) y Met327 (derivados de kaempferol; $p = 0.65$), así como correlaciones positivas con tripéptidos como Met1092 ($p = 0.59$). También presentó correlaciones negativas con algunos metabolitos no identificados y compuestos fenólicos específicos, lo que sugiere una relación diferencial con distintos grupos metabólicos durante la fermentación.

Pantoea theicola (BactOTU97) mostró correlaciones positivas con metabolitos como Met457 (N-trans-feruloyloctopamine; $p = 0.60$), Met409 (Gibberellin A12-aldehyde; $p = 0.61$), Met1094 (trans-zeatin riboside diphosphate; $p = 0.66$) y Met393 (antocianina acilada; $p = 0.69$), lo que sugiere una posible asociación con metabolitos relacionados con compuestos fenólicos y fitohormonas.

En contraste, las bacterias ácido-lácticas *Leuconostoc lactis* (BactOTU685) y *Leuconostoc pseudomesenteroides* (BactOTU9) presentaron principalmente correlaciones negativas con diversos metabolitos fenólicos y flavonoides, incluyendo Met405 ($p = -0.65$), Met101 (kaempferol derivado; $p = -0.77$) y Met1095 (tripéptido; $p = -0.61$), lo que indica una relación inversa entre la abundancia de estas bacterias y la acumulación de dichos compuestos.

Se observaron asociaciones entre OTUs bacterianas específicas y cambios en los metabolitos. En particular, OTUs asociadas a Burkholderia, como BactOTU3 (*Burkholderia gladioli*), mostraron correlaciones con metabolitos diferenciales. BactOTU3 se asoció positivamente con Met1092 (tripeptido Met-Pro-Pro) y Met228, y negativamente con Met23, Met1140 y Met1197, lo que indica que la presencia de esta bacteria se relaciona con cambios tanto en aumento como en disminución de metabolitos.

De manera similar, OTUs relacionadas con Burkholderia (BactOTU2) mostraron correlaciones positivas con metabolitos como Met457 (N-trans-Feruloyloctopamine) y Met393 (antocianina acilada), lo que sugiere una posible influencia en las rutas de compuestos fenólicos y en los pigmentos.

En el componente fúngico, *Yarrowia lipolytica* (FungiOTU3) mostró múltiples correlaciones positivas con diversos metabolitos, incluyendo compuestos fenólicos y aminoácidos modificados, como Met172 ($p = 0.66$), Met1245 ($p = 0.79$), Met1243 ($p = 0.63$) y Met1301 ($p = 0.66$), así como algunas correlaciones negativas con metabolitos específicos como Met1023 (trans-urocanic acid; $p = -0.71$).

Por su parte, *Kurtzmaniella quercitrusa* (FungiOTU346) presentó principalmente correlaciones negativas con metabolitos fenólicos, flavonoides y compuestos derivados de ácidos hidroxycinámicos, incluyendo Met32 ($\rho = -0.56$), Met356 ($\rho = -0.62$), Met37 ($\rho = -0.40$) y Met396 ($\rho = -0.49$).

En conjunto, los patrones de correlación indican que bacterias ácido-acéticas como *Gluconobacter*, bacterias asociadas a fermentación como *Pantoea*, y levaduras como *Yarrowia* se asocian principalmente con la acumulación de compuestos fenólicos, flavonoides y péptidos durante la fermentación, mientras que bacterias ácido-lácticas como *Leuconostoc* y algunos hongos como *Kurtzmaniella* muestran asociaciones inversas. Estos resultados sugieren que distintos grupos microbianos contribuyen de manera diferencial a la transformación metabólica durante la fermentación del café, generando perfiles químicos específicos asociados a cada comunidad microbiana.

Tabla 6. Correlaciones microorganismo–metabolito en café con significancia estadística exploratoria ($p \leq 0.01$, $|\rho| \geq 0.35$). Se muestran las correlaciones entre OTUs microbianos y metabolitos detectados en muestras de fermentación de café. ρ corresponde al coeficiente de correlación de Spearman, p es el valor crudo, y q representa el valor ajustado por FDR.

OTU	Taxon	Metabolito	Identificación tentativa	ρ	p	q
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met172	No identificado	0.6636	0.0001	0.0627
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met174	No identificado	-0.41	0.0001	0.0627
			Isómeros de ácido coumarínico (coumarinate / cis-2-coumarate)			
BactOTU23	<i>Gluconobacter frateurii</i>	Met337	/ trans-3-coumarate)	0.5455	0.0002	0.0712
BactOTU23	<i>Gluconobacter frateurii</i>	Met356	N-Feruloylglicil-L-fenilalanina	0.4909	0.0005	0.09
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met908	D-Pantotenil-Cys	-0.4364	0.0005	0.09
			Syringetin 3-(6'''-acetylglucosyl)(1->3)-galactoside			
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met32	Syringetin 3-(6'''-acetylglucosyl)(1->3)-galactoside	-0.5558	0.0006	0.1026
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met1245	galactoside	0.7909	0.0008	0.1026
BactOTU3	<i>Burkholderia gladioli</i>	Met23	No identificado	-0.574	0.0008	0.1026
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met510	No identificado	-0.5099	0.0008	0.1026
	<i>Neoprotomarmelia corallifera</i>					
FungiOTU272	<i>Neoprotomarmelia corallifera</i>	Met495	Avenanthramide A2	0.6097	0.0013	0.1137
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met29	No identificado	0.5455	0.0013	0.1137
BactOTU685	<i>Leuconostoc lactis</i>	Met405	Oxonitina	-0.6455	0.0017	0.1137
	<i>Chryseobacterium hispalense</i>					
BactOTU5	<i>Chryseobacterium hispalense</i>	Met874	Val-Met-Pro (tripeptido)	-0.5	0.0017	0.1137
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met356	N-Feruloylglicil-L-fenilalanina	-0.615	0.0021	0.1137
BactOTU97	<i>Pantoea theicola</i>	Met457	N-trans-Feruloyloctopamine	0.6007	0.0021	0.1137
BactOTU685	<i>Leuconostoc lactis</i>	Met101	Kaempferol 3-rhamnosyl-(coumarylrobinobioside)	-0.7747	0.0026	0.1137
	<i>Neoprotomarmelia corallifera</i>					
FungiOTU272	<i>Neoprotomarmelia corallifera</i>	Met393	Antocianina di-glucósido acilada (p. ej. delphinidin 3,5-di(acetilglc))	0.7386	0.0026	0.1137
BactOTU3	<i>Burkholderia gladioli</i>	Met1092	Tripeptido Met-Pro-Pro	0.6196	0.0026	0.1137
			Tripeptido isomérico (Gly-Ser-Glu, Asp-Ser-Ala, etc.)			
BactOTU685	<i>Leuconostoc lactis</i>	Met1095	Tripeptido isomérico (Gly-Ser-Glu, Asp-Ser-Ala, etc.)	-0.6091	0.0026	0.1137
BactOTU23	<i>Gluconobacter frateurii</i>	Met29	No identificado	-0.5273	0.0026	0.1137

OTU	Taxon	Metabolito	Identificacion tentativa	rho	p	q
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met1023	Trans-urocanic acid	-0.7091	0.0028	0.1137
BactOTU23	<i>Gluconobacter frateurii</i>	Met1095	Tripeptido isomérico (Gly-Ser-Glu, Asp-Ser-Ala, etc.)	0.6636	0.0031	0.1137
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met1030	No identificado	-0.5182	0.0031	0.1137
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met37	Cianidina 3-(acetilhexósido)	-0.3964	0.0031	0.1137
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met1243	Hydroxytryramterene sulfate	0.6273	0.0032	0.1137
			Flavonoide prenilado/metoxilado (isómeros tipo Garcinone C / Averantin metilado)			
BactOTU3	<i>Burkholderia gladioli</i>	Met1140		-0.4419	0.0033	0.1137
BactOTU23	<i>Gluconobacter frateurii</i>	Met327	Conjunto de kaempferol	0.6545	0.0034	0.1137
	<i>Chryseobacterium hispalense</i>	Met867	PGP(18:1(9Z)-O(12,13)/a-15:0)	-0.8182	0.0037	0.1137
	<i>Neoprotomarmelia corallifera</i>	Met888	(Z)-N-Feruloyl-5-hydroxyanthranilic acid	-0.7187	0.0037	0.1137
BactOTU49	<i>Dyella soli</i>	Met533	No identificado	-0.6281	0.0037	0.1137
			Isopenteniladenosina-5'-difosfato (citocinina)			
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met396		-0.4875	0.0037	0.1137
	<i>Chryseobacterium hispalense</i>	Met259	No identificado	0.3727	0.0045	0.1137
			Syringetin 3-(6'''-acetylglucosyl)(1->3)-galactoside			
	<i>Chryseobacterium hispalense</i>	Met1245		0.6364	0.0045	0.1137
	<i>Neoprotomarmelia corallifera</i>	Met996	No identificado	0.7336	0.0048	0.1137
FungiOTU272						
BactOTU49	<i>Dyella soli</i>	Met313	No identificado	0.7025	0.0049	0.1137
BactOTU3	<i>Burkholderia gladioli</i>	Met228	No identificado	0.533	0.0049	0.1137
BactOTU49	<i>Dyella soli</i>	Met1092	Tripeptido Met-Pro-Pro	0.749	0.0051	0.1137
	<i>Chryseobacterium hispalense</i>	Met1160	5'-O-β-D-glucosilpiridoxina (vitamina B6 glucosilada)	0.6182	0.0051	0.1137
	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Met1430	(Z)-N-Feruloyl-5-hydroxyanthranilic acid	0.4364	0.0051	0.1137
BactOTU9						
BactOTU253	<i>Acetobacter lovaniensis</i>	Met464	No identificado	-0.8182	0.0053	0.1137
			Tripeptido isomérico (Gly-Ser-Glu, Asp-Ser-Ala, etc.)			
BactOTU253	<i>Acetobacter lovaniensis</i>	Met1095		0.5909	0.0053	0.1137
	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Met655	Pyridoxamine	0.5	0.0053	0.1137
BactOTU9						
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met1034	No identificado	-0.4909	0.0053	0.1137
	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Met765	No identificado	-0.4364	0.0053	0.1137
BactOTU9						
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met192	No identificado	-0.5608	0.0062	0.1233
BactOTU49	<i>Dyella soli</i>	Met528	Dimetilamida	0.4885	0.0062	0.1233
BactOTU97	<i>Pantoea theicola</i>	Met409	Gibberellin A12-aldehyde	0.6102	0.0068	0.1239
			trans-Zeatin riboside			
BactOTU97	<i>Pantoea theicola</i>	Met1094	diphosphate (citoquinina)	0.6579	0.0073	0.1239
	<i>Chryseobacterium hispalense</i>	Met18	No identificado	-0.4727	0.0073	0.1239
			(Z)-N-Feruloyl-5-hydroxyanthranilic acid			
BactOTU685	<i>Leuconostoc lactis</i>	Met1430		0.3818	0.0073	0.1239
	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Met229	Clovamida	0.3727	0.0073	0.1239

OTU	Taxon	Metabolito	Identificacion tentativa	rho	p	q
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met933	No identificado	-0.3964	0.0074	0.1239
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met856	No identificado	-0.3872	0.0074	0.1239
BactOTU2	<i>Burkholderia Kluuyvera</i>	Met510	No identificado	0.37	0.0074	0.1239
BactOTU49	<i>Dyella soli</i>	Met1015	Cinnamoyl-trixyloside	-0.6932	0.0077	0.1239
BactOTU2	<i>Burkholderia Kluuyvera</i>	Met1389	No identificado	0.3636	0.0077	0.1239
BactOTU23	<i>Gluconobacter frateurii</i>	Met1092	Tripeptido Met-Pro-Pro	0.5909	0.008	0.1265
FungiOTU346	<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	Met33	No identificado	-0.5736	0.008	0.1265
BactOTU2	<i>Burkholderia Kluuyvera</i>	Met457	N-trans-Feruloyloctopamine	0.6636	0.0085	0.1265
FungiOTU3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Met1301	Prolyl-Hydroxyproline Antocianina di-glucósido acilada (p. ej. delphinidin 3,5- di(acetilglc))	0.6636	0.0085	0.1265
BactOTU2	<i>Burkholderia Kluuyvera</i>	Met393		0.6545	0.0085	0.1265
BactOTU253	<i>Acetobacter lovaniensis</i>	Met496	No identificado	-0.5182	0.0085	0.1265
BactOTU97	<i>Pantoea theicola</i>	Met1208	Tryptamine	-0.3814	0.0085	0.1265
FungiOTU272	<i>Neoprotoparmelia corallifera</i>	Met978	Proantocianidina tipo arecatannin/cinnamtannin	-0.7287	0.0087	0.1269
BactOTU3	<i>Burkholderia gladioli</i>	Met1197	N-Methylmyosmine	-0.5011	0.0087	0.1269
BactOTU267	<i>Gluconobacter albidus</i>	Met1274	Cucurbitacin E	0.3545	0.0088	0.127
BactOTU3	<i>Burkholderia gladioli</i>	Met1360	No identificado	-0.3645	0.0092	0.1302
BactOTU23	<i>Gluconobacter frateurii</i>	Met1430	(Z)-N-Feruloyl-5- hydroxyanthranilic acid Antocianina di-glucósido acilada (p. ej. delphinidin 3,5- di(acetilglc))	-0.5818	0.0094	0.1302
BactOTU97	<i>Pantoea theicola</i>	Met393		0.6865	0.0098	0.1305

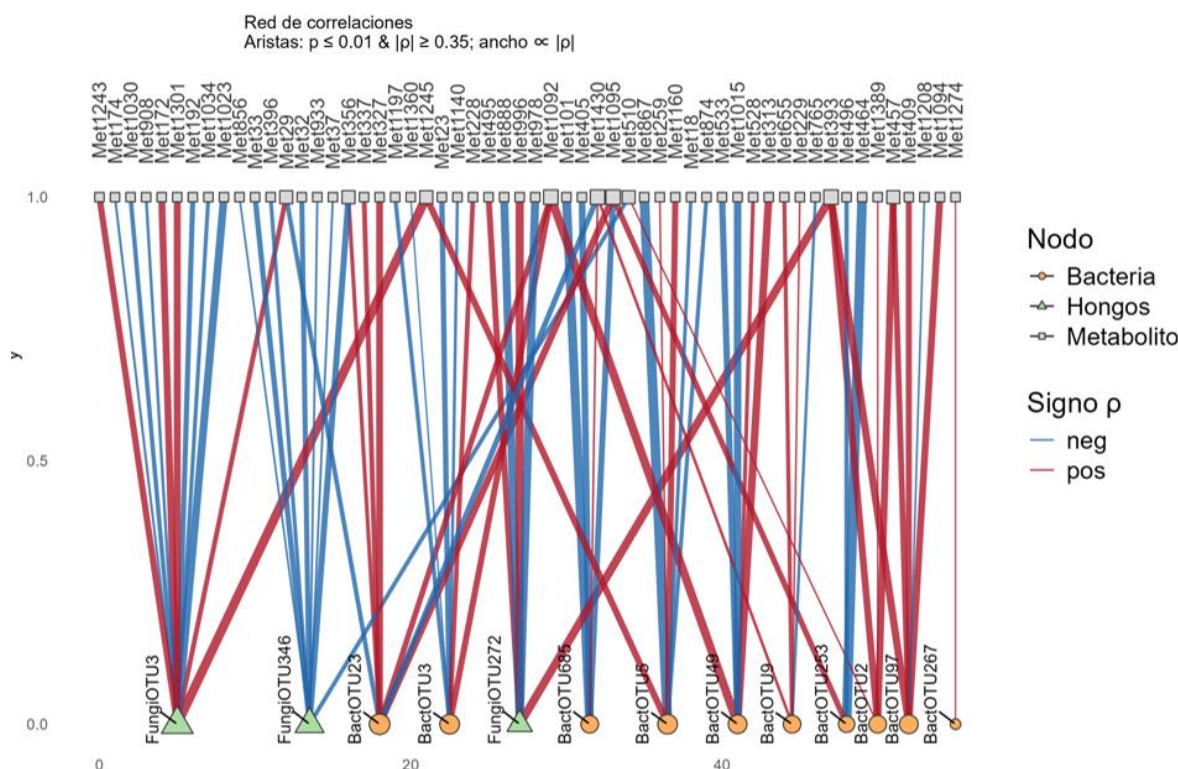


Figura 27. Red de co-ocurrencia microorganismo–metabolito durante la fermentación de café, construida a partir del conjunto completo de muestras analizadas. Las aristas representan correlaciones de Spearman estadísticamente significativas ($p \leq 0.01$ y $|p| \geq 0.35$), y su grosor es proporcional al valor absoluto del coeficiente de correlación. El color de las aristas indica la dirección de la correlación (rojo: positiva; azul: negativa). Los nodos cuadrados representan metabolitos, mientras que los nodos circulares representan microorganismos (naranja: bacterias; verde: hongos).

La correspondencia global entre la estructura de las comunidades microbianas y los perfiles metabolómicos de las semillas fermentadas se evaluó mediante un análisis tipo tanglegram, comparando los dendrogramas generados a partir de las matrices de distancia de Bray–Curtis del microbioma (abundancia relativa de OTUs) y de los metabolitos significativos normalizados por la suma (Figura 28). El tanglegrama evidenció diferencias en el grado de correspondencia entre microbioma y metaboloma según el tratamiento. En el tratamiento Honey, las muestras se agruparon en las ramas más profundas de ambos árboles, con un número de cruces igual a cero en las líneas de conexión, lo que indica una alta correspondencia entre la estructura microbiana y el perfil metabolómico de estas semillas en comparación con los demás tratamientos.

Después de la rama profunda de honey, viene la rama profunda de los controles, seguida por la rama de todas las demás muestras de fermentaciones inoculadas. Para mayor claridad, esta rama profunda de controles, con solos separados de honey y de todas las semillas inoculadas, demuestra que sí fue posible controlar/restringir la comunidad de microorganismos al fermentar estas semillas sumergidas en agua. Mirando al otro lado del dendrograma de metabolitos, la rama profunda del microbioma de los controles se conecta con una rama de metabolitos compartidos entre 3 tratamientos, lo que indica que el metaboloma de los controles no se puede distinguir de estos otros tratamientos (Dulce-Hogar y Burkholderia). Se podría interpretar que esterilizar la superficie de la cereza antes de fermentar la semilla de café puede alterar el microbioma de la fermentación, pero no cambia el metaboloma de la semilla resultante.

Una correlación más desorganizada se observa en las semillas inoculadas con cualquier inóculo, ya sea el del microorganismo puro (*Yarrowia* y *Burkholderia*) o el de suelo (Dulce Hogar y Santuario). El dendrograma del microbioma muestra una rama larga para todos, sin un agrupamiento claro entre ellos, lo que sugiere que todas las inoculaciones dieron lugar a comunidades microbianas con fermentación similar. Mirando el dendrograma de metabolitos del otro lado, hay dos ramas principales sin una agrupación clara entre ellas. No se observaron correlaciones entre los microorganismos y los metabolomas de las fermentaciones de café inoculado.

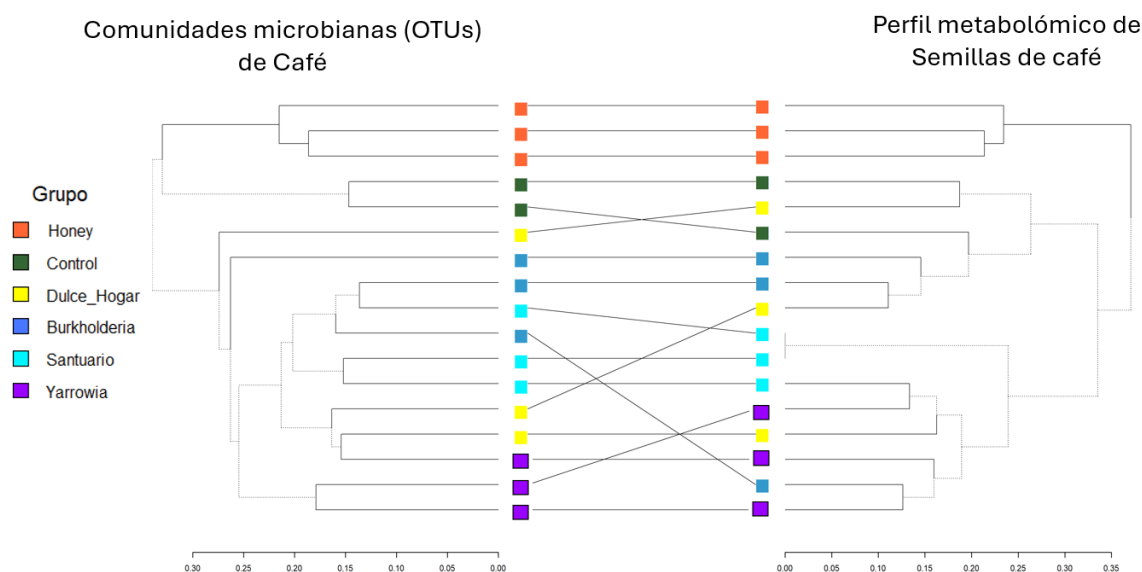


Figura 27. Tanglegrama que compara la estructura del microorganismo y su perfil metabólico durante la fermentación del café. La correspondencia entre los dendrogramas jerárquicos de las comunidades microbianas (OTUs) (izquierda) del líquido de fermentación (izquierda) y el perfil metabólico de semillas de café fermentadas (derecha). Los dendrogramas fueron construidos a partir de matrices de abundancia relativa y distancia Bray Curtis, y las líneas conectan las mismas muestras entre ambos árboles. Los colores indican los distintos tratamientos de fermentación (Acevedo, Burkholderia, Control, Dulce Hogar, Honey, Santuario, Superficie y Yarrowia). La disposición de las conexiones permite evaluar el grado de congruencia entre las estructuras microbiana y metabólica, donde líneas paralelas y de menor cruce sugieren una mayor correspondencia entre ambos perfiles.

10. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1 Albahaca (*Ocimum basilicum*)

10.1.1 Cambios inducidos por inoculación en los microorganismos de rizosferas y raíces

La estructura del microbioma asociado a *Ocimum basilicum* reflejó patrones consistentes con modelos contemporáneos de ensamblaje en sistemas planta-suelo. La dominancia de Proteobacteria, Actinobacteriota y Firmicutes en el componente bacteriano, así como de Ascomycota en la fracción fúngica, concuerda con estudios globales que describen estos filos como componentes

estructurales recurrentes del microbioma vegetal (Delgado-Baquerizo et al., 2018; Trivedi et al., 2020). Sin embargo, más allá de esta convergencia taxonómica general, los resultados evidencian, de nuevo, que el inóculo edáfico puede ejercer un efecto significativo sobre la composición microbiana de la raíz y de la rizosfera.

El hecho de que la varianza explicada por el tratamiento sea mayor en rizosfera ($R^2=0.46$) que en raíz ($R^2=0.32$) sugiere un gradiente de filtrado ecológico a lo largo del continuo suelo-planta. Este patrón es consistente con el modelo de ensamblaje jerárquico propuesto por Bulgarelli et al. (2012), en el que la rizosfera actúa como zona de transición relativamente permisiva, mientras que el interior radicular representa un compartimento altamente selectivo, regulado por barreras físicas, inmunológicas y metabólicas. En la presente investigación, los microorganismos de las muestras de control se separan mejor de los tratamientos cuando se observan rizosferas; esta relación no se observó con tanta claridad en las raíces. Esta diferencia entre los microbiomas de los dos comportamientos sugiere que los cambios más marcados en los microorganismos de la rizosfera podrían tener mayor influencia sobre el metaboloma de la planta que sobre el de la raíz.

La inoculación con microorganismos de diferentes suelos generó cambios marcados en la abundancia de OTUs en la raíz, evidenciados por valores elevados de $\log_2$ fold change que alcanzaron magnitudes de 10 a 12. Este enriquecimiento fue consistente en múltiples tratamientos e incluyó taxones como *Zavarzinella caldifontis* (BactOTU116), *Herbaspirillum gulosum* (BactOTU220), *Streptomyces stelliscabiei* (BactOTU59) y *Actinomadura philippinensis* (BactOTU114), los cuales mostraron incrementos significativos en su abundancia relativa. En particular, *Herbaspirillum gulosum* (BactOTU220) presentó valores de $\log_2$ FC de 10.8 en Armando y 13.4 en Cauca, mientras que *Streptomyces stelliscabiei* (BactOTU59) mostró incrementos de 12.1 en Armando y 12.2 en Dulce Hogar. Otros taxones como *Inquilinus tertiaricarbonis* (BactOTU305) incrementaron en Armando 8.4, Cauca 8.9 y *Ohtaekwangia koreensis* (BactOTU113) también incrementó en Armando 7.5 y Cauca 5.0. Este patrón indica que ciertos microorganismos presentan una alta capacidad de colonización del nicho radicular independientemente del origen del microbioma.

Estos resultados sugieren que la introducción de microorganismos del suelo no solo modifica la composición de la comunidad, sino que también favorece el establecimiento y la proliferación de microorganismos capaces de adaptarse al ambiente radicular. Este comportamiento es consistente con el concepto de ensamblaje selectivo del microbioma vegetal, en el cual la raíz actúa como un filtro biológico que favorece microorganismos con capacidad para utilizar exudados y competir eficazmente por recursos (Bulgarelli et al., 2013; Berendsen et al., 2012). Los altos valores de $\log_2$ fold change observados reflejan procesos de colonización exitosos, en los que ciertos taxones logran expandirse rápidamente en la comunidad microbiana.

La composición funcional del microbioma evidenció la coexistencia de microorganismos con roles contrastantes. Se identificaron géneros asociados a la promoción del crecimiento y al biocontrol, como *Streptomyces*, *Pseudomonas* y *Trichoderma*, junto con taxones potencialmente fitopatógenos, como *Fusarium*, *Alternaria*, *Pythium* y *Corynespora*, particularmente en el tratamiento Cauca. Este patrón indica que la inoculación introduce consorcios microbianos complejos, en los que coexisten organismos con funciones potencialmente benéficas y perjudiciales. La estructura final del microbioma radicular parece depender del equilibrio entre estos grupos y de las interacciones competitivas que se establecen entre ellos, como se ha descrito en los microbiomas de la rizósfera (Mendes et al., 2011; Compant et al., 2005).

Un resultado relevante fue la disminución de la abundancia relativa de *Burkholderia gladioli* (BactOTU3), que presentó un $\log_2$ FC negativo (-8.8) en el tratamiento Armando en raíz, lo que indica una menor abundancia en comparación con el control. Este comportamiento sugiere que la introducción de comunidades microbianas más diversas puede generar procesos de exclusión

competitiva que limitan la dominancia de ciertos taxones. Considerando que las especies del género *Burkholderia* pueden presentar comportamientos tanto benéficos como patogénicos, su reducción en presencia de microbiomas complejos podría reflejar una reorganización de la comunidad hacia estados menos dominados por un solo microorganismo y más estructurados por interacciones microbianas. Este hallazgo es coherente con lo observado en otra investigación, en la que *Burkholderia gladioli* KRS027 mostró una amplia actividad antifúngica y una alta capacidad para inducir resistencia en plantas. Las especies de este género pueden generar interacciones competitivas que desencadenan cambios en la comunidad microbiana (Lee et al. 2023).

Por otro lado, en el tratamiento Cauca introdujo Basidiomycota en la endosfera, ya que normalmente este grupo de hongos es el segundo más común en el microbioma de las plantas, y muchos de ellos forman simbiosis con la planta, como la micorriza (Hibbet et al., 2000). La falta de una clase normal de hongos en la raíz podría tener impactos sobre la fisiología y metaboloma de la planta, similar a lo que se ha visto cuando albaca crece sin micorrizas (Thokchom et al., 2023). Los Chytridiomycota frecuentemente son patógenos de raíz, y fueron el segundo phylum más común de hongos en la endosfera de raíces de albaca. Si las raíces de estas plantas estaban fuertemente colonizadas por patógenos, es fácil imaginar que estaban estresadas y produciendo metabolitos de defensa, similares a la lechuga acumulando letucenina A en raíces y hojas cuando sus raíces son infectadas por *Rhizoctonia solani* y *Olpidium virulentus* (Windisch et al., 2021).

El tratamiento Villa Laura mostró una menor diferenciación en la composición del microbioma en comparación con los otros tratamientos, con cambios poco pronunciados en la abundancia de OTUs y ausencia de valores extremos de $\log_2$ fold change. Esto sugiere una menor capacidad de los microorganismos introducidos para establecerse en la raíz. Este comportamiento podría estar asociado a una comunidad microbiana con menor actividad o funcionalidad, lo que limitaría su capacidad de colonización y daría lugar a un microbioma más similar al del control (Berendsen et al., 2012).

10.1.2 Cambios en el metaboloma foliar de albahaca inducidos por la inoculación con microorganismos de diferentes suelos

El análisis metabolómico no dirigido evidenció que la colonización diferencial por microorganismos procedentes de suelos contrastantes induce una reconfiguración detectable del perfil químico foliar de *Ocimum basilicum*. Los modelos PLS-DA mostraron una capacidad discriminatoria elevada (R^2 entre 0.78 y 0.88), lo que indica que la identidad del microorganismo edáfico explica una proporción sustancial de la variación metabolómica observada. No obstante, la heterogeneidad en los valores de Q^2 revela que la robustez predictiva del modelo varía entre los tratamientos, lo que sugiere que no todos los consorcios microbianos inducen cambios igualmente consistentes o reproducibles. Este resultado evidencia que el perfil metabólico de la albahaca genera respuestas a diferentes condiciones ambientales, respuestas que pueden identificarse a través de análisis de metabolómica (Vickery et al. 2025).

La discrepancia entre el ajuste explicativo (R^2) y la capacidad predictiva (Q^2) es común en estudios metabolómicos con alta dimensionalidad y tamaños muestrales reducidos (Westerhuis et al., 2008). Biológicamente, puede interpretarse como evidencia de que ciertos microorganismos — particularmente el derivado de Cauca— generan una respuesta metabólica más sistemática en la planta, mientras que otros inducen cambios más focalizados o variables. Algunas respuestas metabólicas pueden ser insensibles a la identidad taxonómica específica del microorganismo, como el SAR, que se desencadena ante la detección de cualquier patrón molecular asociado a los

microorganismos (MAMPs) (Bulgarelli et al., 2013; Pieterse et al., 2014). Otras respuestas metabólicas pueden ser muy específicas, como la producción de metabolitos fenólicos en las hojas cuando la planta de tomate detecta la colonización de sus raíces por el patógeno *Pythium oligandrum* (Benhamou et al., 2012). Una respuesta sistémica de rutas biosintéticas puede resultar de la colonización rizosférica o endofítica por microorganismos que inducen la expresión de genes de defensa asociados a rutas de fenilpropanoides, terpenoides y metabolitos especializados, incluso en tejidos distantes, como las hojas (Pang et al., 2021; Trivedi et al., 2020).

En plantas aromáticas, estas rutas son particularmente relevantes, ya que determinan la acumulación de compuestos volátiles y fenólicos responsables del aroma y del valor comercial. La marcada diferencia cuantitativa en el número de metabolitos diferenciales entre los tratamientos refuerza esta interpretación. El microbioma de Cauca indujo 61 metabolitos diferenciales, mientras que Dulce Hogar, Armando y Villa Laura generaron respuestas más acotadas (19, 16 y 16, respectivamente). Esta asimetría sugiere que el impacto del microbioma sobre el metabolismo vegetal no depende únicamente de la presencia de microorganismos, sino también de su identidad funcional y de la naturaleza de las interacciones planta–microorganismo establecidas. Existen estudios que muestran que los metabolitos secundarios vegetales pueden participar en la modulación del microbioma de las raíces de las plantas. Esto puede causar una ampliación o restricción en la diversificación metabólica del hospedero (Marks et al. 2025).

Un aspecto particularmente relevante fue la consistencia en la respuesta de ciertos metabolitos entre tratamientos, aunque con direcciones opuestas. Compuestos como Floribundine (Met494), Theophylline (Met850) y 3-Methylsalicylaldehyde (Met1112) disminuyeron en los tratamientos Cauca y Armando, mientras que aumentaron en los tratamientos Dulce Hogar y Villa Laura. Este patrón sugiere que diferentes microorganismos pueden modular de manera diferencial las mismas rutas metabólicas en la planta. Este tipo de respuesta ha sido descrito en sistemas planta–microorganismo, donde comunidades microbianas distintas pueden inducir efectos funcionalmente equivalentes o contrastantes sobre el metabolismo vegetal, dependiendo de su composición y de las interacciones que establecen con el hospedero (Pieterse et al., 2014; Trivedi et al., 2020).

Los metabolitos diferencialmente expresados correspondieron principalmente a compuestos del metabolismo secundario, incluidos fenoles, flavonoides, alcaloides y cumarinas. Estas clases de compuestos están ampliamente asociadas a mecanismos de defensa, señalización y adaptación frente a estímulos bióticos, lo que sugiere que la inoculación con microorganismos del suelo desencadena respuestas fisiológicas activas en la planta. La modulación de estas rutas ha sido reportada en estudios en los que microorganismos de la rizósfera inducen la activación sistémica de metabolitos secundarios, particularmente aquellos derivados de la vía de los fenilpropanoides y de los compuestos fenólicos (Pang et al., 2021; Badri et al., 2013). En este contexto, los cambios observados en el metaboloma de la albahaca reflejan una respuesta funcional del hospedero frente a la colonización microbiana, más allá de una simple variación pasiva en su composición química.

El tratamiento Cauca también presentó la mayor magnitud de cambios metabólicos, caracterizados principalmente por una disminución de compuestos fenólicos y flavonoides, como Benzaldehyde (Met1023, Met1118) y derivados fenólicos (Met138, Met72). Este patrón podría estar asociado a interacciones microbianas que afectan la síntesis, la degradación o la redistribución de metabolitos secundarios en la planta. Además, en el tratamiento Cauca se detectó la presencia de miembros del phylum Basidiomycota, que no fueron predominantes en los demás tratamientos. Aunque no es posible asignar una función específica a estos taxones, estudios previos han demostrado que algunos representantes de este grupo pueden participar en interacciones planta–microorganismo que influyen en la adquisición de nutrientes y en la modulación del metabolismo vegetal (van der Heijden et al., 2015; Smith & Read, 2008). La idea de que Cauca aportó hongos

benéficos a la raíz de albaca resulta sorprendente, porque actualmente ese suelo se incluyó por ser fuente de la enfermedad cuero de sapo de yuca (Ospina et al., 2024).

10.1.3 Asociaciones entre comunidades microbianas y perfiles metabolómicos

La integración de los perfiles taxonómicos microbianos (16S rRNA e ITS) con el metaboloma foliar de *Ocimum basilicum* permitió identificar asociaciones microorganismo–metabolito estadísticamente significativas, evaluadas mediante correlaciones de Spearman a nivel de muestra individual. Aunque la proporción de correlaciones detectadas fue baja en relación con el número total de combinaciones posibles, la estructura resultante evidenció patrones organizados y no aleatorios, con agrupamientos definidos tanto por compartimento (rizosfera vs. raíz) como por la dirección de la correlación. Este comportamiento indica que la regulación del metabolismo vegetal no responde a microorganismos individuales de manera aislada, sino a redes funcionales complejas donde múltiples taxones co-varían con conjuntos específicos de metabolitos (Trivedi et al., 2020).

Es importante considerar que las anotaciones químicas corresponden a identificaciones putativas basadas en la masa exacta (MS1), sin confirmación estructural mediante MS/MS, lo que limita la interpretación a nivel de clases químicas (MS1 niveles 2–3; Sumner et al., 2007). En este marco, los patrones observados permiten inferir tendencias funcionales más que asociaciones moleculares específicas.

El análisis reveló dos bloques principales de asociación, caracterizados por correlaciones positivas y negativas entre subconjuntos de OTUs y metabolitos. Por ejemplo, en la rizosfera, *Pseudomonas delhiensis* (Rizo-BactOTU33) mostró correlaciones negativas con flavonoides glicosilados como Met725 ($p < 0$) y positivas con compuestos lipídicos como Met1216 (ácido linolénico y éster etílico), lo que sugiere una modulación diferencial de rutas metabólicas. De manera similar, *Dyadobacter soli* (Rizo-BactOTU335) presentó correlaciones negativas con metabolitos no identificados (Met569, Met782) y positivas con alcaloides como Met1202 (Valerianina), lo que evidencia que distintos microorganismos pueden inducir o suprimir rutas metabólicas específicas. Este patrón es consistente con mecanismos conocidos de interacción planta–microorganismo, incluyendo la competencia por precursores, la producción de metabolitos microbianos y la activación diferencial de respuestas de defensa (Pieterse et al., 2014).

Un número considerable de asociaciones involucró metabolitos compatibles con flavonoides, fenilpropanoides y otros compuestos derivados de la vía del ácido shikímico, una ruta central en defensa vegetal, anti-oxidación y señalización. Las correlaciones negativas observadas entre OTUs rizosféricas y flavonoides sugieren una posible regulación inversa entre la abundancia microbiana y la acumulación de compuestos fenólicos foliares. Este fenómeno puede explicarse mediante mecanismos no mutuamente excluyentes, como la supresión de rutas de defensa basal, la redistribución del flujo metabólico o la degradación microbiana de compuestos fenólicos. Estudios en *Arabidopsis thaliana* han demostrado que los flavonoides pueden modular el ensamblaje microbiano de la rizosfera, lo que evidencia una relación bidireccional entre el metabolismo vegetal y el microbioma (Stringlis et al., 2018).

Adicionalmente, se identificaron asociaciones con metabolitos compatibles con derivados de ácidos grasos poliinsaturados, incluidos compuestos relacionados con el ácido linolénico, precursor de la vía del jasmonato. La correlación positiva entre OTUs como *Rubrivivax gelatinosus* (Rizo-BactOTU487) y Met1216 sugiere una posible activación de rutas hormonales asociadas a la defensa inducida, particularmente resistencia sistémica inducida (ISR), un mecanismo ampliamente documentado en interacciones con rizobacterias (Pieterse et al., 2014). Asimismo, las correlaciones

con metabolitos nitrogenados sugieren una posible influencia del microbioma sobre el balance carbono/nitrógeno y la asignación de recursos metabólicos (Hardoim et al., 2008; Johnston-Monje et al., 2021).

Las comunidades fúngicas también mostraron asociaciones relevantes. OTUs como *Pichia eremophila* (Raíz-FungiOTU11) y *Fusarium suttonianum* (Raíz-FungiOTU64) presentaron correlaciones tanto positivas como negativas con múltiples metabolitos, incluidos Met754 (viniltolueno) y Met1056 (14-O-acetylinsuliclide A), lo que indica que los hongos contribuyen activamente a la modulación del metaboloma vegetal, en concordancia con su papel en la regulación de metabolitos secundarios (van der Heijden et al., 2015).

Con el fin de evaluar si la organización global de las comunidades microbianas rizosféricas se refleja en la estructura del metaboloma foliar, se realizó un análisis comparativo mediante tanglegram, integrando las abundancias relativas de OTUs bacterianas y fúngicas de la rizosfera (distancia de Bray–Curtis) con los metabolitos diferencialmente expresados normalizados por suma. El patrón más importante observado en este tanglegram fue que los microorganismos de rizosferas y de metabolomas de hojas de los controles y de plantas inoculadas con Villa-Laura formaron ramas profundas y separadas del resto de los tratamientos. Esto es uno de los resultados más importantes del estudio, que demuestra que la presencia de microorganismos en el suelo puede alterar el metaboloma de la planta, aunque el efecto no fue específico, ya que los metabolomas de Cauca, Dulce-Hogar y Armando no se pudieron distinguir entre sí. En albacora y tomate, la inoculación con suelo Villa Laura resultó en metabolomas similares a los controles (inoculados con agua estéril), lo que sugiere que este suelo estaba casi estéril al momento de la inoculación. Villa-Laura fue un suelo recolectado dos años antes del inicio del experimento, que se había mantenido a temperatura ambiente dentro de bolsas de plástico, lo cual quizás tuvo un efecto de pasteurización similar al de la solarización del suelo (Stapleton 2000).

La inoculación con los suelos resultó en una buena agrupación de los microorganismos de la rizosfera tratados con Dulce-Hogar y Cauca, pero los metabolomas de estas plantas no se pudieron distinguir estadísticamente entre sí ni de los de Armando. Este patrón puede explicarse mediante dos escenarios no mutuamente excluyentes. En primer lugar, diferentes comunidades microbianas podrían desempeñar funciones ecológicas equivalentes, un fenómeno conocido como redundancia funcional, ampliamente documentado en los microorganismos del suelo (Bahram et al., 2018). Bajo este modelo, microorganismos taxonómicamente distintos pueden inducir respuestas metabólicas similares en la planta, aun en ausencia de taxones compartidos. En segundo lugar, la respuesta metabólica observada podría estar asociada a mecanismos generales de percepción microbiana en la planta, como la inmunidad inducida por patrones moleculares (pattern-triggered immunity, PTI). Este tipo de respuesta no es altamente específica, ya que puede ser activada por moléculas conservadas (PAMPs) presentes en una amplia diversidad de microorganismos del suelo (Hudson et al., 2024). Como resultado, diferentes microorganismos pueden generar respuestas metabólicas convergentes en la planta, incluso cuando difieren en su composición taxonómica.

10.2 Tomate (*Solanum lycopersicum*)

10.2.1 Cambios inducidos por inoculación en los microorganismos de rizosferas y raíces

El análisis del microbioma de las raíces de tomate reveló un efecto general de la inoculación con suelo, con los microorganismos de las raíces de control diferentes a los de los demás. El análisis multivariado basado en la abundancia relativa de OTUs bacterianas (16S) y fúngicas (ITS), integradas en un mismo PCA, mostró una separación evidente entre las raíces control y los tratamientos edáficos. Otra vez, las muestras inoculadas por Villa-Laura fueron las más cercanas a los controles. El resto de las muestras de raíces y rizosferas mostró solapamiento entre sí, lo que sugiere que estos suelos introdujeron comunidades microbianas con efectos parcialmente convergentes sobre la estructura del microbioma. Este solapamiento, indica que distintos suelos pueden generar cambios similares en la estructura microbiana y no necesariamente tienen que ser idénticos. Esto puede interpretarse como una selección compartida de microorganismos adaptados a las nuevas condiciones edáficas y a la interacción con la raíz, más que como una colonización específica de cada tratamiento evaluado. El microbioma del suelo actúa como un modulador importante del microbiota vegetal, pero se ha evidenciado que su impacto depende de la composición del inóculo y de la capacidad de la raíz para filtrar y estabilizar las comunidades asociadas (Naumova et al. 2022).

En contraste con lo observado en la albahaca, se evidenció un agrupamiento más definido de las muestras de raíz de tomate por tratamiento, en particular en comparación con la rizosfera, donde las comunidades microbianas presentaron una mayor mezcla entre tratamientos. Esta diferencia sugiere que la raíz actúa como un filtro selectivo más potente que la rizosfera, favoreciendo el establecimiento de subconjuntos específicos de microorganismos capaces de colonizar el tejido vegetal. Un factor relevante que puede contribuir a explicar estas diferencias entre sistemas es la condición de cultivo. Las plantas de tomate se desarrollaron en recipientes abiertos, expuestas a fuentes externas de microorganismos, como polvo, insectos y aerosoles ambientales, mientras que la albahaca se cultivó en sistemas cerrados. Este tipo de inmigración microbiana ambiental ha sido ampliamente documentado como un determinante importante del ensamblaje de microbiomas asociados a plantas (Vorholt, 2012; Bulgarelli et al., 2013). En este contexto, la estructura del microbioma observada en tomate no solo refleja el efecto de la inoculación con suelos, sino también la contribución de microorganismos ambientales que pudieron colonizar la rizosfera y la raíz.

La inoculación con microorganismos de suelos contrastantes indujo cambios profundos en la estructura de las comunidades microbianas asociadas a la raíz y la rizosfera de tomate, evidenciados por la alta magnitud de los valores de $\log_2$ fold change observados en múltiples OTUs. En particular, en la raíz se detectaron incrementos extremos en la abundancia relativa de taxones específicos, como *Haliangium gulosus* (BactOTU220), que alcanzó valores de $\log_2$ FC de 10.8 en Armando y 13.4 en Cauca, así como *Steroidobacter agariperforans* (BactOTU154) en Cauca ($\log_2$ FC $\approx$ 12.4) y *Streptomyces stelliscabiei* (BactOTU59), con valores superiores a 12 en Dulce Hogar y Armando. Este patrón indica una colonización altamente exitosa y una expansión masiva de ciertos microorganismos introducidos a través del suelo, lo cual es consistente con procesos de establecimiento competitivo en la raíz, donde la planta actúa como un filtro selectivo que favorece taxones con ventajas ecológicas específicas (Bulgarelli et al., 2013).

La mayor magnitud de los cambios observados en la raíz, en comparación con la rizosfera, refuerza la idea de que este compartimento constituye un nicho altamente selectivo. Mientras que en la rizosfera se observaron incrementos más moderados, como los de *Aquicola aerophilus* (BactOTU300) y *Luteimonas nigricans* (BactOTU150) en Cauca, o de *Thermomonas diaoshuihuensis* (BactOTU4) en Dulce Hogar, en la raíz los cambios fueron más drásticos, lo que sugiere que solo un subconjunto de microorganismos logra establecerse exitosamente en una asociación más íntima con la planta. Este patrón ha sido ampliamente descrito en estudios sobre el microbioma vegetal, en los que la raíz selecciona activamente microorganismos mediante exudados y condiciones fisicoquímicas específicas (Bulgarelli et al., 2013; Trivedi et al., 2020).

Un aspecto relevante fue la recurrencia de ciertos taxones en múltiples tratamientos. OTUs como *Haliangium gulosus* (BactOTU220), *Ishiwariella tertiaricarbonis* (BactOTU305) y *Streptomyces stelliscabiei* (BactOTU59) mostraron incrementos significativos en más de un tratamiento, lo que sugiere que estos microorganismos poseen rasgos funcionales que les permiten colonizar eficientemente la raíz de tomate independientemente del origen del suelo. Este patrón es consistente con la presencia de microorganismos con estrategias ecológicas generalistas o con alta capacidad de adaptación a nichos radiculares, lo cual ha sido reportado en géneros como *Streptomyces* y *Rhizobium*, conocidos por su capacidad de colonización y de producción de metabolitos bioactivos (Berendsen et al., 2012).

En contraste, algunas OTUs mostraron una disminución consistente de su abundancia relativa tras la inoculación. Destaca el caso de *Burkholderia gladioli* (BactOTU3), que presentó valores de $\log_2 FC$ negativos, en particular en el tratamiento Armando. Este resultado sugiere la ocurrencia de procesos de exclusión competitiva, en los que los microorganismos introducidos en los suelos desplazan a taxones previamente establecidos. *Burkholderia gladioli* ha sido reportada como un microorganismo de comportamiento variable, que incluye asociaciones endofíticas y fitopatogénicas, por lo que su reducción podría reflejar una reorganización del microbioma hacia comunidades más competitivas o funcionalmente estables. La consistencia de este patrón con lo observado en la albahaca sugiere que este proceso responde a principios ecológicos generales del ensamblaje microbiano, más que a interacciones específicas dependientes del hospedero. Este hallazgo contrasta con estudios de inoculación de *Solanum lycopersicum*, en los que se han descrito consorcios bacterianos que pueden favorecer el desempeño del cultivo y que no necesariamente provocan un desplazamiento de la microbiota nativa (Silva et al. 2025).

La composición funcional de las comunidades también evidenció la coexistencia de microorganismos con potencial benéfico y fitopatogénico. En Dulce Hogar, por ejemplo, se observaron incrementos en *Paraburkholderia oxydans* (BactOTU182) y *Streptomyces hygroscopicus* (BactOTU552), ambos asociados a promoción de crecimiento vegetal y producción de compuestos antimicrobianos, mientras que en Cauca se detectó la presencia de *Corynespora cassiicola* (FungiOTU34), un patógeno conocido de tejidos foliares. Asimismo, se identificaron hongos potencialmente beneficiosos como *Trichoderma* (FungiOTU62), *Purpleocillium* (FungiOTU40) y *Chaetomium* (FungiOTU333), cuya presencia en los tratamientos inoculados sugiere que la introducción de microorganismos del suelo no solo incrementa la diversidad, sino que también incorpora organismos con funciones ecológicas contrastantes. La presencia de *Paraburkholderia oxydans* y de hongos antagonistas como *Trichoderma* sugiere la coexistencia de microorganismos con potencial promotor del crecimiento y de biocontrol (Guzmán et al. 2025). En contraste, *Corynespora cassiicola* evidencia la coexistencia de funciones ecológicas opuestas en el microbioma analizado (Li et al. 2021).

En la comunidad fúngica, OTUs como *Pichia eremophila* (FungiOTU11) y *Coniothyrium sidae* (FungiOTU20) se enriquecieron en tratamientos específicos como Armando y Cauca, mientras que otros taxones como *Rhizophydiaceae* (FungiOTU2) y *Spizellomyces punctatus* (FungiOTU36) se asociaron a Cauca y Villa Laura. Estos resultados indican que la inoculación con suelos introduce una diversidad funcional de hongos, cuya capacidad de colonización puede depender tanto de las condiciones del suelo como de la compatibilidad con el hospedero (Zelaya et al. 2021).

El análisis de diversidad mostró que los tratamientos Dulce Hogar ($H' = 3.9$ en raíz; 3.8 en rizosfera) y Cauca ($H' = 3.6$ en raíz; 4.1 en rizosfera) promovieron comunidades más diversas que el control ($H' = 2.5$ en raíz; 3.6 en rizosfera). Este incremento en la diversidad estuvo acompañado de una distribución más equitativa de abundancias relativas, en contraste con el control, en el que unas pocas OTUs dominaron la comunidad. Este patrón sugiere que la inoculación con microorganismos de suelo no solo introduce nuevos taxones, sino que también reestructura la comunidad microbiana, promoviendo una mayor equidad y complejidad ecológica. En términos ecológicos, estos resultados

respaldan el concepto de “terruño microbiano” aplicado a sistemas hortícolas, según el cual suelos con historias agrícolas distintas generan ensamblajes microbianos diferenciables en plantas cultivadas (Zarraonaindia et al., 2015; Toju et al., 2018). Sin embargo, a diferencia de sistemas fermentativos o frutales, donde el microbiota puede influir directamente en la química del órgano cosechado, en el tomate la modificación estructural del microbioma no necesariamente implica una alteración funcional proporcional en el fruto, como se discute en la sección siguiente.

10.2.2 Cambios en el metaboloma de frutos de tomates inducidos por la inoculación con microorganismos de diferentes suelos

El análisis metabolómico de frutos de tomate evidenció que la influencia de los microorganismos edáficos sobre el perfil químico del fruto es limitada y altamente dependiente del tratamiento aplicado. Aunque los modelos PLS-DA mostraron cierta separación entre los tratamientos y el control, la baja capacidad predictiva en la mayoría de los casos indica que estas diferencias no son consistentes y que solo el tratamiento Dulce Hogar genera una respuesta metabolómica más robusta. Este patrón sugiere que la modulación del metaboloma no es un efecto general de la inoculación, sino que depende de propiedades funcionales específicas de cada microorganismo. La marcada diferencia en el número de metabolitos diferencialmente expresados entre los tratamientos refuerza esta interpretación. Mientras que Dulce Hogar indujo cambios en múltiples compuestos, Cauca y Armando mostraron respuestas muy limitadas y en Villa Laura no se detectaron cambios significativos. Este comportamiento indica que la mayoría de los microbiomas evaluados no generan una reprogramación metabólica detectable en el fruto, aunque sí inducen cambios importantes en la estructura del microbioma radicular. Esto se correlaciona con investigaciones que indican que la modulación del metaboloma de *Solanum lycopersicum* depende de la identidad funcional del inóculo; además, pueden presentarse respuestas metabólicas limitadas o poco consistentes entre los tratamientos evaluados en una investigación (Sudiro et al. 2022).

Los metabolitos afectados pertenecen principalmente a clases asociadas al metabolismo secundario y al metabolismo lipídico, incluyendo glucósidos fenólicos, saponinas, alcaloides y lípidos de membrana. En el caso de Dulce Hogar, predominó la disminución de estos compuestos, lo que sugiere una reconfiguración del metabolismo más que una activación generalizada de rutas biosintéticas. Este tipo de respuesta ha sido descrito en interacciones planta–microorganismo, donde la presencia de microorganismos benéficos puede modular la inversión en metabolitos de defensa, reduciendo la acumulación de compuestos secundarios constitutivos (Pieterse et al., 2014; Pang et al., 2021).

La respuesta limitada observada en tomate contrasta con lo reportado en otros estudios, en los que el metaboloma del fruto es altamente sensible a factores ambientales como la nutrición, el estrés o las condiciones de cultivo (Tikunov et al., 2005; Carreno-Quintero et al., 2012). Esta diferencia sugiere que, en las condiciones evaluadas, el microbioma del suelo no constituye un factor dominante en la determinación del perfil químico del fruto, o que su efecto se ve amortiguado por otros procesos fisiológicos. Una posible explicación radica en la naturaleza del tejido analizado. El fruto es un órgano altamente regulado, cuyo metabolismo está fuertemente controlado por programas de desarrollo y maduración, lo que puede limitar la influencia de las señales externas del microbioma (Klee & Giovannoni, 2011). Esta regulación podría restringir la magnitud de los cambios metabolómicos inducidos por los microorganismos asociados a la raíz.

Adicionalmente, las condiciones de cultivo en sistemas abiertos pueden haber contribuido a una mayor variabilidad del microbioma, debido a la incorporación de microorganismos ambientales. Este componente estocástico podría diluir los efectos específicos de los tratamientos y reducir su impacto

sobre el metaboloma (Vorholt, 2012). En conjunto, estos resultados sugieren que la relación entre microbioma y metaboloma en frutos de tomate es más débil y dependiente del contexto que en otros sistemas, y que la modulación metabólica requiere condiciones específicas o microbiomas con alta capacidad funcional.

10.3.3 Asociaciones entre comunidades microbianas y perfiles metabolómicos

De manera consistente con lo observado en albahaca, el sistema de tomate evidenció una correspondencia entre la estructura del microbioma y el perfil metabolómico, particularmente en el compartimento radicular. El análisis mediante tanglegram mostró que las comunidades microbianas de la raíz se agrupan de manera diferenciada entre los controles e inoculados, y que esta organización se refleja en la estructura global del metaboloma del fruto. Este patrón sugiere que, al igual que en albahaca, existe una conexión funcional entre microbioma y metaboloma; sin embargo, en tomate esta relación se manifiesta de forma más restringida y dependiente del contexto. Este resultado coincide con una investigación en la que el microbioma rizosférico del tomate induce cambios sistémicos en la exudación y el metabolismo radicales; se encontró que la respuesta fue más evidente en los exudados que en el perfil global del fruto. Se puede sugerir que la estructura del microbioma y el perfil metabolómico pueden estar condicionados por el tejido analizado y el estado de inoculación (Fu et al. 2021).

A diferencia de la albahaca, en la que la rizosfera mostró una fuerte correspondencia con el metaboloma foliar, en el tomate esta relación fue evidente únicamente en la raíz, mientras que la rizosfera no presentó una estructura clara ni una correspondencia consistente con el metaboloma del fruto. Esta diferencia indica que la proximidad funcional al hospedero es determinante para la capacidad del microbioma de influir en procesos metabólicos sistémicos, siendo la raíz un compartimento más estrechamente integrado con la fisiología de la planta (Bulgarelli et al., 2013; Trivedi et al., 2020; Johnston-Monje et al., 2017). A pesar de esta correspondencia estructural, la magnitud del efecto sobre el metaboloma fue limitada, lo cual concuerda con el bajo número de metabolitos diferencialmente expresados y con la escasa cantidad de correlaciones significativas detectadas. En este sentido, las asociaciones identificadas; como la correlación negativa entre *Actinomadura philippinensis* (Raiz-BactOTU114) y Met552, o la positiva entre *Burkholderia gladioli* (Raiz-BactOTU3) y Met459, reflejan interacciones específicas entre microorganismos individuales y metabolitos particulares, más que una reprogramación global del metabolismo del fruto. Este tipo de relaciones puntuales ha sido descrito en estudios en los que el microbioma modula rutas metabólicas específicas sin alterar ampliamente el perfil metabolómico (Pang et al., 2021).

La limitada traducción de los cambios microbianos en respuestas metabolómicas puede explicarse por la naturaleza del fruto como órgano altamente regulado. A diferencia de tejidos como hojas o raíces, el metabolismo del fruto está controlado por programas de desarrollo y maduración que integran señales hormonales y metabólicas complejas, lo que puede amortiguar la influencia de señales externas derivadas del microbioma (Klee & Giovannoni, 2011; Carrari & Fernie, 2006). Este control intrínseco podría explicar por qué, a pesar de observarse cambios marcados en la estructura del microbioma radicular, el metaboloma del fruto presenta una respuesta más limitada.

El comportamiento del tratamiento en Villa Laura refuerza esta interpretación. En este caso, tanto el microbioma como el metaboloma mostraron una alta similitud con el control, un patrón que también se observó en la albahaca. Esta consistencia sugiere una baja capacidad funcional de este microbioma para interactuar con la planta, posiblemente asociada a una menor actividad microbiana

derivada de las condiciones de almacenamiento del suelo (Stapleton, 2000), más que a la ausencia total de microorganismos.

Por otra parte, la falta de una diferenciación clara entre los metabolomas de los tratamientos Dulce Hogar, Cauca y Armando, a pesar de presentar microbiomas distintos, sugiere que distintas comunidades microbianas pueden inducir respuestas metabólicas similares en la planta. Este fenómeno puede explicarse mediante redundancia funcional, en la que microorganismos taxonómicamente distintos desempeñan funciones ecológicas equivalentes (Bahram et al., 2018), o mediante la activación de respuestas generales del sistema inmune vegetal, como la inmunidad inducida por patrones moleculares (PTI), que no es altamente específica debido a la amplia distribución de PAMPs en los microorganismos del suelo (Hudson et al., 2024).

10.3 Café (*Coffea arabica*)

10.3.1 Cambios inducidos por inoculación en los microorganismos durante la fermentación

El análisis de los microorganismos durante la fermentación de semillas de café evidenció que la estructura de las comunidades microbianas está fuertemente determinada por el tipo de tratamiento, en particular por el método Honey, que se distingue de los controles y del resto de las condiciones evaluadas. La clara separación observada en el análisis multivariado, junto con el alto valor explicativo del modelo (PERMANOVA $R^2 = 0.91$), indica que el ambiente de fermentación y las condiciones iniciales del sustrato son factores determinantes del ensamblaje microbiano. Sin embargo, más allá de estas diferencias estructurales, los resultados muestran que la mayoría de las inoculaciones no generaron comunidades radicalmente distintas entre sí, lo que sugiere la existencia de mecanismos de selección que limitan el impacto de los inóculos externos. Estos hallazgos coinciden con una investigación donde se encontró que en la fermentación del café el sustrato y el contexto del proceso ejercen un factor de selección en bacterias y levaduras, como resultado se obtienen comunidades relativamente estables (Korenblum et al. 2020).

Un resultado central del presente estudio es la identificación de un conjunto de OTUs bacterianas dominantes presentes en todos los tratamientos, entre ellas *Acetobacter orientalis* (BactOTU5), *Gluconobacter frateurii* (BactOTU23), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (BactOTU9) y *Lactococcus lactis* (BactOTU685). La persistencia de estos microorganismos, independientemente del tratamiento, sugiere la existencia de un microbioma central asociado a las semillas de café, capaz de resistir tanto los procesos de esterilización iniciales como las distintas condiciones de inoculación. Este tipo de microorganismos ha sido ampliamente descrito en fermentaciones espontáneas, donde se adaptan al sustrato y a las condiciones fisicoquímicas y dominan el proceso independientemente de perturbaciones externas (De Vuyst & Leroy, 2007; Pereira et al., 2020).

La dominancia de bacterias ácido-acéticas como *Acetobacter* y *Gluconobacter* es consistente con su capacidad de crecer en ambientes ricos en azúcares y de tolerar condiciones de estrés, como cambios de pH y la acumulación de metabolitos, características típicas de la fermentación de café (De Bruyn et al., 2017). Asimismo, la presencia de bacterias ácido-lácticas como *Leuconostoc* y *Lactococcus* refleja procesos fermentativos complementarios, en los que la producción de ácidos orgánicos contribuye a la acidificación del medio y a la dinámica de sucesión del microbioma. En contraste, existen sistemas donde la inoculación de cepas exógenas no altera el microbioma, la

capacidad del nicho fermentativo puede seleccionar solo a los microorganismos mejor adaptados, lo que limita la singularidad de los inóculos (Mena et al. 2025).

A pesar de la inoculación dirigida, las cepas introducidas no lograron dominar las comunidades microbianas. En el caso del tratamiento con *Burkholderia*, aunque se observó un incremento en OTUs asociadas a este género (por ejemplo, BactOTU3, BactOTU4, BactOTU22), estas no superaron en abundancia a los miembros del microbioma núcleo. De manera similar, *Yarrowia lipolytica* (FungiOTU3) mostró un aumento de su abundancia relativa en el tratamiento correspondiente ($\log_2FC \approx 6.63$), pero no desplazó a *Pichia eremophila* (FungiOTU11), que dominó la comunidad fúngica en todos los tratamientos. Este patrón sugiere que la colonización exitosa en este sistema no depende únicamente de la introducción de microorganismos, sino también de su capacidad para competir y adaptarse a las condiciones específicas de la fermentación. Este resultado es de gran importancia porque sugiere que el sistema ejerce un filtrado ecológico intenso para favorecer a los microorganismos más adaptados al ambiente de fermentación. Por ello, la colonización exitosa parece depender menos de la inoculación y más de la capacidad competitiva y la afinidad metabólica de cada microorganismo, resultado que se ha descrito en otros sistemas fermentativos donde el ambiente tiene influencia en la presencia de un microorganismo u otro (De Bruyn et al. 2017).

La fuerte dominancia de *Pichia eremophila* en la comunidad fúngica, con abundancias superiores al 70–95% en la mayoría de los tratamientos, indica un proceso de exclusión competitiva en el que un único taxón altamente adaptado monopoliza el nicho ecológico. En contraste, el tratamiento Santuario presentó una mayor diversidad fúngica, con la presencia de OTUs subdominantes como *Hanseniaspora clermontiae* (FungiOTU55) y *Yarrowia lipolytica* (FungiOTU3), lo que sugiere que ciertas condiciones pueden favorecer una mayor equidad en la comunidad. Este tipo de dinámica ha sido descrito en fermentaciones en las que pequeñas variaciones en las condiciones iniciales pueden alterar la sucesión microbiana y la diversidad final (Wolfe & Dutton, 2015).

El tratamiento Honey presentó un comportamiento claramente diferenciado respecto del resto de las condiciones, lo cual puede explicarse por las particularidades de este método de procesamiento. A diferencia de las fermentaciones húmedas, en las que las semillas se sumergen en agua y se favorece la actividad de microorganismos anaerobios o facultativos, el método Honey consiste en secar las semillas con el mucílago residual adherido, sin una fase de fermentación acuosa. Esta diferencia genera un ambiente con menor disponibilidad de agua, mayor exposición al oxígeno y gradientes más heterogéneos de azúcares y humedad, lo que impone presiones de selección distintas sobre las comunidades microbianas. Este resultado es similar a una investigación reciente sobre el papel del mucílago y la disponibilidad de agua en el ensamble microbiano durante el procesamiento del café y se encontró que la presencia del mucílago residual y la ausencia de una fase de fermentación acuosa favorecen comunidades de microorganismos más aeróbicas (Valle et al. 2026).

En el contexto anterior, la mayor diversidad bacteriana observada en Honey ($H' = 1.13$) sugiere que este sistema permite la coexistencia de múltiples taxones, en contraste con las fermentaciones húmedas donde suelen dominar unos pocos grupos altamente especializados. Este patrón es consistente con estudios en procesamiento de café que han demostrado que los métodos secos o semi-secos favorecen comunidades más diversas y menos dominadas, debido a la ausencia de condiciones homogéneas que promuevan la rápida proliferación de microorganismos fermentativos específicos (De Bruyn et al., 2017; Pereira et al., 2020). Sin embargo, a nivel fúngico, el tratamiento Honey mostró una dominancia extrema de *Pichia eremophila*, lo que indica que, aunque el ambiente permite diversidad bacteriana, ciertos hongos altamente adaptados a condiciones de estrés osmótico y a la disponibilidad limitada de agua pueden monopolizar el nicho. Las levaduras del género *Pichia* han sido ampliamente reportadas en fermentaciones de café y en otros sistemas ricos en azúcares,

donde su tolerancia a condiciones variables les permite dominar etapas clave del proceso (De Vuyst & Leroy, 2007).

10.3.2 Modulación del metaboloma inducida por comunidades microbianas

El análisis metabolómico de semillas de café fermentadas evidenció una aparente discrepancia entre los enfoques multivariados y univariados. Mientras que el modelo PLS-DA mostró una capacidad limitada para discriminar entre la mayoría de los tratamientos, con un alto grado de solapamiento y una baja capacidad predictiva ($Q^2 < 0$). El análisis univariado reveló la presencia de un número considerable de metabolitos diferencialmente expresados, particularmente en los tratamientos Honey y Yarrowia. Este desacople sugiere que los cambios inducidos por la fermentación microbiana son específicos a nivel de metabolitos individuales, pero no lo suficientemente consistentes ni coordinados como para generar una separación global robusta en el espacio multivariado. Este patrón es similar a una investigación donde diferentes procesos de fermentación generaron amplias listas de metabolitos, pero la separación por el modelo PLS-DA fue débil cuando no existía una coordinación sistemática entre las vías metabólicas (Schneider et al. 2025).

Otra posible explicación para el patrón indicado anteriormente radica en el procesamiento post-fermentativo de las semillas. En los tratamientos de fermentación húmeda, el lavado posterior puede eliminar una fracción importante de metabolitos asociados a la actividad microbiana, especialmente aquellos localizados en la superficie del mucílago o débilmente asociados al grano. Este proceso podría homogeneizar parcialmente los perfiles químicos entre los tratamientos, reduciendo la señal detectable en análisis globales como PLS-DA, pero aún permitiría detectar cambios específicos mediante análisis univariados. Este efecto ha sido sugerido en estudios sobre el procesamiento del café, en los que las etapas de lavado influyen de manera significativa en la composición final de metabolitos y compuestos precursores de aroma (De Bruyn et al., 2017; Elhalis et al., 2021).

En contraste, el tratamiento Honey mostró una diferenciación clara tanto en el análisis multivariado como en el número de metabolitos diferencialmente expresados, lo que refuerza la idea de que este método representa un sistema de fermentación distinto. Al no incluir una fase de lavado, los compuestos generados o modificados durante el procesamiento permanecen asociados a la semilla, lo que permite su acumulación y detección. Además, las condiciones de menor disponibilidad de agua y mayor exposición al oxígeno en este sistema generan presiones de selección microbiana distintas, lo que se traduce en una actividad metabólica diferente y, en consecuencia, en un perfil químico más divergente. Este resultado coincide con hallazgos recientes donde se ha encontrado que la ausencia de lavado y la permanencia del mucílago en el grano de café generan un proceso de modulación de la dinámica de metabolitos y precursores de aroma (Schneider et al. 2025).

El elevado número de metabolitos diferenciales en Honey (116) y Yarrowia (113), en comparación con los tratamientos húmedos como Santuario (14) y Dulce Hogar (25), sugiere que la magnitud de la respuesta metabolómica no depende únicamente de la diversidad microbiana, sino también de la interacción entre el tipo de fermentación y la retención de metabolitos en el sistema. En el caso de Yarrowia, aunque se trata de una fermentación húmeda, la introducción de una levadura metabólicamente activa podría haber generado transformaciones químicas más marcadas, aunque parcialmente atenuadas por el lavado. Este resultado se alinea con estudios recientes de fermentación cafetera donde los métodos que preservan el mucílago y reducen el lavado, generan perfiles metabólicos más amplios, mientras que, en sistemas de fermentación húmeda con un lavado frecuente, se observa una menor acumulación de metabolitos (Yan et al. 2025).

A nivel cualitativo, los cambios observados se concentraron principalmente en metabolitos del metabolismo secundario, incluidos flavonoides, antocianinas y compuestos nitrogenados. La disminución de flavonoles y antocianinas en Honey, junto con la acumulación de compuestos como triptamina (Met1208) y piridoxamina (Met655), sugiere una reconfiguración de rutas metabólicas relacionadas con el metabolismo del triptófano y la degradación de compuestos fenólicos. Estas transformaciones se han asociado a la actividad microbiana durante la fermentación, en la que las enzimas microbianas pueden degradar, modificar o transformar metabolitos vegetales preexistentes (Elhalis et al., 2021).

Finalmente, la presencia de metabolitos compartidos entre tratamientos, como el incremento de la quercetina caffeoyl-glucósido (Met641) en Dulce Hogar y Santuario, sugiere que, a pesar de las diferencias en la composición microbiana, existen rutas metabólicas comunes que pueden ser activadas por distintos consorcios. Este patrón es consistente con el concepto de redundancia funcional, según el cual comunidades microbianas diferentes pueden generar efectos metabólicos similares (Wolfe & Dutton, 2015).

10.3.3 Correlaciones microbioma–metaboloma en la fermentación de café

Se identificaron asociaciones específicas entre determinados taxones y metabolitos diferenciales, sin embargo, no se observó una congruencia entre la composición microbiana y la matriz metabolómica completa. Este resultado sugiere que la relación microbioma–metaboloma en la fermentación del café no conduce a una reconfiguración sistémica total, sino a una modulación selectiva de subconjuntos metabólicos. Esto sugiere que en la fermentación del café existe un modelo de modulación selectiva en el que algunas rutas metabólicas responden a la actividad de ciertos microorganismos dominantes, mientras que otras vías metabólicas permanecen relativamente estables (Moreno et al. 2022).

La ausencia de un acoplamiento estructural completo, detectada en el análisis comparativo de dendrogramas, indica que la variación global del metaboloma no se determina exclusivamente por la presencia de microorganismos. Este patrón es coherente con estudios multi-ómicos en sistemas fermentativos y en microbiomas vegetales, donde se ha observado que las comunidades microbianas influyen principalmente en rutas metabólicas específicas, mientras que una proporción considerable del metaboloma refleja procesos intrínsecos del hospedero o transformaciones químicas independientes de la composición microbiana (Zhalnina et al., 2018).

En el contexto anterior, las 36 correlaciones significativas identificadas entre 9 OTUs y 27 metabolitos representan puntos de interacción potenciales, más que una reorganización completa del sistema químico. La concentración de asociaciones con compuestos fenólicos y flavonoides sugiere que estas rutas metabólicas podrían constituir módulos particularmente sensibles a la actividad microbiana. Los compuestos fenólicos del café, derivados principalmente de los ácidos clorogénicos y los flavonoides del fruto, son susceptibles a la oxidación, la hidrólisis y las transformaciones enzimáticas mediadas por bacterias acéticas y levaduras no-*Saccharomyces* (Farah, 2012; Elhalis et al., 2021).

La alta conectividad observada en taxones como *Gluconobacter frateurii* y *Kurtzmaniella quercitrusa* indica que ciertos microorganismos pueden actuar como “hubs” ecológicos dentro de la red de interacciones, estableciendo múltiples asociaciones con metabolitos diferenciales. Sin embargo, la coexistencia de correlaciones positivas y negativas en un mismo taxón sugiere que estas relaciones no obedecen a un único mecanismo metabólico, sino a una interacción compleja entre la producción,

la transformación y el consumo de compuestos. Este patrón es similar al encontrado en una investigación donde se encontró que unas pocas especies de microorganismos con alta conectividad metabólica generan altas correlaciones entre microorganismos y metabolitos (López-Mondéjar et al., 2022).

Desde una perspectiva de biología de sistemas, los resultados respaldan un modelo de modularidad metabólica, en el que la fermentación del café se organiza en subsistemas funcionales parcialmente independientes. Bajo este modelo, el microbioma influye de manera significativa en ciertos módulos —particularmente aquellos relacionados con compuestos fenólicos y derivados nitrogenados— mientras que otros componentes del metaboloma permanecen relativamente estables o regulados por procesos no microbianos. Esto sugiere que en la fermentación del café opera un patrón de control parcial, donde cada módulo tiene respuesta a un propio conjunto de reguladores biológicos y ambientales. Se ha observado que ciertos ejes metabólicos como fenilpropanoide o el aminoácido-nitrogenado tienen mayor sensibilidad a la actividad microbiana (Revelo, 2024).

El enfoque modular anterior también explica por qué la señal de asociación se vuelve más evidente cuando el análisis se restringe a los metabolitos acumulados de manera diferencial. Es probable que la señal microbiana se diluya al considerar todos los metabolitos detectados, ya que muchos de ellos pueden no estar directamente involucrados en procesos sensibles a la actividad fermentativa. No obstante, es importante subrayar que la mayoría de las correlaciones identificadas mantienen significancia en un contexto exploratorio y pierden robustez tras la corrección estricta por FDR. Este fenómeno es común en estudios multi-ómicos con tamaños muestrales limitados y alta dimensionalidad, donde la potencia estadística para detectar asociaciones verdaderamente causales es restringida (Bokulich et al., 2016). En consecuencia, las asociaciones descritas deben interpretarse como hipótesis funcionales plausibles, más que como evidencia definitiva de una interacción metabólica directa.

En conjunto, los resultados sugieren que la fermentación de *Coffea arabica* constituye un sistema ecológico modular en el que la composición microbiana no determina el metaboloma de manera global, pero sí modula rutas metabólicas específicas con potencial relevancia para la calidad química del grano. Este modelo integrativo amplía la comprensión del papel del microbioma en las fermentaciones vegetales y aporta evidencia empírica al concepto de modulación selectiva del metaboloma por parte de comunidades microbianas complejas.

11 CONCLUSIONES

Se caracterizó la diversidad taxonómica de las comunidades bacterianas y fúngicas asociadas a raíces, rizosferas y fermentaciones de semillas de tomate, albahaca y café. Los resultados evidencian que la inoculación con microbiomas de suelos, conocidos como contrastantes, produce cambios en la estructura microbiana. En albahaca y tomate, dichos cambios fueron más evidentes en los tejidos radicales y rizosféricos, mientras que en el café se encontró una selección de comunidades microbianas adaptadas al proceso de fermentación; en este sistema se encontró un microbioma compartido entre los tratamientos.

Se analizaron los perfiles metabolómicos de hojas de albahaca, frutos de tomate y semillas fermentadas de café mediante LC-MS no dirigida, identificándose modificaciones diferenciales en la abundancia de metabolitos según el sistema y el tratamiento. En albahaca se observaron cambios metabolómicos asociados a la inoculación del suelo; en tomate, la respuesta fue más limitada y

dependió del tratamiento; en contraste, en el café se detectaron diferencias más marcadas entre los métodos de fermentación, especialmente en Honey y en el tratamiento con *Yarrowia*.

Se determinaron asociaciones estadísticas entre la composición de las comunidades microbianas y los perfiles metabolómicos, identificándose correlaciones específicas entre taxones bacterianos y fúngicos y metabolitos diferenciales. Sin embargo, estas asociaciones deben interpretarse como relaciones estadísticamente probables y no como evidencia causal. Esto se considera principalmente porque no se evaluaron experimentalmente los mecanismos bioquímicos directos ni se validaron funcionalmente las interacciones detectadas.

En general, los resultados muestran que la influencia del microbioma sobre el metaboloma depende del sistema biológico, del compartimento vegetal y del tipo de proceso evaluado. En albahaca se observó una correspondencia más clara entre rizosfera y metaboloma foliar; en tomate, la relación microbioma-metaboloma fue más restringida y de menor magnitud; y en café, aunque hubo una marcada reestructuración microbiana, el acoplamiento con el metaboloma de las semillas fue parcial o ausente en varias condiciones.

En café, los hallazgos indican que la fermentación bajo condiciones controladas seleccionó comunidades microbianas dominadas por grupos fermentativos recurrentes, pero la traducción de esa estructura al perfil químico de la semilla fue limitada por factores del propio procesamiento, particularmente el lavado y el secado posteriores. Por tanto, el estudio sugiere una relación modular entre microbioma y metaboloma en este sistema, sin sustentar una reorganización global completa de la bioquímica de la semilla.

La investigación aporta evidencia preliminar de que los microbiomas derivados de suelos contrastantes pueden modular, en distintos grados, la composición microbiana y algunos rasgos metabolómicos en sistemas agrícolas y agroindustriales. Sin embargo, los datos no permiten afirmar una relación directa entre taxones específicos y la acumulación de metabolitos, sino más bien una asociación ecológica y estadística que debe evaluarse en futuras investigaciones.

Entre las principales limitaciones del estudio se encuentra que las asociaciones inferidas provienen de análisis observacionales y multivariados, por lo que no es posible establecer causalidad. Además, el procesamiento poscosecha, la complejidad de los metabolomas y la posible influencia de factores ambientales no controlados pueden haber atenuado o modulado algunas respuestas, especialmente en el sistema del café.

Se recomienda aislar y caracterizar las cepas microbianas asociadas a las correlaciones más relevantes, realizar inoculaciones de mono- o co-cultivo bajo condiciones controladas y complementar el análisis con enfoques funcionales como transcriptómica, metabolómica dirigida o ensayos bioquímicos, con el fin de validar los mecanismos implicados en la modulación del metaboloma. Además, es importante realizar estudios funcionales que permitan identificar los mecanismos biológicos responsables de las asociaciones observadas entre el microbioma y el metaboloma.

12 REFERENCIAS

Afridi MS, Javed MA, Ali S, De Medeiros FHV, Ali B, Salam A, Sumaira, Marc RA, Alkhalifah DHM, Selim S and Santoyo G (2022) New opportunities in plant microbiome engineering for increasing agricultural sustainability under stressful conditions. *Front. Plant Sci.* 13:899464. doi:

10.3389/fpls.2022.899464

- Bahram, Mohammad, Falk Hildebrand, Sofia K. Forslund, Jennifer L. Anderson, Nadejda A. Soudzilovskaia, Peter M. Bodegom, Johan Bengtsson-Palme et al. "Structure and function of the global topsoil microorganismome." *Nature* 560, no. 7717 (2018): 233-237.
- Badri, D. V., Zolla, G., Bakker, M. G., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2013). Potential impact of soil microorganismomes on the leaf metabolome and on herbivore feeding behavior. *New Phytologist*, 198(1), 264-273.
- Baimakhanova, B. B., Sadanov, A. K., Ratnikova, I. A., Baimakhanova, G. B., Orasymbet, S. E., Amitova, A. A., Aitkaliyeva, G. S., & Kakimova, A. B. (2025). In Silico Modeling of Metabolic Pathways in Probiotic Microorganisms for Functional Food Biotechnology. *Fermentation*, 11(8), 458. <https://doi.org/10.3390/fermentation11080458>
- Benhamou, Nicole, Gaëtan Le Floch, Jessica Vallance, Jonathan Gerbore, Damien Grizard, and Patrice Rey. "Pythium oligandrum: an example of opportunistic success." *Microorganisms* 158, no. 11 (2012): 2679-2694.
- Beltrán-Noboa, A., Proaño-Ojeda, J., Guevara, M., Gallo, B., Berrueta, L., Giampieri, F., & Tejera, E. (2022). Metabolomic profile and computational analysis for the identification of the potential anti-inflammatory mechanisms of action of the traditional medicinal plants *Ocimum basilicum* and *Ocimum tenuiflorum*. *Food and Chemical Toxicology*, 164, 113039.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., & Bakker, P. A. (2012). The rhizosphere microorganism and plant health. *Trends in plant science*, 17(8), 478-486.
- Berg, G., & Smalla, K. (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microorganisms Ecology*, 68(1), 1–13.
- Bhattacharyya, P., & Jha, D. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microorganisms and Biotechnology*, 28, 327–1350.
- Bijlsma, S. et al. (2006). Large-scale human metabolomics studies. *Analytical Chemistry*.
- Blaženović, I., Kind, T., Ji, J., & Fiehn, O. (2018). Software tools and approaches for compound identification of LC-MS/MS data in metabolomics. *Metabolites*, 8(2), 31.
- Bokulich, N., Collins, T., Masarweh, C., Allen, G., Heymann, H., Ebeler, S., & Mills, D. (2016). Associations among wine grape microbiome, metabolome, and fermentation behavior suggest microbial contribution to regional wine characteristics. *MBio*, 7(3), e00631-16.
- Bolivar, C., Paez-Velez, C., & Dussán, J. (2021). *Glyphosate concentration decreases in the soil cultivated with *Alnus acuminata* var. *acuminata* when inoculating *Lysinibacillus sphaericus**. 1–42.
- Bowles, T., Barrios-Masias, F., Carlisle, E., Cavagnaro, T., & Jackson, L. (2016). Effects of arbuscular mycorrhizae on tomato yield, nutrient uptake, water relations, and soil carbon dynamics under deficit irrigation in field conditions. *Cience of the Total Environment*, 566, 1223–1234.
- Broeckling, C. D., Beger, R. D., Cheng, L. L., Cumeras, R., Cuthbertson, D. J., Dasari, S., Davis, W. C., Dunn, W. B., Evans, A. M., Fernández-Ochoa, A., Gika, H., Goodacre, R., Goodman, K. D., Gouveia, G. J., Hsu, P. C., Kirwan, J. A., Kodra, D., Kuligowski, J., Lan, R. S., Monge, M. E., ... Mosley, J. D. (2023). Current Practices in LC-MS Untargeted Metabolomics: A Scoping Review on the Use of Pooled Quality Control Samples. *Analytical chemistry*, 95(51), 18645–18654. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c02924>
- Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., &

- Schulze-Lefert, P. (2012). Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microorganismal. *Nature*, 488(7409), 91–95.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Van Themaat, E., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microorganisms of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 807–838.
- Carrari, F., & Fernie, A. R. (2006). Metabolic regulation underlying tomato fruit development. *Journal of experimental botany*, 57(9), 1883-1897.
- Carrau, F., Boido, E., & Ramey, D. (2020). Yeasts for low input winemaking: microbial terruño and flavor differentiation. *Advances in Applied Microorganism* 111, 89–121.
- Chae, L., Lee, I., Shin, J., & Rhee, S. Y. (2012). Towards understanding how molecular networks evolve in plants. *Current opinion in plant biology*, 15(2), 177-184.
- Chagas Junior, G., Ferreira, N., Andrade, E., Nascimento, L., Siqueira, F., & Lopes, A. (2021). Profile of volatile compounds of on-farm fermented and dried cocoa beans inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* KY794742 and *Pichia kudriavzevii* KY794725. *Molecules*, 26(2), 344.
- Chen, S., Zhang, Y., Ma, J., Bai, M., Chen, Y., Guo, J., & Chen, L. (2025). Environmental Effects on Bacterial Community Assembly in Arid and Semi-Arid Grasslands. *Microorganisms*, 13(8), 1934. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13081934>
- Chialva, M., Salvioli di Fossalunga, A., Daghino, S., Ghignone, S., Bagnaresi, P., Chiapello, M., ... & Bonfante, P. (2018). Native soils with their microorganisms elicit a state of alert in tomato plants. *New Phytologist*, 220(4), 1296-1308.
- Chaparro, J. M., Badri, D. V., & Vivanco, J. M. (2014). Rhizosphere microorganism assemblage is affected by plant development. *The ISME journal*, 8(4), 790-803.
- Comite, E., El-Nakhel, C., Rouphael, Y., Ventorino, V., Pepe, O., Borzacchiello, A., & Woo, S. (2021). Bioformulations with beneficial microbial consortia, a bioactive compound and plant biopolymers modulate sweet basil productivity, photosynthetic activity and metabolites. *Pathogens*, 10(7), 870.
- De Bruyn, F., Zhang, S. J., Pothakos, V., Torres, J., Lambot, C., Moroni, A. V., Callanan, M., Sybesma, W., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2017). Exploring the impacts of postharvest processing on the microbiota and metabolite profiles during green coffee bean production. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1), e02398-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02398-16>
- da Silva Vale, A., de Melo Pereira, G., de Carvalho Neto, D., Sorto, R. D., Goés-Neto, A., Kato, R., & Socol, C. (2021). Facility-specific 'house' microorganism ensures the maintenance of functional microbial communities into coffee beans fermentation: implications for source tracking. *Environmental Microorganism Reports* 2, 13(4), 470–481.
- de Oliveira Junqueira, A., de Melo Pereira, G., Coral Medina, J., Alvear, M., Rosero, R., de Carvalho Neto, D., & Socol, C. (2019). First description of bacterial and fungal communities in Colombian coffee beans fermentation analysed using Illumina-based amplicon sequencing. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10.
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A., Brewer, T., Benavent-González, A., Eldridge, D., Bardgett, R., & Fierer, N. (2018). A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*, 359(6373), 320–325.
- De Bruyn, F. et al. (2017). Exploring the impacts of postharvest processing on coffee microorganisms.

Applied and Environmental Microorganism.

- de Melo Pereira, G. V., da Silva Vale, A., de Carvalho Neto, D. P., Muynarsk, E. S., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2020). Lactic acid bacteria: what coffee industry should know?. *Current Opinion in Food Science*, 31, 1-8.
- Dini, I., d'Errico, G., Troiano, E., Gigliotti, C., Vassetti, A., Lotito, D., Staropoli, A., Parrella, G., d'Errico, F. P., Lorito, M., & Vinale, F. (2025). Combined Metagenomic and Metabolomic Analysis to Evaluate the Comprehensive Effects of *Trichoderma* and 6PP on Vineyard Ecosystems. *Agriculture*, 15(13), 1441. <https://doi.org/10.3390/agriculture15131441>
- Du, P., Yuan, H., Chen, Y., Zhou, H., Zhang, Y., Huang, M., & Luo, J. (2023). Identification of Key Aromatic Compounds in Basil (*Ocimum L.*) Using Sensory Evaluation, Metabolomics and Volatilomics Analysis. *Metabolites*, 13(1), 85.
- Duret, M., Wallner, A., Buée, M., & Aziz, A. (2024). Rhizosphere microbiome assembly, drivers and functions in perennial ligneous plant health. *Microbiological research*, 287, 127860. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127860>
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460-2461.
- Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., Lurie, E., Podishetty, N. K., Bhatnagar, S., ... & Sundaresan, V. (2015). Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(8), E911-E920.
- Elhalis, H., Cox, J., Frank, D., & Zhao, J. (2020). The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. *International Journal of Food Microorganism* 333, 108796.
- Elhalis, H., Cox, J., Frank, D., & Zhao, J. (2021). The role of wet fermentation in enhancing coffee flavor, aroma and sensory quality. *European Food Research and Technology*, 247, 485–498.
- Escobar-Rodríguez, C., Novak, J., Buchholz, F., Uetz, P., Bragagna, L., Gumze, M., & Mitter, B. (2021). The bacterial microbiome of the tomato fruit is highly dependent on the cultivation approach and correlates with flavor chemistry. *Frontiers in Plant Science*, 12, 775722.
- c A. E., Adeniji, A., Lanrewaju, A. A., Adedayo, A. A., Chukwuneme, C. F., Nwachukwu, B. C., Aderibigbe, J., & Omomowo, I. O. (2025). Key Challenges in Plant Microbiome Research in the Next Decade. *Microorganisms*, 13(11), 2546. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13112546>
- FAOSTAT. (2019). *Disponible en: http://www.fao.org/faostat/en/#home [Consultado: Junio 05, 2023]*.
- Farah, A. (2012). Coffee constituents. *Coffee*, 21-58.
- Fernie, A., & Schauer, N. (2009). Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends in Genetics*, 25(1), 39–48.
- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microorganism*, 15(10), 579–590.
- Filip, S. (2017). Basil (*Ocimum basilicum L.*) a source of valuable phytonutrients. *Int. J. Clin. Nutr. Diet*, 3, 118.
- Franco, G. C., Leiva, J., Nand, S., Lee, D. M., Hajkowski, M., Dick, K., Withers, B., Soto, L., Mingoa, B.-R., Acholonu, M., Hutchins, A., Neely, L., & Anand, A. (2024). Soil Microbial Communities and Wine Terroir: Research Gaps and Data Needs. *Foods*, 13(16), 2475. <https://doi.org/10.3390/foods13162475>
- Fu, R., Feng, H., Dini-Andreote, F., Wang, Z., Bo, C., Cao, W., Yang, K., Liu, M., Yang, T., Shen, Q.,

- Xu, Y., & Wei, Z. (2021). Modulation of the Tomato Rhizosphere Microbiome via Changes in Root Exudation Mediated by the Ethylene Receptor NR. *Microorganisms*, 9(12), 2456. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122456>
- Gabriele Berg, C.D., Dılfuza Egamberdieva, J. E., Choong-Min R., Birgit W. (2024). Shared governance in the plant holobiont and implications for one health, *FEMS Microbiology Ecology*, 100 (3): fiae004, <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae004>
- Galili, T. (2015). dendextend: an R package for visualizing, adjusting and comparing trees of hierarchical clustering. *Bioinformatics*, 31(22), 3718-3720.
- Galloway-Peña, J., & Hanson, B. (2020). Tools for Analysis of the Microbiome. *Digestive diseases and sciences*, 65(3), 674–685. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06091-y>
- Gilbert, J., van der Lelie, D., & Zarraonaindia, I. (2014). Microbial terruño for wine grapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1), 5–6.
- Gilbert, G. S., Diaz, A., & Bregoff, H. A. (2023). Seed disinfestation practices to control seed-borne fungi and bacteria in home production of sprouts. *Foods*, 12(4), 747.
- Gil-de-la-Fuente, A., Godzien, J., Saugar, S., Garcia-Carmona, R., Badran, H., Wishart, D. S. & Otero, A. (2018). CEU mass mediator 3.0: a metabolite annotation tool. *Journal of proteome research*, 18(2), 797-802.
- Girma, B., & Sualeh, A. (2022). A Review of Coffee Processing Methods and Their Influence on Aroma. *Int. J. Food Eng. Technol*, 6(7), 7–16.
- Golpayegani, A., & Tilebeni, H. (2011). Effect of biological fertilizers on biochemical and physiological parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.) medicine plant. *Am J Agric Environ Sci*, 11(3), 445–450.
- Gonzalez, C., Ré, M., Sossi, M., Valle, E., & Boggio, S. B. (2015). Tomato cv. 'Micro-Tom' as a model system to study postharvest chilling tolerance. *Scientia Horticulturae*, 184, 63–69.
- Grzyb, T., & Szulc, J. (2024). Deciphering Molecular Mechanisms and Diversity of Plant Holobiont Bacteria: Microhabitats, Community Ecology, and Nutrient Acquisition. *International journal of molecular sciences*, 25(24), 13601. <https://doi.org/10.3390/ijms252413601>
- Groenewald, M., Boekhout, T., Neuvéglise, C., Gaillardin, C., van Dijck, P. W., & Wyss, M. (2014). *Yarrowia lipolytica*: safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential. *Critical reviews in microorganismology*, 40(3), 187-206.
- Guzmán-Guzmán, P., Etesami, H., & Santoyo, G. (2025). Trichoderma: a multifunctional agent in plant health and microbiome interactions. *BMC microbiology*, 25(1), 434. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04158-2>
- Habib, M., Singh, S., Jan, S., Jan, K., & Bashir, K. (2025). The future of the future foods: understandings from the past towards SDG-2. *NPJ science of food*, 9(1), 138. <https://doi.org/10.1038/s41538-025-00484-x>
- Haile, M., & Kang, W. (2019). The role of microbes in coffee fermentation and their impact on coffee quality. *Journal of Food Quality*, 2019, 1–6.
- Hardoim, P., van Overbeek, L., & van Elsas, J. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microorganism*, 16(10), 463–471.
- Hibbett, D. S., Gilbert, L. B., & Donoghue, M. J. (2000). Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature*, 407(6803), 506-508.

- Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature Reviews Microbiology*, 8(1), 15-25.
- Hsieh, Y. P., Hung, Y. M., Tsai, M. H., Lai, L. C., & Chuang, E. Y. (2022). 16S-ITGDB: an integrated database for improving species classification of prokaryotic 16S ribosomal RNA sequences. *Frontiers in bioinformatics*, 2, 905489.
- Hudson, A., Mullens, A., Hind, S., Jamann, T. & Balint-Kurti, P. (2024) Natural variation in the pattern-triggered immunity response in plants: Investigations, implications and applications. *Molecular Plant Pathology*, 25, e13445.
- Johnston-Monje, D., Loewen, S., & Lazarovits, G. (2017). Mycobiomes of tomato plants with vine decline. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 39(2), 184–200.
- Johnston-Monje, D., Arévalo, A., & Bolaños, A. (2021). Friends in low places: Soil derived microbial inoculants for biostimulation and biocontrol in crop production. *Microorganism Stimulants for Crops*, 15–31.
- Johnston-Monje, D., Gutiérrez, J., & Lopez-Lavalle, L. (2021). Seed-transmitted bacteria and fungi dominate juvenile plant microorganismomes. *Frontiers in Microbiology*, 12, 737616.
- Johnston-Monje, D., Vergara, L., Mejia, J., & White, J. (2023). Plant microorganisms as contributors to agricultural terruño. *Frontiers in Agronomy*, 5, 1216520.
- Karlen, D., Mausbach, M., Doran, J., Cline, R., Harris, R., & Schuman, G. (1997). Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Science Society of America Journal*, 61(1), 4–10.
- Katam, R., Lin, C., Grant, K., Katam, C. S., & Chen, S. (2022). Advances in Plant Metabolomics and Its Applications in Stress and Single-Cell Biology. *International journal of molecular sciences*, 23(13), 6985. <https://doi.org/10.3390/ijms23136985>
- Katsenios, N., Andreou, V., Sparangis, P., Djordjevic, N., Giannoglou, M., Chanioti, S., & Efthimiadou, A. (2021). Evaluation of plant growth promoting bacteria strains on growth, yield and quality of industrial tomato. *Microorganisms*, 9(10), 2099.
- Klee, H. J., & Giovannoni, J. J. (2011). Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annual review of genetics*, 45(1), 41-59.
- Klee, H. J., & Tieman, D. M. (2018). The genetics of fruit flavour preferences. *Nature Reviews Genetics*, 19(6), 347-356.
- Korenblum, E., Dong, Y., Szymanski, J., Panda, S., Jozwiak, A., Massalha, H., Meir, S., Rogachev, I., & Aharoni, A. (2020). Rhizosphere microbiome mediates systemic root metabolite exudation by root-to-root signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(7), 3874–3883. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912130117>
- Lai, X., Duan, W., Zhang, W., Peng, Z., Wang, X., Wang, H., Qi, X., Pi, H., Chen, K., & Yan, L. (2024). Integrative analysis of microbiome and metabolome revealed the effect of microbial inoculant on microbial community diversity and function in rhizospheric soil under tobacco monoculture. *Microbiology spectrum*, 12(8), e0404623. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04046-23>
- Larsen, B., Miller, E., Rhodes, M., & Wiens, J. (2017). Inordinate fondness multiplied and redistributed: the number of species on earth and the new pie of life. *The Quarterly Review of Biology*, 92(3), 229–265.
- Lee, J. H., Kim, M. S., Park, S. Y., & Kang, B. R. (2023). Insights into the biocontrol function of a *Burkholderia gladioli* strain KRS027 against *Botrytis cinerea*. *Microbiology Spectrum*.

<https://doi.org/10.1128/spectrum.04805-2>

- Li, J., Aslam, M., Gao, Y., Dai, L., Hao, G., Wei, Z., & Dini-Andreote, F. (2023). Microorganism-mediated signal transduction within the plant holobiont. *Trends in Microorganismology*, 22, S0966-842X.
- Li, B., Yang, Y., Cai, J., Liu, X., Shi, T., Li, C., Chen, Y., Xu, P., & Huang, G. (2021). Genomic Characteristics and Comparative Genomics Analysis of Two Chinese *Corynespora cassicola* Strains Causing Corynespora Leaf Fall (CLF) Disease. *Journal of Fungi*, 7(6), 485. <https://doi.org/10.3390/jof7060485>
- Li, Y., Wang, H., Zhang, Y., & Martin, C. (2018). Can the world's favorite fruit, tomato, provide an effective biosynthetic chassis for high-value metabolites? *Plant Cell*, 37, 1443–1450.
- Liu, D., Zhang, P., Chen, D., & Howell, K. (2019). From the vineyard to the winery: how microbial ecology drives regional distinctiveness of wine. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2679.
- Liu, W., Liu, K., Chen, D., Zhang, Z., Li, B., El-Mogy, M. M., Tian, S., & Chen, T. (2022). *Solanum lycopersicum*, a Model Plant for the Studies in Developmental Biology, Stress Biology and Food Science. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(16), 2402. <https://doi.org/10.3390/foods11162402>
- Lyu, D., Zajonc, J., Pagé, A., Tanney, C. A. S., Shah, A., Monjezi, N., Msimbira, L. A., Antar, M., Nazari, M., Backer, R., & Smith, D. L. (2021). Plant Holobiont Theory: The Phytomicrobiome Plays a Central Role in Evolution and Success. *Microorganisms*, 9(4), 675. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040675>
- López-Mondéjar, R., Vilanova, C., & Sánchez-García, Y. (2022). *Microbial-metabolite interaction networks in food fermentations: The role of hub microorganisms*. *Food Microbiology*, 103, 103967. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103967>
- Lv, J., Yang, S., Zhou, W., Liu, Z., Tan, J., & Wei, M. (2024). Microbial regulation of plant secondary metabolites: Impact, mechanisms and prospects. *Microbiological research*, 283, 127688. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127688>
- Ma, Y. (2019). Seed coating with beneficial microorganisms for precision agriculture. *Biotechnology Advances*, 37(7), 107423.
- Marco, M. (2021). Defining how microorganisms benefit human health. *Microbial Biotechnology*, 14(1), 35–40.
- Marcone, M. (2004). Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee. *Food Research International*, 37(9), 901–912.
- Marks, Bettina Berquó, Marco Antonio Nogueira, and Mariangela Hungria. 2025. "Microbial Secondary Metabolites and Their Use in Achieving Sustainable Agriculture: Present Achievements and Future Challenges" *Agronomy* 15, no. 6: 1350. <https://doi.org/10.3390/agronomy15061350>
- Martí, R., Roselló, S., & Cebolla-Cornejo, J. (2016). Tomato as a source of carotenoids and polyphenols targeted to cancer prevention. *Cancers (Basel)*, 8, 58.
- Mena Beltrán, D. E., Navas Zambrano, J. C., De La Cruz Díaz, D.J., & Granda Morocho, O. A.. (2025). Revisión bibliográfica sobre las bacterias lácticas productoras de ácido láctico: Características y aplicaciones biotecnológicas. *Innovarium International Journal*, 3(2), 1-26. <https://revinde.org/index.php/innovarium/article/view/46>
- Mendes, R., Kruijt, M., De Bruijn, I., Dekkers, E., Van Der Voort, M., Schneider, J. H., ... & Raaijmakers, J. M. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, 332(6033), 1097-1100.

- Miura, T., Sánchez, R., Castañeda, L., Godoy, K., & Barbosa, O. (2017). Is microbial terruño related to geographic distance between vineyards? *Environmental Microbiology Reports*, 9(6), 742–749.
- Morata, A., Escott, C., Bañuelos, M., Loira, I., Del Fresno, J., González, C., & Suárez-Lepe, J. (2019). Contribution of non-Saccharomyces yeasts to wine freshness. A review. *Biomolecules*, 1, 34.
- Moreno, F. L., Murillo, J., & Gutiérrez, M. A. (2022). Integrated microbiome-metabolome analysis of washed and honey-processed Colombian coffees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(38), 12005–12017. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c03456>
- Naumova, N., Baturina, O., Nechaeva, T., & Kabilov, M. (2022). Root and Rhizosphere Microbiome of Tomato Plants Grown in the Open Field in the South of West Siberia under Mineral Fertilization. *Horticulturae*, 8(11), 1051. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111051>
- Nemergut, D.R. et al. (2013). Patterns and processes of microbial community assembly. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*.
- Neu, A., Allen, E., & Roy, K. (2021). Defining and quantifying the core microorganism: challenges and prospects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(51), e2104429118.
- Odo, S., Nwaubani, D., Ebe, G., Idume, J., & Okengwu, O. (2021). Determination of Microbial Pathogens and its Abundance in Fresh Kunun-Zaki Drinks: Huge Threat to Public Health. *Journal of Advances in Microorganismology*, 21(10), 38–42.
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2024). Metabolomics-guided utilization of beneficial microbes for climate-resilient crops. *Current opinion in chemical biology*, 79, 102427. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2024.102427>
- Ospina, J. A., Lopez-Alvarez, D., Gimode, W., Wenzl, P., & Carvajal-Yepes, M. (2024). Genome-wide association study of cassava brown streak disease resistance in cassava germplasm conserved in South America. *Scientific Reports*, 14(1), 23141
- Pang, Z., Chong, J., Zhou, G., de Lima Moraes, D. A., Chang, L., Barrette, M., ... & Xia, J. (2021). MetaboAnalyst 5.0: narrowing the gap between raw spectra and functional insights. *Nucleic acids research*, 49(W1), W388-W396.
- Pasolli, E., Asnicar, F., Manara, S., Zolfo, M., Karcher, N., Armanini, F., & Segata, N. (2019). Extensive unexplored human microbiome diversity revealed by over 150,000 genomes from metagenomes spanning age, geography, and lifestyle. *Cell*, 176(3), 649–662.
- Pastelin-Solano, M. C., Castañeda-Castro, O., Bulbarela-Marini, J. E., Márquez-López, M. E., Solano-Rodríguez, L. A., Vian-Pérez, J. G., Castillo-Morales, M., Uzárraga-Salazar, R., Sánchez-Bazán, L. A., Galicia-Beltrán, C., & Marín-Garza, T. (2026). Chemical Composition of *Coffea arabica* Beans and Grafts at Different Roasting Levels. *Beverages*, 12(4), 40. <https://doi.org/10.3390/beverages12040040>
- Pinto, L., Baruzzi, F., Cocolin, L., & Malfeito-Ferreira, M. (2020). Emerging technologies to control *Brettanomyces* spp. in wine: Recent advances and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 88–100.
- Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker, P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology*, 52(1), 347-375.
- Pluskal, T., Castillo, S., Villar-Briones, A., & Orešič, M. (2010). MZmine 2: modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. *BMC bioinformatics*, 11(1), 395.

- Pregolini, V., de Melo Pereira, G., da Silva Vale, A., de Carvalho Neto, D., & Soccol, C. (2021). Influence of Environmental Microorganism on the Activity and Metabolism of Starter Cultures Used in Coffee Beans Fermentation. *Fermentation*, 7(4), 278.
- Quinet, M., Angosto, T., Yuste-Lisbona, F., Blanchard-Gros, R., Bigot, S., Martinez, J., & Lutts, S. (2019). Tomato fruit development and metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1554.
- Raveendran, A., & Murthy, P. (2022). New trends in specialty coffees-“the digested coffees.” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(17), 4622–4628.
- Ravi, R., Walton, K., & Khosroheidari, M. (2018). MiSeq: a next generation sequencing platform for genomic analysis. *Disease Gene Identification: Methods and Protocols*, 1706, 223–232.
- Revelo, D. (2024). *Diversidad microbiana y metabólica asociada a la fermentación en seco de granos de café* [Trabajo de grado]. Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. Recuperado de <https://cica.udenar.edu.co/wp-content/uploads/2024/01/Resumen-Dolly-Revelo.pdf>
- Romano, R., De Luca, L., Aiello, A., Pagano, R., Di Pierro, P., Pizzolongo, F., & Masi, P. (2022). Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves as a Source of Bioactive Compounds. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(20), 3212. <https://doi.org/10.3390/foods11203212>
- Roume, H., Heintz-Buschart, A., Muller, E. E., May, P., Satagopam, V. P., Laczny, C. C., ... & Wilmes, P. (2015). Comparative integrated omics: identification of key functionalities in microbial community-wide metabolic networks. *npj Biofilms and Microorganisms*, 1(1), 15007.
- Saia, S., Corrado, G., Vitaglione, P., Colla, G., Bonini, P., Giordano, M., & Roupheael, Y. (2021). An endophytic fungi-based biostimulant modulates volatile and non-volatile secondary metabolites and yield of greenhouse basil (*Ocimum basilicum* L.) through variable mechanisms dependent on salinity stress level. *Pathogens*, 10(7), 797.
- Santamaria, M., Fosso, B., Licciulli, F., Balech, B., Larini, I., Grillo, G., ... & Pesole, G. (2018). ITSoneDB: a comprehensive collection of eukaryotic ribosomal RNA Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) sequences. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D127-D132.
- Sarkar, J., Singh, R., & Chandel, S. (2025). Understanding LC/MS-Based Metabolomics: A Detailed Reference for Natural Product Analysis. *Proteomics. Clinical applications*, 19(1), e202400048. <https://doi.org/10.1002/prca.202400048>
- Schneider, N., Guyot, S., Poirier, M., et al. (2025). *Metagenomic, metabolomic, and sensorial characteristics of spontaneous versus inoculated wet fermentation processes in coffee*. *Food Microbiology*, 120, 104234. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2025.104234>
- Seninde, D., & Chambers, I. (2020). Coffee flavor: A review. *Beverages*, 6(3), 44.
- Shabbir, R., Javed, T., Wenzhi, W., Yating, C., Benpeng, Y., Linbo, S., Tingting, S., Shuzhen, Z., & Chen, P. (2025). Insights into recent advances in secondary metabolites (SMs)-mediated defense responses in plants. *Critical reviews in biotechnology*, 45(7), 1399–1413. <https://doi.org/10.1080/07388551.2025.2484598>
- Silva, T. D., Ferrarezi, R. S., Selari, P. J. R. G., da Silva, J. L. B., da Silva, M. V., Mesquita, M., & de Oliveira, H. F. E. (2025). Microbial Inoculation Strategies for Optimal Cherry Tomato Production. *Physiologia plantarum*, 177(6), e70655. <https://doi.org/10.1111/ppl.70655>
- Stringlis, I. A., et al. (2018). Root exudates and plant–microbe interactions. *New Phytologist*, 220, 805–809.
- Soumare, A., Diédhiou, A., Arora, N., Tawfeeq Al-Ani, L., Ngom, M., Fall, S., & Sy, M. (2021). Potential role and utilization of plant growth-promoting microbes in plant tissue culture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 649878.

- Spooren, J., van Bentum, S., Thomashow, L. S., Pieterse, C. M. J., Weller, D. M., & Berendsen, R. L. (2024). Plant-Driven Assembly of Disease-Suppressive Soil Microbiomes. *Annual review of phytopathology*, 62(1), 1–30. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-021622-100127>
- Stapleton, J. J. (2000). Soil solarization in various agricultural production systems. *Crop protection*, 19(8-10), 837-841.
- Sudiro, C., Guglielmi, F., Hochart, M., Senizza, B., Zhang, L., Lucini, L., & Altissimo, A. (2022). A Phenomics and Metabolomics Investigation on the Modulation of Drought Stress by a Biostimulant Plant Extract in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Agronomy*, 12(4), 764. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040764>
- Sumner, L. W., et al. (2007). Proposed minimum reporting standards for chemical analysis in metabolomics. *Metabolomics*, 3, 211–221.
- Tanambell, H., Bishop, K., & Quek, S. (2021). Tangerine Tomatoes: Origin, Biochemistry, Potential Health Benefits, and Future Prospects. *Reseñas Críticas En Cienc Los Aliment y Nutr*, 61(13), 2237–2248.
- Tangpao, T., Chung, H., & Sommano, S. (2018). Aromatic profiles of essential oils from five commonly used Thai basil. *Foods*, 7(11), 175.
- Thokchom, S. D., Gupta, S., Mewar, S. K., Kumar, P., Kalra, C., & Kapoor, R. (2023). Metabolome profiling of arbuscular mycorrhizal fungus treated *Ocimum tenuiflorum* L. provides insights into deviation in allocation of carbon compounds to secondary metabolism. *Plant Physiology and Biochemistry*, 203, 108039.
- Tikunov, Y., Lommen, A., De Vos, C. R., Verhoeven, H. A., Bino, R. J., Hall, R. D., & Bovy, A. G. (2005). A novel approach for nontargeted data analysis for metabolomics. Large-scale profiling of tomato fruit volatiles. *Plant physiology*, 139(3), 1125-1137.
- Toju, H., Suzuki, K., Sánchez-Pinillos, M., Shima, G., Kageyama, T., Hayashi, I., Noguchi, M., Fujita, H., Goto, Y., Nakaoka, S., Ushio, M., Ichihashi, Y., Fricke, W. F., Mizumoto, K., Takayasu, L., Suda, W., Takayasu, M., Yamamichi, M., & Weckwerth, W. (2026). Microbiome assembly statistics toward ecosystem-scale insights, forecasting, and management. *The ISME Journal*, 20(1), wrag085. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrag085>
- Toju, H., Peay, K. G., Yamamichi, M., Narisawa, K., Hiruma, K., Naito, K., & Kiers, E. T. (2018). Core microorganismomes for sustainable agroecosystems. *Nature plants*, 4(5), 247-257.
- Trivedi, P., Leach, J., Tringe, S., Sa, T., & Singh, B. (2020). Plant–microorganism interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 607–621.
- Valle, J. A., López-Castillo, M., & García-García, H. (2026). *Evaluación de mucílago fermentado como sustrato en el remojo de café y su impacto en el microbioma y calidad de taza*. [Trabajo de grado]. Universidad Zamorano, Honduras. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/items/49dd954d-6aa2-4772-86d5-777ab99d4c5f>
- Velásquez, S., & Banchón, C. (2022). Influence of pre-and post-harvest factors on the organoleptic and physicochemical quality of coffee: a short review. *Journal of Food Science and Technology*, 1–13.
- Verzeaux, J., Hirel, B., Dubois, F., Lea, P., & Tétu, T. (2017). Agricultural practices to improve nitrogen use efficiency through the use of arbuscular mycorrhizae: Basic and agronomic aspects. *Plant Science*, 264, 48–56.
- Vickery ZA, Castro HF, Dearth SP, Tague ED, Classen AT, Moore JA, Strickland MS, Campagna SR. Untargeted Metabolomics Reveals Distinct Soil Metabolic Profiles Across Land Management

- Practices. *Metabolites*. 2025; 15(12):783. <https://doi.org/10.3390/metabo15120783>
- Vorholt, J. A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature reviews microbiology*, 10(12), 828-840.
- Wang, C., & Li, J. (2015). Pathogenic microorganisms and pancreatic cancer. *Gastrointestinal Tumors*, 2(1), 41–47.
- Wang, G., Li, X., Xi, X., & Cong, W. (2022). Crop diversification reinforces soil microorganism functions and soil health. *Plant and Soil*, 476(1–2), 375–383.
- Wang, C., Yu, X., Lin, H., Wang, G., Liu, J., Gao, C., Qi, M., Wang, D., & Wang, F. (2023). Integrating microbiome and metabolome revealed microbe-metabolism interactions in the stomach of patients with different severity of peptic ulcer disease. *Frontiers in immunology*, 14, 1134369. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1134369>
- Westerhuis, J.A. et al. (2008). Assessment of PLSDA cross validation. *Metabolomics*.
- Windisch, Saskia, Anja Walter, Narges Moradtalab, Frank Walker, Birgit Höglinger, Abbas El-Hasan, Uwe Ludewig, Günter Neumann, and Rita Grosch. "Role of benzoic acid and lettucein A in the defense response of lettuce against soil-borne pathogens." *Plants* 10, no. 11 (2021): 2336.
- Wolfe, B. E., & Dutton, R. J. (2015). Fermented foods as experimentally tractable microbial ecosystems. *Cell*, 161(1), 49-55.
- Yan, S., & Xue, X. (2025). Volatile metabolomic analysis reveals terpenoid differences between naturally matured and artificially heated acacia honey. *Food chemistry: X*, 31, 103167. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.103167>
- Yadav, A., Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A., Dikilitas, M., & Saxena, A. (2021). Biodiversity, and biotechnological contribution of beneficial soil microorganisms for nutrient cycling, plant growth improvement, and nutrient uptake. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 102009.
- Yourstone, S. M., Lundberg, D. S., Dangl, J. L., & Jones, C. D. (2014). MT-Toolbox: improved amplicon sequencing using molecule tags. *BMC bioinformatics*, 15(1), 284.
- Zarraonaindia, I., Owens, S., Weisenhorn, P., West, K., Hampton-Marcell, J., Lax, S., & Gilbert, J. (2015). The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. *MBio*, 6(2), e02527-14.
- Zelaya-Molina, L. X., Sanchez-Lima, A. D., Arteaga-Garibay, R. I., Bustamante-Brito, R., Vásquez-Murrieta, M. S., Martínez-Romero, E., & Ramos-Garza, J. (2021). Functional characterization of culturable fungi from microbiomes of the "conical cobs" Mexican maize (*Zea mays* L.) landrace. *Archives of microbiology*, 204(1), 57. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02680-1>
- Zhang, H., Xiong, X., Wu, J., Zhao, J., Zhao, M., Chu, G., & Zhang, D. (2019). Changes in soil microbial biomass, community composition, and enzyme activities after half-century forest restoration in degraded tropical lands. *Forests*, 10(12), 1124.
- Zhalnina, K., Louie, K. B., Hao, Z., Mansoori, N., Da Rocha, U. N., Shi, S., ... & Brodie, E. L. (2018). Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, 3(4), 470-480.
- Zhou, J. & Ning, D. (2017). Stochastic community assembly: does it matter in microbial ecology? *Microbiology and Molecular Biology Reviews*.

13. ANEXOS

Anexo 1. Metabolitos diferencialmente abundantes e identificados tentativamente en hojas de albahaca tratados con consorcios microbianos.

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Villa-Laura	Met1045	3,4,5-trihydroxy-6-{2-methoxy-4-[(5-oxooxolan-2-yl)methyl]phenoxy}oxane-2-carboxylic acid	1.18	0.0282	1.7	Ácido fenólico glicosilado
Armando	Met494	Floribundine	-2.49	0.0295	2.3	Alcaloide aromático
Cauca	Met494	Floribundine	-2.57	0.0182	1.4	Alcaloide aromático
Dulce- Hogar	Met494	Floribundine	3.2	0.0078	2.8	Alcaloide aromático
Villa-Laura	Met494	Floribundine	1.38	0.0378	1.7	Alcaloide aromático
Armando	Met1202	Valerianine	-1.21	0.0137	2.9	Alcaloide terpenoide
Dulce- Hogar	Met1202	Valerianine	1.86	0.0005	1.6	Alcaloide terpenoide
Armando	Met571	(6S)-Hydroxyhyoscyamine	-2.72	0.022	2.5	Alcaloide trópico
Dulce- Hogar	Met571	(6S)-Hydroxyhyoscyamine	1.63	0.0187	2	Alcaloide trópico
Cauca	Met222	1-Fluorocyclohexadiene-cis,cis-1,2-diol	-2.38	0.0358	1.7	Alcohol cíclico fluorinado
Cauca	Met1023	Benzaldehyde	-5.34	0.0035	3.6	Aldehído aromático
Cauca	Met1118	Benzaldehyde	-5.59	0.036	2.3	Aldehído aromático
Armando	Met1112	3-Methylsalicylaldehyde	-1.19	0.028	1.7	Aldehído fenólico

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Cauca	Met1112	3-Methylsalicylaldehyde	-1.29	0.0082	1.3	Aldehído fenólico
Dulce- Hogar	Met1112	3-Methylsalicylaldehyde	1.12	0.0067	1.5	Aldehído fenólico
Villa-Laura	Met1112	3-Methylsalicylaldehyde	1.21	0.0009	1.7	Aldehído fenólico
Cauca	Met532	Adenine	1.28	0.0035	1.3	Base paoerica
Armando	Met794	Acetone cyanohydrin	-2.23	0.0399	2.1	Cianohidrina
Cauca	Met310	Panchovillin	-3.52	0.0052	1.6	Compuesto fenólico policaclico (polifenol)
Villa-Laura	Met270	8-hydroxy-2H-chromen-2-one	3.59	0.0454	2.1	Cumarina
Cauca	Met1233	5-Nitro-2-(3-phenylpropylamino)benzoic acid	-1.16	0.0249	1.3	Derivado de Ácido benzoico nitro (aromático)
Cauca	Met291	2-Oxoarginine	-5.1	0.0136	2.3	Derivado de Ácido benzoico nitro (aromático)
Cauca	Met474	4-([2,2'-bithiophen]-5-yl)but-3-yne-1,2-diol	-4.29	0.0267	1.5	Derivado tiofáznico (heteroaromático)
Cauca	Met1342	Arene oxide	-1.39	0.0048	1.7	Epóxido aromático
Armando	Met515	o-Cresol	-1.16	0.0312	2.2	Fenol metilado
Cauca	Met515	o-Cresol	-1.3	0.0011	2	Fenol metilado
Dulce- Hogar	Met515	o-Cresol	1.01	0.0112	1.7	Fenol metilado
Cauca	Met62	PS(17:2(9Z,12Z)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z))	-1.1	0.0099	1.3	Fosfolápidio (fosfatidilserina)
Dulce- Hogar	Met62	PS(17:2(9Z,12Z)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z))	1.18	0.0321	1.5	Fosfolápidio (fosfatidilserina)

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Villa-Laura	Met62	PS(17:2(9Z,12Z)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z))	1.46	0.004	2.9	Fosfolapido (fosfatidilserina)
Villa-Laura	Met639	PS(17:2(9Z,12Z)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z))	1.34	0.0188	1.6	Fosfolapido (fosfatidilserina)
Cauca	Met448	10-Hydroxycarbazepine	-1.16	0.0338	1.3	Heterociclo aromático (derivado carbazol)
Cauca	Met1122	Toluene	-1.3	0.0057	4.4	Hidrocarburo aromático
Cauca	Met754	Vinyl toluene	-1.35	0.0482	1.4	Hidrocarburo aromático vinílico
Dulce- Hogar	Met754	Vinyl toluene	1.71	0.0139	3.4	Hidrocarburo aromático vinílico
Cauca	Met836	Tephrocarpin	-2.73	0.0125	1.2	Isoflavonoide (compuesto feanlico)
Dulce- Hogar	Met836	Tephrocarpin	1.48	0.0316	1.7	Isoflavonoide (compuesto feanlico)
Villa-Laura	Met836	Tephrocarpin	1.97	0.0204	1.9	Isoflavonoide (compuesto feanlico)
Armando	Met1056	14-O-acetylinsulicolide A	-2.21	0.037	2.4	Lactona sesquiterpaznic a (metabolito faoengico)
Dulce- Hogar	Met1056	14-O-acetylinsulicolide A	2.03	0.0435	1.7	Lactona sesquiterpaznic a (metabolito faoengico)
Villa-Laura	Met1056	14-O-acetylinsulicolide A	3.21	0.0043	1.5	Lactona sesquiterpaznic a (metabolito faoengico)

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Armando	Met850	Theophylline	-1.87	0.0379	2	Metilxantina (alcaloide puranico)
Cauca	Met850	Theophylline	-2.86	0.0039	3.3	Metilxantina (alcaloide puranico)
Dulce- Hogar	Met850	Theophylline	1.8	0.048	2	Metilxantina (alcaloide puranico)
Villa-Laura	Met850	Theophylline	2.69	0.0039	1.8	Metilxantina (alcaloide puranico)
Armando	Met111	No match	-2.26	0.0207	2.2	No identificado
Armando	Met338	No match	-2.34	0.0173	2.4	No identificado
Armando	Met569	No match	-1.82	0.021	2	No identificado
Armando	Met871	No match	-1.49	0.0026	2.7	No identificado
Cauca	Met111	No match	-3.75	0.0092	1.4	No identificado
Cauca	Met181	No match	-1.45	0.0092	1.5	No identificado
Cauca	Met239	No match	-3.65	0.0347	2.1	No identificado
Cauca	Met255	No match	1.36	0.0228	1.4	No identificado
Cauca	Met338	No match	-3.01	0.0012	1.3	No identificado
Cauca	Met386	No match	-1.05	0.002	1.3	No identificado
Cauca	Met419	No match	-1.39	0.0198	2.1	No identificado
Cauca	Met527	No match	-1.11	0.0236	2	No identificado
Cauca	Met56	No match	-2.01	0.004	1.7	no identificado
Cauca	Met569	No match	-2.41	0.0034	1.4	no identificado
Cauca	Met768	No match	-1.35	0.0078	2.2	No identificado
Cauca	Met773	No match	-2.74	0.0053	1.5	No identificado
Cauca	Met858	No match	-1.33	0.0244	4.4	No identificado
Cauca	Met871	No match	-1.71	0.0054	1.3	No identificado
Cauca	Met915	No match	-1.91	0.0265	1.3	No identificado
Cauca	Met994	No match	1.03	0.0024	1.3	No identificado
Dulce- Hogar	Met1095	No match	2.09	0.0042	2.4	No identificado
Dulce- Hogar	Met111	No match	2.1	0.01	1.6	No identificado
Dulce- Hogar	Met386	No match	1.19	0.0062	2.2	No identificado
Dulce- Hogar	Met419	No match	1.59	0.0003	2.1	No identificado
Dulce- Hogar	Met871	No match	1.9	0.0002	3.2	No identificado
Villa-Laura	Met111	No match	3.05	0.0024	1.7	No identificado
Villa-Laura	Met386	No match	1.08	0.0359	1.6	No identificado
Armando	Met313	Trp Arg Met	-1.12	0.0152	3	Peptido
Armando	Met647	Pro Tyr His	-1.86	0.029	6	Peptido

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Armando	Met917	Pro Tyr His	-2	0.0183	2.4	Peptido
Cauca	Met313	Trp Arg Met	-1.61	0.0121	1.3	Peptido
Cauca	Met647	Pro Tyr His	-3.81	0.002	2.1	Peptido
Cauca	Met917	Pro Tyr His	-3.02	0.0036	1.9	Peptido
Dulce- Hogar	Met313	Trp Arg Met	1.77	0.0014	2.1	Peptido
Dulce- Hogar	Met647	Pro Tyr His	4.61	0.0019	1.9	Peptido
Dulce- Hogar	Met917	Pro Tyr His	4.12	0.0023	1.6	Peptido
Cauca	Met261	Lys-Trp-OH	-1.82	0.0134	1.6	Peptido (dipeptido aromatico)
Dulce- Hogar	Met261	Lys-Trp-OH	3.22	0.0044	2.1	Peptido (dipeptido aromatico)
Armando	Met1007	Lys Cys Ile	-1.68	0.0066	2.3	Peptido (triPeptido)
Dulce- Hogar	Met1007	Lys Cys Ile	1.43	0.0157	1.6	Peptido (triPeptido)
Cauca	Met1206	Aspergiolide B	-2.74	0.0353	1.4	Poliquétido fúngico / lactona aromática
Armando	Met1082	p-Mentha-1,3,5,8-tetraene	-1.83	0.0134	1.9	Monoterpeno
Armando	Met1151	Val Pro Ala	-1.63	0.047	2.8	Peptido (tripeptido)
Armando	Met1310	No match	-1.46	0.0364	2.7	
Armando	Met1326	Piperidolate	-2.51	0.0036	2.8	Herbicida (compuesto sintético)
Armando	Met1400	Hydroxy-gamma-sanshool	-3.26	0.0039	1.8	Alcamida (amida lipadica)
Armando	Met175	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-6,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one	-2.72	0.0201	1.9	Flavonoide (flavona)
Armando	Met1032	No match	-2.14	0.0312	2.4	
Armando	Met1061	Termitomycamide B	-1.03	0.0425	1.7	Amida lipídica (metabolito fungico)

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Armando	Met1079	3-Aminopropylphosphonic acid	-1.08	0.0271	1.8	Fosfonato
Armando	Met1110	Cyanidin 3-O-arabinoside	-1.39	0.0141	2	Antocianina
Armando	Met1115	Asacoumarin A	12.28	0.0055	6.2	Cumarina
Armando	Met1169	Thesinine 4'-O-glucoside	11.03	0.0052	6	Alcaloide (glucosilado)
Armando	Met1288	2-amino-4-({1-[(carboxymethyl)-C- hydroxycarbonimidoyl]-2-[(2-hydroxy-3-oxo-1- phenylpropyl)sulfanyl]ethyl}-C- hydroxycarbonimidoyl)butanoic acid	-1.52	0.0101	2.2	
Armando	Met294	PKODiA-PE	-1.21	0.0387	1.9	Fosfolidipo
Armando	Met506	{4-[2-Acetylamino-2-(1-biphenyl-4-ylmethyl-2-oxo- azepan-3-ylcarbonyl)-ethyl]-2-phosphono-phenoxy}- acetic acid	-1.81	0.0378	2.1	
Armando	Met645	(x)-2-Heptanol glucoside	-1.24	0.0255	1.9	
Armando	Met675	3,4-dimethyl-5-carboxyethyl-2-furanpentanoic acid	-1.29	0.0143	2	
Armando	Met728	Arginyl-Phenylalanine	-2.74	0.028	2.7	Dipeptido
Armando	Met82	[(1r)-1-Aminoethyl]phosphonic acid	1.23	0.0389	1.8	
Armando	Met873	Bilirubin beta-diglucuronide	-1.84	0.012	2.4	Tetrapirrol conjugado
Cauca	Met1082	p-Mentha-1,3,5,8-tetraene	-3.03	0.0005	2.8	Monoterpeno

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Cauca	Met1310	No match	-3.05	0.0005	1.4	
Cauca	Met1326	Piperidolate	-1.89	0.0486	1.4	Herbicida (compuesto sintético)
Cauca	Met175	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-6,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one	-3.24	0.0274	2.3	Flavonoide (flavona)
Cauca	Met1008	Xanthotoxol arabinoside	-1.58	0.0413	1.5	Furanocumarina
Cauca	Met1024	Lignosulfonic acid	-5.41	0.0341	3.6	Polifenol (lignina)
Cauca	Met1032	No match	-2.48	0.0211	1.9	
Cauca	Met107	3-O-Feruloylquinic acid	-6.69	0.0279	3.4	Acido fenilico
Cauca	Met1079	3-Aminopropylphosphonic acid	-1.16	0.0065	1.4	Fosfonato
Cauca	Met108	1-(3-(Naphth-2-ylmethoxy)phenyl)-1-(thiazol-2-yl)propyl methyl ether	-4.35	2.015e-05	3.6	
Cauca	Met1094	Mono(glucosyluronic acid)bilirubin	-1.7	0.0057	1.6	Tetrapirrol conjugado
Cauca	Met1115	Asacoumarin A	7.07	0.0018	3.9	Cumarina
Cauca	Met1154	3,4-Methylenedioxybenzoic acid	1.22	0.0003	1.4	Acido fenilico
Cauca	Met1172	No match	-1.05	0.0172	1.3	
Cauca	Met1179	Lys Trp Trp	-1.35	0.0106	1.4	Peptido
Cauca	Met1203	Pelargonidin 3-(2G-xylosylrutinoside)	-9.37	0.0005	4.4	Antocianina
Cauca	Met1207	[3-(3-hydroxy-3-phenylpropanoyl)phenyl]oxidanesulfonic acid	-3.73	0.0499	2.5	

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Cauca	Met1208	2,2'-(4,4'-(4,4'-Methylenebis(2-chloro-4,1-phenylene))bis(azanediyl))bis(oxomethylene)bis(azane diyl)bis(4,1-phenylene))bis(oxy)bis(2-Methylpropanoic acid)	-5.98	0.0367	3.5	
Cauca	Met121	beta-D-Galactosyl-beta-1,4-N-acetyl-D-glucosaminyglycopeptide	-1.63	0.0377	1.6	
Cauca	Met1213	No match	-1.13	0.0433	1.3	
Cauca	Met1225	2-{6-[2,4-dihydroxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)benzoyl]-5-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-methylcyclohex-2-en-1-yl}-5-[(E)-2-(2,4-dihydroxyphenyl)ethenyl]-4-methoxybenzene-1,3-diol	1.05	0.0111	1.3	
Cauca	Met1237	Aspochalasin W	1.1	0.0169	1.3	Alcaloide (micotoxina fungica)
Cauca	Met1240	Haloaromatic compound	-1.23	0.0053	1.4	Compuesto aromático halogenado
Cauca	Met1264	Isolobinine	-1.24	0.0103	1.4	Alcaloide

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Cauca	Met1288	2-amino-4-({1-[(carboxymethyl)-C-hydroxycarbonimidoyl]-2-[(2-hydroxy-3-oxo-1-phenylpropyl)sulfanyl]ethyl)-C-hydroxycarbonimidoyl)butanoic acid	-1.47	0.0462	1.5	
Cauca	Met1333	Deoxyaminopteroic acid	1.18	0.0021	1.4	Derivado pteroico
Cauca	Met1357	1H-Phosphole	-1.16	0.0062	1.4	Heterociclo fosforado
Cauca	Met138	Kaempferol 3-[6"-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)glucoside]-7-glucoside	-5.64	0.0121	2.9	
Cauca	Met142	Tricin 7-rutinoside-4'-glucoside	2.39	0.0075	1.9	Flavonoide
Cauca	Met1429	No match	-1.14	0.0405	1.3	
Cauca	Met1434	1-(2-Chloroethyl)aziridine	-1.13	0.0041	1.3	
Cauca	Met174	Ochrazepine A	-1.96	0.0031	1.8	Alcaloide
Cauca	Met217	No match	-5.27	0.0418	3.2	
Cauca	Met219	p-coumaroyltriacetic acid lactone	-5.7	0.0324	3.5	Policíclico
Cauca	Met234	Rifamycin Z	1.52	0.0017	1.6	Antibiótico (polipeptido)
Cauca	Met27	Formoterol glucuronide	1.04	0.0036	1.3	Metabolito conjugado
Cauca	Met315	No match	1.24	0.0401	1.3	
Cauca	Met326	PA(20:3(8Z,11Z,14Z)-2OH(5,6)/12:0)	-1.07	0.0067	1.3	
Cauca	Met344	Kaempferol 3-[6"-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)glucoside]-7-glucoside	-5.76	0.0437	3.7	
Cauca	Met355	Threoninyl-Phenylalanine	1.2	0.046	1.2	Dipeptido

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Cauca	Met383	3-iodo-octadecanoic acid	1.24	0.0372	1.3	Acido graso halogenado
Cauca	Met4	3,4,5-trihydroxy-6-{2-[(3-methylbut-2-enyl)oxy]-2-[9-[(3-methylbut-2-enyl)oxy]-2-oxo-2H,8H,9H-furo[2,3-h]chromen-8-yl]propoxy}oxane-2-carboxylic acid	1.12	0.0096	1.3	
Cauca	Met413	2,5-Dimethyl-1H-pyrrole	-2.79	0.0151	2	Heterociclo nitrogenado
Cauca	Met481	7-[(1R,2R,3R)-3-hydroxy-2-[(3S)-3-hydroxyoctyl]-5-oxocyclopentyl]heptanoyl-CoA	-2.01	0.0355	1.7	
Cauca	Met497	(2E)-1-(2,3-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one	1.02	0.0024	1.3	
Cauca	Met505	Genipinic acid	1.56	0.0255	1.5	Iridoide
Cauca	Met552	2-Ethylsuberic acid	-1.25	0.0003	1.4	
Cauca	Met563	Taurocholic acid 3-sulfate	1.06	0.0174	1.3	Acido biliar
Cauca	Met564	Allyl chloride	-1.11	0.0032	1.3	
Cauca	Met609	Propafenone glucuronide	1.08	0.014	1.3	Metabolito conjugado
Cauca	Met629	No match	1.45	0.0263	1.5	
Cauca	Met651	7-Hydroxy-6,8-di-C-methylflavanone 7-O-arabinoside	1.26	0.0164	1.4	
Cauca	Met660	5'-Benzoylphosphoadenosine	-5.63	0.0344	3.6	Nucleotido modificado
Cauca	Met688	2-Biphenyl-4-yl-1-(1H-tetrazol-5-yl)ethylaminoethyl phosphonic acid	1.47	0.0448	1.5	

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Cauca	Met719	Kaempferol 7-methyl ether 3-apiosyl-(1->5)-apiosyl-(1->2)-[rhamnosyl-(1->6)-glucoside]	1.26	0.027	1.3	
Cauca	Met72	Kaempferol 3-[6''-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)glucoside]-7-glucoside	-7.32	0.0004	4.1	
Cauca	Met725	5,4'-Dihydroxy-6-C-prenylflavanone 4'-xylosyl-(1->2)-rhamnoside	1.03	0.0193	1.2	
Cauca	Met760	3-Phenylpropyl cinnamate	1.03	0.0316	1.2	Fenilpropanoide
Cauca	Met763	Bromelain	-2.03	0.0021	1.8	Proteína / enzima
Cauca	Met766	p-coumaroyltriacetic acid lactone	-5.74	0.0429	3.3	Policéptidos
Cauca	Met804	Carbomycin	-5.12	0.0242	3.4	Antibiótico macrólido
Cauca	Met826	(2S)-3-[[2-[(5R)-3-(4-Carbamidoylphenyl)-4,5-dihydro-1,2-oxazol-5-yl]acetyl]amino]-2-[(3-methylphenyl)sulfonylamino]propanoic acid	1	0.0475	1.2	
Cauca	Met827	(-)-trans-Carveol glucoside	-8.55	2.0579e-05	4.4	
Cauca	Met830	Succinylidalicic acid	-1.76	0.0364	1.5	Acido Fenolico
Cauca	Met845	7-Acetyloxy-2-methylisoflavone	-1.05	0.0019	1.3	
Cauca	Met853	(+)-Lysergic acid	-1.11	0.0176	1.3	Alcaloide

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Cauca	Met854	6-[[[3,14-dihydroxy-4-(3-methylbut-2-en-1-yl)-8,17-dioxatetracyclo[8.7.0.0??.0??,??]heptadeca-1(10),2(7),3,5,11(16),12,14-heptaen-5-yl]oxy]-3,4,5-trihydroxyoxane-2-carboxylic acid	-7.37	0.0009	4	
Cauca	Met863	Myxochelin B	1.02	0.0082	1.3	Sideroforo
Cauca	Met873	Bilirubin beta-diglucuronide	-2.27	0.0018	1.9	Tetrapirrol conjugado
Cauca	Met889	7,7'-Dihydroxy-6,8'-bicoumarin	-3.81	0.0378	2.3	Cumarina
Cauca	Met96	2-(3,4-Dicarboxy-3-hydroxybutanoyl)oxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid	-2.19	0.0088	1.9	
Cauca	Met976	2',4'-Dihydroxy-6'-methoxy-3'-(2-hydroxybenzyl)-5'-(3 x 2-hydroxybenzyl)dihydrochalcone	-2.17	0.0021	1.9	
Cauca	Met983	3,7-Dihydroxy-8-methylflavone 7-rhamnosyl-(1->4)-rhamnosyl-(1->6)-glucoside	-1.34	0.0249	1.4	
Cauca	Met985	PGP(18:1(12Z)-2OH(9,10)/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))	-1	0.0131	1.3	
Dulce-Hogar	Met1082	p-Mentha-1,3,5,8-tetraene	3.39	0.0002	1.8	Monoterpeno
Dulce-Hogar	Met1151	Val Pro Ala	1.79	0.0037	2.1	Peptido (tripeptido)
Dulce-Hogar	Met1310	No match	3.2	0.004	2.1	

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Dulce- Hogar	Met1326	Piperidolate	2.11	0.0081	2.9	Herbicida (compuesto sintético)
Dulce- Hogar	Met1400	Hydroxy-gamma-sanshool	2.08	0.0093	2.2	Alcamida (amida lipídica)
Dulce- Hogar	Met1216	Linolenic Acid ethyl ester	-1.12	0.0191	1.6	Acido graso
Dulce- Hogar	Met140	Calcium stearyl 2-lactylate	1.38	0.0328	1.7	Lípido
Dulce- Hogar	Met26	3-Phenylpropyl cinnamate	-1.44	0.0059	1.8	Fenilpropanoide
Dulce- Hogar	Met321	Chlorphenacil	-2.48	0.0075	2.4	
Dulce- Hogar	Met470	(+)-Lyoniresinol 9-glucoside	1.16	0.0459	1.6	
Dulce- Hogar	Met500	13-Desoxyterpendole I	1.08	0.0175	1.5	
Dulce- Hogar	Met616	Nosantine	1.99	0.0085	2.1	Alcaloide
Dulce- Hogar	Met651	7-Hydroxy-6,8-di-C-methylflavanone 7-O-arabinoside	-1.13	0.032	1.6	
Dulce- Hogar	Met728	Arginyl-Phenylalanine	2.57	0.0188	2.3	Dipeptido
Dulce- Hogar	Met782	5-((2-hydroxy-2-methylpropoxy)carbonyl)-2-(hydroxymethyl)-6-methyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxylic acid	-1.4	0.0103	1.8	
Dulce- Hogar	Met864	1-Phenyl-1-cyclohexene	-1.11	0.0272	1.5	
Dulce- Hogar	Met89	Gallopamil	1.16	0.0345	1.6	
Dulce- Hogar	Met997	b-D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(6-methoxy-2-naphthalenyl)-1-methylpropyl	1.18	0.0106	1.6	

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Villa-Laura	Met1326	Piperidolate	1.98	0.0087	1.6	Herbicida (compuesto sintético)
Villa-Laura	Met1400	Hydroxy-gamma-sanshool	1.8	0.0455	1.5	Alcamida (amida lipídica)
Villa-Laura	Met175	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-6,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one	2.84	0.013	1.7	Flavonoide (flavona)
Villa-Laura	Met1003	Physalin M	-1.14	0.0288	1.6	Esteroides
Villa-Laura	Met1053	pelargonidin-3,5-diglucoside	1.33	0.0139	1.7	
Villa-Laura	Met1079	3-Aminopropylphosphonic acid	1.04	0.0037	1.6	Fosfonato
Villa-Laura	Met1246	Crosatoside B	-1.03	0.0184	1.5	Triterpeno
Villa-Laura	Met141	Ganoderic acid K	-1.11	0.014	1.6	
Villa-Laura	Met316	2a-Hydroxygypsogenin 3-O-b-D-glucoside	-1.21	0.0449	1.7	
Villa-Laura	Met373	8-8'-Dehydrodiferulic acid	-1.28	0.0156	1.7	Derivado de lípidos abscísico
Villa-Laura	Met398	Phenylphosphonic acid	3.23	0.0274	2.5	
Villa-Laura	Met433	dihydroxyphaseic acid	-1.21	0.0489	1.6	
Villa-Laura	Met449	PGP(22:6(4Z,7Z,11E,13Z,15E,19Z)-2OH(10S,17)/i-12:0)	-1.06	0.032	1.5	Antibiótico
Villa-Laura	Met557	Hedamycin	-1.55	0.0076	1.9	
Villa-Laura	Met6	3-Pyridinemethanol	-1.18	0.0261	1.7	
Villa-Laura	Met616	Nosantine	1.9	0.0389	2.1	Alcaloide
Villa-Laura	Met800	6-Hydroxydelphinidin 3-glucoside	-1.04	0.029	1.5	
Villa-Laura	Met827	(-)-trans-Carveol glucoside	2.73	0.0111	2.5	

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	Log2F C	p-valor	VI P	Categoría química
Villa-Laura	Met830	Succinylidisalicylic acid	1.86	0.0364	1.9	Acido fenolilico
Villa-Laura	Met888	No match	-3.51	0.0409	2.5	
Villa-Laura	Met889	7,7'-Dihydroxy-6,8'-bicoumarin	3.48	0.0461	2.8	Cumarina
Villa-Laura	Met985	PGP(18:1(12Z)-2OH(9,10)/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))	1.09	0.0082	1.6	

Anexo 2. Metabolitos diferencialmente abundantes e identificados tentativamente en frutos de tomate tratados con consorcios microbianos.

Tratamiento	Metabolito ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría química
Armando	Met322	5-Hydroxycapsanthin (xantófila tipo capsantina)	-1.08	0.0107	2.4	Carotenoides
Dulce-Hogar	Met352	Crosatoside B	1.26	0.0049	1.8	Glucósido fenólico
Dulce-Hogar	Met29	Lappaol-tipo (Lappaol B / Lappaol D)	3.00	0.0092	1.7	Lignanós fenólicos
Dulce-Hogar	Met552	piridina/aminofenol	-1.63	0.0093	1.7	Compuesto nitrogenado
Dulce-Hogar	Met62	Sibiricoside A	-1.03	0.0108	1.7	Glucósido fenólico
Dulce-Hogar	Met268	PA/PG con tromboxano o 6-keto-PGF??	-1.10	0.0156	1.7	Lípido
Dulce-Hogar	Met323	CDP-DG(22:6/20:5)	-1.03	0.0158	1.7	Lípido
Dulce-Hogar	Met494	Esteroidal saponina	-1.11	0.0159	1.7	Saponina
Dulce-Hogar	Met118	Cardiolipina CL(10:0/11:0/i-13:0/18:2(9Z,11Z))	-1.47	0.0222	1.7	Lípido
Dulce-Hogar	Met350	Kukoamina B	-1.25	0.0259	1.7	Alcaloide
Dulce-Hogar	Met247	Fosfatidilglicerol/ácido fosfatídico tipo PG/PA(20:4/15:0) con grupo prostaglandina	-1.57	0.0300	1.6	Lípido
Dulce-Hogar	Met20	Melongoside L	-1.05	0.0334	1.6	Saponina
Dulce-Hogar	Met433	Polygalacin D	-1.40	0.0432	1.6	Saponina
Dulce-Hogar	Met71	No identificado	-1.05	0.0479	1.5	
Cauca	Met386	1-palmitoylglycerone 3-phosphate	1.09	0.0228	2.0	Lípido
Cauca	Met459	Indol-dímero tipo 3,3'-diindolylmethane (p.ej. 3,3'-diindolylmethane / 2-(indol-2-ilmetil)-indol)	-1.35	0.0345	1.0	Alcaloide
Cauca	Met218	Tyramine	-1.32	0.0365	2.1240	Aminas biógenas

Anexo 3. Metabolitos diferencialmente abundantes e identificados tentativamente en fermentación de semillas de café tratados con consorcios microbianos.

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Burkholderia	Met1005	No identificado	-1	0.026	1.5	No identificado
Burkholderia	Met1023	Trans-urocanic acid	-1.1	0.03	1.5	Derivado de histidina (imidazol carboxilato)
Burkholderia	Met1029	No identificado	-1.1	0.005	1.6	No identificado
Burkholderia	Met1034	No identificado	-2	0.031	2.1	No identificado
Burkholderia	Met1059	No identificado	-1.1	0.029	1.5	No identificado
Burkholderia	Met1159	No identificado	-1.3	0.017	1.7	No identificado
Burkholderia	Met12	Isorhamnetin 3-O-[4-Hydroxy-E-cinnamoyl-(É)]	1.2	0.015	1.6	Flavonoide glicosilado
Burkholderia	Met1266	5,7-Dimethoxy-6-C-methylflavanone	-1.4	0.006	1.8	Flavanona C-metilada
Burkholderia	Met1275	No identificado	-1	0.02	1.5	No identificado
Burkholderia	Met1349	N-trans-Feruloyloctopamine	-1	0.006	1.6	Fenilamida (derivado ácido fenólico)
Burkholderia	Met1360	No identificado	-1	0.007	1.5	No identificado
Burkholderia	Met1421	No identificado	-1	0.026	1.5	No identificado
Burkholderia	Met174	No identificado	1.8	0.037	2.1	No identificado
Burkholderia	Met18	No identificado	1.7	0.008	2	No identificado
Burkholderia	Met219	No identificado	1.3	0.037	1.7	No identificado
Burkholderia	Met229	Clovamida	2	0.03	2.1	Fenilamida (ácido cafeico-L-DOPA)
Burkholderia	Met356	N-Feruloylglicil-L-fenilalanina	1.1	0.009	1.6	Peptido/feruloil derivado
Burkholderia	Met457	N-trans-Feruloyloctopamine	-1.1	0.009	1.6	Fenilamida
Burkholderia	Met487	N-Methyltyramine	-1	0.034	1.5	Amina fen—lica
Burkholderia	Met49	No identificado	-1.5	0	1.9	No identificado
Burkholderia	Met500	No identificado	1.2	0.012	1.6	No identificado
Burkholderia	Met575	No identificado	-1.1	0.008	1.6	No identificado
Burkholderia	Met672	1(3H)-Isobenzofuranone derivado fosforilado	-1.8	0.049	1.9	Lactona aromática fosforilada
Burkholderia	Met726	No identificado	-1.2	0.019	1.6	No identificado
Burkholderia	Met777	No identificado	-1	0.002	1.6	No identificado
Burkholderia	Met874	Val-Met-Pro (tripeptido)	-1.5	0.043	1.7	TriPeptido
Burkholderia	Met908	D-Pantotenil-Cys	-1	0.016	1.5	Derivado de vitamina B5 (Peptido)
Burkholderia	Met996	No identificado	-1	0.035	1.4	No identificado
Burkholderia	Met998	No identificado	-1	0.035	1.4	No identificado
Dulce_Hogar	Met1	Quercetin 3-(sinapoylsophorotrioside)	2.3	0.015	3	Flavonoide glicosilado
Dulce_Hogar	Met1023	Trans-urocanic acid	1.4	0.04	2.2	Derivado de histidina (imidazol carboxilato)
Dulce_Hogar	Met576	Flavanona metoxi-hidroxilada	1.3	0.025	2.2	Flavanona (flavonoide)
Dulce_Hogar	Met676	D-1-Aminopropan-2-ol O-phosphate	2.3	0.015	2.9	D-1-Aminopropan-2-ol O-phosphate
Dulce_Hogar	Met996	No identificado	1.4	0.04	2.2	No identificado
Dulce_Hogar	Met998	No identificado	1.4	0.041	2.2	No identificado
Honey	Met101	Kaempferol 3-rhamnosyl-(coumarylrobinobioside)	-7.2	2.8667e-06	4.2	Flavonol glicosilado
Honey	Met1015	CinnamoylDtrixyloside	3.3	0.011	2.3	fster/cinnamato glicosilado
Honey	Met1092	Tripeptido Met-Pro-Pro	-1.9	0.024	1.7	TriPeptido
Honey	Met1140	Flavonoide prenilado/metoxilado (Garcinone - / Averantin)	3.1	0.01	2.2	Flavonoide prenilado

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Honey	Met1160	5?-O-?-D-glucosilpiridoxina	1.3	0.023	1.5	Vitamina B6 glucosilada
Honey	Met1208	Tryptamine	2.4	0.008	1.9	Amina biogénica (derivado de triptofano)
Honey	Met1243	Hydroxytryptamine sulfate	1.5	0.018	1.6	Derivado de fármaco (diurético)
Honey	Met1245	Phenacyl	2.1	0.046	1.7	Cetona aromática
Honey	Met126	p-Fluorhippuric acid	1.2	0.001	1.4	Amida de ácido benzoico
Honey	Met1299	No identificado	7.1	0	4.1	No identificado
Honey	Met1301	Prolyl-Hydroxyproline	4	0	2.6	DiPeptido
Honey	Met1430	(Z)-N-Feruloyl-5-hydroxyanthranilic acid	1.3	0.023	1.4	Fenilamida
Honey	Met1440	Diisotirosina	1.4	0.015	1.5	DiPeptido de tirosina (reticulado)
Honey	Met155	3-metoxipiridina - 3-hidroxi-2-metilpiridina	-8	3.9908e-07	4.3	Derivados piridínicos
Honey	Met159	Delphinidina 3-arabinosido - 3-xilosido	2.5	0.001	2	Antocianina
Honey	Met172	No identificado	1.7	0.002	1.6	No identificado
Honey	Met192	No identificado	-7.5	9.2599e-06	4.2	No identificado
Honey	Met228	No identificado	-1.9	0.021	1.8	No identificado
Honey	Met23	No identificado	4.7	0.001	2.7	No identificado
Honey	Met29	No identificado	2.2	0.003	1.9	No identificado
Honey	Met304	No identificado	-1.8	0.022	1.7	No identificado
Honey	Met327	Conjunto de kaempferol	-1.3	0.022	1.4	Flavonol glicosilado
Honey	Met33	No identificado	-5.9	3.4786e-06	3.9	No identificado
Honey	Met375	Fosfatidilserina oxidada (OHODIA-PS)	1.1	0.035	1.3	Fosfolípido(fosfatidilserina)
Honey	Met388	betaína Aldehído	1.5	0.009	1.5	Aldehído cuaternario (betaína)
Honey	Met389	Dihidroconiferina - glucósido de coniferil	1.4	0.017	1.4	Lignano - glucósido
Honey	Met396	Isopenteniladenosina-5?-difosfato	-1.9	0.006	1.7	Citoquinina (nucleótido)
Honey	Met464	No identificado	1.5	0.01	1.5	No identificado
Honey	Met480	No identificado	2.7	0	2.1	No identificado
Honey	Met496	No identificado	1.6	0.028	1.6	No identificado
Honey	Met510	No identificado	-6.6	1.976e-05	4	No identificado
Honey	Met533	No identificado	2.1	0.004	1.8	No identificado
Honey	Met569	No identificado	2.1	0.009	1.8	No identificado
Honey	Met606	Kaempferol 3-rutinoside-7-ramnoside	-4.2	0.001	2.6	Flavonol glicosilado
Honey	Met655	Pyridoxamine	3.6	0.004	2.4	Vitamina B6 (forma amina)
Honey	Met676	D-1-Aminopropan-2-ol O-phosphate	1.9	0.013	1.7	D-1-Aminopropan-2-ol O-phosphate
Honey	Met735	Valyl-Glutamate	1.7	0	1.7	DiPeptido
Honey	Met744	Avenanthramide-C methyl ester	-1	0.047	1.2	Avenantramida metilada
Honey	Met827	Capsaicin	-2	0.013	1.8	Capsaicinoide (amida fenólica)
Honey	Met841	Chalcona 4,2?-dihidroxi-dimetoxilada glicosilada	-4.1	0.001	2.6	Chalcona glicosilada
Honey	Met846	No identificado	2.9	0.005	2.1	No identificado
Honey	Met897	Dipeptido ArgÐAla - AlaÐArg	3.6	0.001	2.5	DiPeptido
Honey	Met920	N-Jasmonoyl-Ile	-1.6	0.007	1.6	Conjugadojasmonato-aminoácido
Honey	Met978	Proantocianidina tipo arecatannin/cinnamtannin	1.3	0.039	1.4	Proantocianidina (tanino condensado)

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Santuario	Met1023	Trans-urocanic acid	2	0.007	2.7	Derivado de histidina (imidazol carboxilato)
Santuario	Met1030	No identificado	1.4	0.046	2.5	No identificado
Santuario	Met1034	No identificado	2.6	0.038	3.7	No identificado
Santuario	Met37	Cianidina 3-(acetilhex—sido)	1.2	0.039	2.3	Antocianina acilada
Santuario	Met385	No identificado	1.8	0.018	3	No identificado
Santuario	Met516	No identificado	1	0.044	2.1	No identificado
Santuario	Met576	Flavanona metoxi-hidroxilada	1.7	0.018	3	Flavanona (flavonoide)
Santuario	Met672	1(3H)-Isobenzofuranone derivado fosforilado	3.1	0.02	4	Lactona aromática fosforilada
Santuario	Met878	2-keto-3-deoxy-L-rhamnonate	1.3	0.009	2.6	Azúcar ácido
Santuario	Met996	No identificado	2	0.007	3.3	No identificado
Santuario	Met998	No identificado	2	0.007	3.3	No identificado
Yarrowia	Met1093	No identificado	1.1	0.049	1.4	No identificado
Yarrowia	Met1094	trans-Zeatin riboside diphosphate	-1.3	0.036	1.8	Citoquinina nucleotídica
Yarrowia	Met1140	Flavonoide prenilado/metoxilado (Garcinone - / Averantin)	-1.1	0.05	1.6	Flavonoide prenilado
Yarrowia	Met1160	5?-O-?-D-glucosilpiridoxina	-1	0.038	1.4	Vitamina B6 glucosilada
Yarrowia	Met12	Isorhamnetin 3-O-[4-Hydroxy-E-cinnamoyl-(E)]	-1.5	0.01	1.9	Flavonoide glicosilado
Yarrowia	Met1281	Flavonoide policíclico prenilado (estructura extendida)	-1	0.034	1.5	Polifenol complejo
Yarrowia	Met159	Delphinidina 3-arabinosido - 3-xilosido	-1.1	0.006	1.7	Antocianina
Yarrowia	Met18	No identificado	-2.6	0.008	2.4	No identificado
Yarrowia	Met185	X-Trp	1.2	0.013	1.6	Derivado de triptofano
Yarrowia	Met186	No identificado	1.2	0.023	1.6	No identificado
Yarrowia	Met219	No identificado	-1.8	0.013	2.1	No identificado
Yarrowia	Met229	Clovamida	-2.6	0.013	2.6	Fenilamida (ácido cafeico-L-DOPA)
Yarrowia	Met23	No identificado	1.6	0.042	1.8	No identificado
Yarrowia	Met259	No identificado	-1.2	0.013	1.6	No identificado
Yarrowia	Met32	Syringetin 3-(6'''-acetylglucosyl)(1->3)-galactoside	-1.5	0.033	1.8	Flavonol glicosilado
Yarrowia	Met393	Antocianina di-gluc—sido acilada	-1.3	0.03	1.8	Antocianina acilada
Yarrowia	Met493	No identificado	-1.2	0.016	1.7	No identificado
Yarrowia	Met495	Avenanthramide A2	-1.8	0.042	2.2	Avenanthramida (fenilamida)
Yarrowia	Met500	No identificado	-1.4	0.009	1.8	No identificado
Yarrowia	Met535	No identificado	1.3	0.028	1.7	No identificado
Yarrowia	Met615	No identificado	1.3	0.036	1.6	No identificado
Yarrowia	Met617	S-Methyl-L-methionine	1.2	0.032	1.6	Derivado metilado de aminoácido (betaina)
Yarrowia	Met646	No identificado	1.3	0.034	1.6	No identificado
Yarrowia	Met663	Oligómero de flavonoide glicosilado	-2.5	0.037	2.5	Oligómero de flavonoide
Yarrowia	Met715	No identificado	1.3	0.037	1.6	No identificado
Yarrowia	Met744	Avenanthramide-C methyl ester	-1.3	0.034	1.8	Avenanthramida metilada
Yarrowia	Met846	No identificado	-1.3	0.02	1.8	No identificado
Yarrowia	Met894	No identificado	1.3	0.04	1.6	No identificado
Yarrowia	Met911	No identificado	1.1	0.039	1.5	No identificado
Yarrowia	Met1021	No identificado	1.6	0.021	1.9	No identificado

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Honey	Met1032	No identificado	-1.5	0.016	1.5	No identificado
Yarrowia	Met1033	No identificado	1.4	0.038	1.7	No identificado
Dulce_Hogar	Met1050	No identificado	1	0.038	1.8	No identificado
Burkholderia	Met1053	No identificado	-1.4	0.026	1.7	No identificado
Dulce_Hogar	Met1079	No identificado	-1	0.021	1.9	No identificado
Yarrowia	Met1079	No identificado	-1.1	0.023	1.6	No identificado
Yarrowia	Met1082	No identificado	-1.3	0.019	1.8	No identificado
Honey	Met1089	Salvianolic acid Dlike	-1.9	0.035	1.8	Ácido fenólico
Honey	Met1090	No identificado	-1.3	0.029	1.4	No identificado
Yarrowia	Met1090	No identificado	-1.4	0.038	1.8	No identificado
Yarrowia	Met1091	No identificado	-1.1	0.036	1.6	No identificado
Honey	Met1098	No identificado	-1.8	0.026	1.6	No identificado
Honey	Met1103	Petunidin (putativo)	-1.8	0.027	1.6	Antocianidina
Santuario	Met1110	No identificado	1.9	0.008	3.1	No identificado
Honey	Met1130	No identificado	-1.2	0.049	1.3	No identificado
Burkholderia	Met1138	Procyanidin B2 3-gallate	1	0.04	1.5	Proantocianidina
Yarrowia	Met1138	Procyanidin B2 3-gallate	-1.2	0.029	1.7	Proantocianidina
Dulce_Hogar	Met1139	No identificado	1.8	0.036	2.4	No identificado
Dulce_Hogar	Met1143	No identificado	1.4	0.035	2.2	No identificado
Honey	Met1169	Spinisin C Dlike	-1.8	0.034	1.6	Flavonoide C-glicosilado
Yarrowia	Met1172	No identificado	1.4	0.043	1.7	No identificado
Burkholderia	Met1178	Hippuric acid	-1.8	0.041	1.9	Ácido aromático
Honey	Met118	Procyanidin B2 3-gallate	-1.8	0.033	1.7	Polifenol
Honey	Met1186	No identificado	-1.8	0.027	1.7	No identificado
Dulce_Hogar	Met1187	No identificado	-1.1	0.016	2.1	No identificado
Yarrowia	Met1187	No identificado	-1.3	0.017	1.8	No identificado
Burkholderia	Met1188	Salvianolic acid B	1	0.034	1.5	Ácidos fenólicos condensados
Honey	Met1188	Salvianolic acid B	-1.7	0.008	1.6	Ácidos fenólicos condensados
Yarrowia	Met1188	Salvianolic acid B	-1.4	0.014	1.8	Ácidos fenólicos condensados
Yarrowia	Met119	Bikaverin	-1.3	0.047	1.7	Pigmentos fungicos - polipeptidos
Honey	Met1215	No identificado	-1	0.012	1.3	No identificado
Honey	Met125	Cyanidin 3-(6"-acetylglucoside)	-1.3	0.022	1.3	Flavonoides - Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met125	Cyanidin 3-(6"-acetylglucoside)	-1.3	0.005	1.8	Flavonoides - Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met127	No identificado	-1.2	0.01	1.6	No identificado
Burkholderia	Met1283	No identificado	-1.4	0.011	1.8	No identificado
Honey	Met1292	No identificado	-1.4	0.016	1.5	No identificado
Yarrowia	Met1292	No identificado	-1.1	0.031	1.6	No identificado
Dulce_Hogar	Met1323	No identificado	-1.1	0.002	2	No identificado
Yarrowia	Met1323	No identificado	-1.1	0.005	1.7	No identificado
Honey	Met1335	No identificado	-1.7	0.024	1.6	No identificado
Yarrowia	Met1335	No identificado	-1.3	0.047	1.8	No identificado

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Honey	Met136	Heptacarboxylporphyrin III	-1.5	0.037	1.5	Tetrapirroles - Porphirinas
Honey	Met1379	No identificado	-1.6	0.036	1.6	No identificado
Dulce_Hogar	Met1386	No identificado	-1.1	0.011	2.1	No identificado
Yarrowia	Met1386	No identificado	-1.3	0.011	1.8	No identificado
Honey	Met1387	No identificado	-1.1	0.02	1.3	No identificado
Honey	Met1397	No identificado	-1.3	0.031	1.3	No identificado
Honey	Met1399	No identificado	-1.3	0.007	1.4	No identificado
Honey	Met1407	Apigeninidin (putativo)	-1.2	0.045	1.3	Antocianidina
Burkholderia	Met1416	No identificado	-1	0.044	1.5	No identificado
Honey	Met1424	No identificado	1.6	0.023	1.6	No identificado
Burkholderia	Met144	Peonidin	1	0.037	1.4	Flavonoides - Antocianidinas
Yarrowia	Met144	Peonidin	-1.2	0.01	1.7	Flavonoides - Antocianidinas
Honey	Met1447	No identificado	-1.5	0.042	1.5	No identificado
Honey	Met146	Neoglucobrassicin	-1.5	0.032	1.4	Glucosinolatos (N-derivados)
Yarrowia	Met157	Isovitexin feruloyl-glucoside	-1.2	0.013	1.6	Flavonoides - Flavonas aciladas
Yarrowia	Met160	No identificado	-1	0.005	1.6	No identificado
Honey	Met168	Pelargonidin malonyl-acetyl glucoside	-1.6	0.033	1.5	Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met168	Pelargonidin malonyl-acetyl glucoside	-1.1	0.033	1.5	Antocianinas aciladas
Honey	Met171	Kaempferol p-coumaroyl rutinoside	-1.5	0.004	1.5	Flavonoles acilados
Burkholderia	Met182	Malvidin diglucoside	1.1	0.032	1.5	Antocianinas
Honey	Met182	Malvidin diglucoside	-1.6	0.008	1.6	Antocianinas
Yarrowia	Met182	Malvidin diglucoside	-1.4	0.011	1.8	Antocianinas
Honey	Met188	Avenanthramide D	-1.2	0.024	1.3	Fenilpropanoides
Yarrowia	Met188	Avenanthramide D	-1.1	0.018	1.5	Fenilpropanoides
Honey	Met199	Peonidin acetylglucoside	-1.1	0.005	1.3	Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met199	Peonidin acetylglucoside	-1.2	0.003	1.7	Antocianinas aciladas
Honey	Met210	Cyclic ADP-ribose	-1.7	0.03	1.6	nucleotidos
Acevedo	Met226	Indicaxanthin	1.5	0.022	2.7	Betalaínas
Honey	Met226	Indicaxanthin	-1.8	0.029	1.6	Betalaínas
Yarrowia	Met226	Indicaxanthin	-1.8	0.012	2.1	Betalaínas
Yarrowia	Met230	Pelargonidin malonyl-acetyl glucoside	-1.1	0.03	1.6	Antocianinas aciladas
Honey	Met238	Avenanthramide D	-1.1	0.017	1.2	Fenilpropanoides (amidasfenolicas)
Yarrowia	Met243	Petunidin	-1	0.018	1.6	Antocianidinas
Honey	Met251	Pelargonidin malonylglucoside	-1.6	0.027	1.5	Antocianinas aciladas
Honey	Met252	Peonidin acetylglucoside	-1.1	0.003	1.3	Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met252	Peonidin acetylglucoside	-1.2	0.002	1.7	Antocianinas aciladas
Burkholderia	Met274	Pelargonidin malonyl-acetyl glucoside	1	0.038	1.5	Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met274	Pelargonidin malonyl-acetyl glucoside	-1.2	0.03	1.6	Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met278	Pelargonidin malonylglucoside	-1.2	0.005	1.7	Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met281	MetDGludPhe	-1	0.042	1.5	Peptidos pequeños
Honey	Met282	Cyanidin acetylglucoside	-2.1	0.003	1.8	Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met285	Cyanidin 3-xylosyl-rutinoside	-1	0.015	1.5	Flavonoides - Antocianinas

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log2FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Yarrowia	Met296	No identificado	-1	0.008	1.6	No identificado
Yarrowia	Met305	No identificado	-1.1	0.001	1.7	No identificado
Honey	Met308	Pelargonidin 3-(6"-malonylglucoside)-5-(6"-acetylglucoside)	-1.8	0.011	1.6	Flavonoides - Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met318	Cyanidin 3-(acetylglucoside)	-1.1	0.032	1.6	Flavonoides - Antocianinas
Honey	Met322	Cyanidin 3-(2G-galloylrutinoside)	-1.3	0.045	1.4	Flavonoides - Antocianinas
Yarrowia	Met330	No identificado	-1.1	0.007	1.6	No identificado
Honey	Met335	Acyl-CoA	-2.4	0.032	1.8	Coenzimas
Yarrowia	Met335	Acyl-CoA	-1.1	0.05	1.6	Coenzimas
Yarrowia	Met34	Malvidin 3-glucoside-pyruvate	-1.2	0.026	1.7	Antocianina
Honey	Met340	Diosgenin glycoside (putativo)	2.2	0.009	1.8	Saponinas esteroidales
Honey	Met349	Malvidin 3-(6"-acetylglucoside)	-1.7	0.047	1.7	Flavonoides - Antocianinas
Yarrowia	Met357	Glicosfingolípido	1.6	0.045	1.8	Lípidos complejos
Honey	Met358	Cyanidin 3-(acetylglucoside)	-2	0.014	1.7	Flavonoides - Antocianinas
Yarrowia	Met364	Acyl-CoA	-1.2	0.03	1.6	Coenzimas
Burkholderia	Met383	Pelargonidin 3-(6"-malonylglucoside)-5-(6"-acetylglucoside)	1.2	0.032	1.6	Flavonoides - Antocianinas aciladas
Honey	Met383	Pelargonidin 3-(6"-malonylglucoside)-5-(6"-acetylglucoside)	-1.2	0.049	1.3	Flavonoides - Antocianinas aciladas
Yarrowia	Met383	Pelargonidin 3-(6"-malonylglucoside)-5-(6"-acetylglucoside)	-1.3	0.024	1.7	Flavonoides - Antocianinas aciladas
Santuario	Met384	Chlorophyllide Cu	1.6	0.004	2.9	Tetrapirroles
Yarrowia	Met399	No identificado	1.2	0.036	1.5	No identificado
Yarrowia	Met4	Cyanidin 3-arabinoside	-1.2	0.006	1.7	Antocianina
Honey	Met40	Procyanidin B2 3-gallate	-2	0.001	1.8	Polifenol
Yarrowia	Met40	Procyanidin B2 3-gallate	-1.3	0.029	1.7	Polifenol
Yarrowia	Met404	No identificado	1.5	0.039	1.8	No identificado
Honey	Met417	Alphazurine FG	-1.3	0.042	1.3	Flavonoide glicosilado
Yarrowia	Met417	Alphazurine FG	-1.2	0.031	1.7	Flavonoide glicosilado
Yarrowia	Met419	Niazimicin A	-1.3	0.046	1.7	Fenilpropanoides
Honey	Met421	Pelargonidin 3-(malonyl/acetyl) diglucoside	-1.4	0.039	1.4	Pelargonidin 3-(malonyl/acetyl) diglucoside
Burkholderia	Met429	Prenylated flavonoid glycoside (putativo)	-1	0.04	1.5	Flavonoides prenilados
Honey	Met43	Betaine aldehyde	1.5	0.026	1.4	Metabolito pequeño
Yarrowia	Met432	No identificado	-1.2	0.038	1.6	No identificado
Burkholderia	Met445	(E)-Avenanthramide D	1.1	0.041	1.5	Fenilpropanoides (amidasfenolicas)
Yarrowia	Met445	(E)-Avenanthramide D	-1.2	0.041	1.7	Fenilpropanoides (amidasfenolicas)
Honey	Met45	No identificado	-1.1	0.014	1.3	No identificado
Burkholderia	Met450	Heptacarboxylporphyrin III	1.1	0.033	1.6	Tetrapirroles
Yarrowia	Met450	Heptacarboxylporphyrin III	-1.2	0.034	1.7	Tetrapirroles
Yarrowia	Met470	N-caffeoyltyramine	-1.2	0.011	1.7	Fenilpropanoides
Yarrowia	Met502	Bikaverin (putativo vegetal)	-1.4	0.046	1.7	Poliquétidos
Dulce_Hogar	Met505	No identificado	2.1	0.033	2.6	No identificado
Yarrowia	Met515	Triglicérido	-1.6	0.029	1.9	Lípidos
Yarrowia	Met518	Octaarginine	1.4	0.048	1.7	Peptido
Yarrowia	Met525	No identificado	1.4	0.047	1.7	No identificado

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Yarrowia	Met531	No identificado	-1.2	0.017	1.7	No identificado
Yarrowia	Met532	No identificado	-1.7	0.012	2	No identificado
Honey	Met54	Pelargonidin glucoside derivado	-1.1	0.018	1.2	Antocianina
Honey	Met545	Epicatechin dimer gallate	-1.1	0.001	1.4	Proantocianidinas
Yarrowia	Met546	No identificado	-1.2	0.014	1.7	No identificado
Dulce_Hogar	Met557	No identificado	1.1	0.032	1.9	No identificado
Yarrowia	Met558	No identificado	1.6	0.029	1.8	No identificado
Yarrowia	Met571	Peonidin	-1.1	0.033	1.6	Flavonoides - Antocianinas
Honey	Met573	Queuine	1.4	0.024	1.5	Nucleósidos
Honey	Met59	Heptacarboxylporphyrin III	-1.6	0.029	1.6	Porfirina
Yarrowia	Met591	Afzelechin 3-O-rhamnoside	-1.6	0.025	2	Flavonoles
Yarrowia	Met600	No identificado	1.1	0.045	1.6	No identificado
Honey	Met605	Pelargonidin malonyl/acetil-diglucoside	-1.8	0.028	1.6	Antocianinas
Honey	Met608	Epicatechin cinnamoyl-glycoside	1.2	0.018	1.4	Flavonoles
Yarrowia	Met616	No identificado	1.1	0.036	1.5	No identificado
Acevedo	Met641	Quercetin caffeoyl-glycoside	-1.4	0.023	2.6	Flavonoles
Burkholderia	Met641	Quercetin caffeoyl-glycoside	-1.7	0.002	2	Flavonoles
Dulce_Hogar	Met641	Quercetin caffeoyl-glycoside	1.2	0.007	2.1	Flavonoles
Honey	Met641	Quercetin caffeoyl-glycoside	1.5	0.006	1.6	Flavonoles
Santuario	Met641	Quercetin caffeoyl-glycoside	1.4	0.034	2.7	Flavonoles
Honey	Met651	No identificado	-1.8	0.026	1.6	No identificado
Dulce_Hogar	Met679	No identificado	1.6	0.021	2.3	No identificado
Yarrowia	Met679	No identificado	1.3	0.046	1.6	No identificado
Honey	Met681	Petunidin	-1.8	0.033	1.6	Antocianidinas
Dulce_Hogar	Met7	TyrDTrpDCys	-1.3	0.003	2.3	Peptido
Honey	Met70	Apigeninidin	-1.1	0.012	1.3	Flavonoide
Honey	Met710	Peonidin malonyl-diglucoside	-1.1	0.021	1.3	Antocianinas
Yarrowia	Met710	Peonidin malonyl-diglucoside	-1	0.037	1.5	Antocianinas
Yarrowia	Met716	No identificado	1.4	0.046	1.7	No identificado
Honey	Met717	No identificado	-1.7	0.035	1.6	No identificado
Dulce_Hogar	Met725	No identificado	1.2	0.015	2.1	No identificado
Yarrowia	Met725	No identificado	1.2	0.021	1.6	No identificado
Yarrowia	Met727	Pinobanksin	-1.2	0.018	1.6	Flavanonas
Dulce_Hogar	Met748	No identificado	-1.3	0.01	2.2	No identificado
Yarrowia	Met748	No identificado	-1.4	0.011	1.9	No identificado
Yarrowia	Met749	No identificado	-1.2	0.033	1.7	No identificado
Honey	Met759	Cyanidin acetylglucoside	-1.8	0.036	1.6	Antocianinas
Dulce_Hogar	Met767	No identificado	1.6	0.034	2.3	No identificado
Burkholderia	Met779	Procyanidin B2 3-gallate	1.4	0.037	1.8	Proantocianidinas
Honey	Met779	Procyanidin B2 3-gallate	-1.6	0.022	1.6	Proantocianidinas
Yarrowia	Met779	Procyanidin B2 3-gallate	-1.6	0.024	2	Proantocianidinas
Honey	Met796	No identificado	-1.9	0.015	1.7	No identificado

Tratamiento	Met ID	Metabolito tentativo	log ₂ FC	p-valor	VIP	Categoría Química
Burkholderia	Met802	Amentoflavone	1	0.021	1.5	Biflavonoide
Yarrowia	Met802	Amentoflavone	-1.2	0.02	1.7	Biflavonoide
Honey	Met817	No identificado	-1.8	0.035	1.6	No identificado
Burkholderia	Met821	No identificado	1.4	0.04	1.8	No identificado
Dulce_Hogar	Met834	No identificado	1	0.028	1.9	No identificado
Honey	Met836	No identificado	-1.2	0.021	1.3	No identificado
Yarrowia	Met836	No identificado	-1.1	0.014	1.6	No identificado
Honey	Met842	No identificado	6.3	5.493e-06	4	No identificado
Burkholderia	Met845	No identificado	-1	0.015	1.5	No identificado
Dulce_Hogar	Met845	No identificado	1.1	0.032	1.9	No identificado
Yarrowia	Met845	No identificado	1.1	0.024	1.6	No identificado
Honey	Met850	No identificado	-1.1	0.005	1.3	No identificado
Yarrowia	Met850	No identificado	-1.2	0.021	1.6	No identificado
Honey	Met851	No identificado	-1.8	0.033	1.6	No identificado
Honey	Met862	No identificado	-1.1	0.019	1.3	No identificado
Yarrowia	Met862	No identificado	-1	0.019	1.6	No identificado
Yarrowia	Met873	No identificado	-1	0.041	1.5	No identificado
Honey	Met881	No identificado	-1.9	0.013	1.7	No identificado
Yarrowia	Met881	No identificado	-1.1	0.013	1.6	No identificado
Yarrowia	Met905	No identificado	1	0.021	1.5	No identificado
Honey	Met907	No identificado	-1.3	0.01	1.5	No identificado
Yarrowia	Met907	No identificado	-1.3	0.048	1.7	No identificado
Dulce_Hogar	Met910	No identificado	1.6	0.041	2.3	No identificado
Yarrowia	Met912	No identificado	-1.1	0.04	1.6	No identificado
Honey	Met914	Salvianolic acid B	-1.9	0.036	1.6	Ácido fenólico
Yarrowia	Met914	Salvianolic acid B	-1.1	0.021	1.6	Ácido fenólico
Yarrowia	Met934	No identificado	-1	0.016	1.6	No identificado
Burkholderia	Met937	Caffeoylshikimate	-1.2	0.042	1.5	Ácido fenólico
Honey	Met953	Sanggenon B	-1.3	0.044	1.4	Flavonoide prenilado
Yarrowia	Met970	No identificado	-1.1	0.032	1.6	No identificado
Dulce_Hogar	Met979	No identificado	1.9	0.045	2.4	No identificado
Honey	Met987	No identificado	-1.4	0.04	1.4	No identificado

Anexo 4. Criterios de identificación de los compuestos

Metabolito	Masa experimental (m/z)	Aducto	Error (ppm)	Peso molecular	Anotacion putativa	Formula molecular
Met727	294,0529	M+Na	9	271,0612	(2R,3R)-pinobanksina	C15H11O5
Met238	322,0475	M+K	0	283,0845	(E)-Avenantramida D	C16H13NO4
Met445	322,0475	M+K	0	283,0845	(E)-Avenantramida D	C16H13NO4
Met188	322,0477	M+K	0	283,0845	(E)-Avenantramida D	C16H13NO4
Met1089	733,1492	M+K	5	694,1898	Ácido 6-[2-[6-carboxi-5-(2,4-dihidroxifenil)-3-metilciclohex-2-en-1-il]-6-[(2E)-3-(2,4-dihidroxifenil)prop-2-enoil]-3-hidroxifenoxi]-3,4,5-trihidroxioxano-2-carboxílico	C35H34O15
Met1178	180,0646	M+H	5	179,0582	ácido hipúrico	C9H9NO3
Met1188	736,1859	M+NH4	3	718,1534	Ácido salvianólico B	C36H30O16
Met210	524,0586	M+H-H2O	1	541,0611	ADP-ribosa cíclica	C15H21N5O13P2
Met591	443,1324	M+Na	3	420,142	Afzelequina 3-O-alfa-L-ramnopiranosido	C21H24O9
Met802	556,1216	M+NH4	4	538,09	Agathisflavona	C30H18O10
Met43	85,0891	M+H-H2O	4	102,0919	Aldehído de betaína	C5H12NO
Met417	783,2215	M+H	4	782,2114	Alfazurina FG	C37H34N2O9S3.2NH4
Met70	308,0683	M+NH4	0	290,0346	apigeninidina	
Met119	400,1003	M+NH4	6	382,0689	Bikaverin	C20H14O8
Met502	400,1003	M+NH4	6	382,0689	Bikaverin	C20H14O8
Met937	336,0813	M+H	10	335,0772	cafeoilshikimato	C16H15O8
Met322	765,211	M+NH4	0	747,1773	Cianidina 3-(2G-galoilrutinosido)	C34H35O19
Met358	514,1105	M+Na	5	491,119	Cianidina 3-(6"-acetil-galactósido)	C23H23O12
Met282	514,1108	M+Na	5	491,119	Cianidina 3-(6"-acetil-galactósido)	C23H23O12
Met759	514,1108	M+Na	5	491,119	Cianidina 3-(6"-acetil-galactósido)	C23H23O12
Met987	514,1108	M+Na	5	491,119	Cianidina 3-(6"-acetil-galactósido)	C23H23O12
Met125	514,111	M+Na	6	491,119	Cianidina 3-(6"-acetil-galactósido)	C23H23O12
Met318	514,1111	M+Na	6	491,119	Cianidina 3-(6"-acetil-galactósido)	C23H23O12

Metabolito	Masa experimental (m/z)	Aducto	Error (ppm)	Peso molecular	Anotacion putativa	Formula molecular
Met4	437,132	M+NH ₄	1	419,0978	Cianidina 3-arabinósido	C ₂₀ H ₁₉ O ₁₀
Met285	750,1954	M+Na	3	727,2086	Cianidina 3-xilosil-rutinósido	C ₃₂ H ₃₉ O ₁₉
Met384	658,1869	M+H	3	657,1774	Clorofilida Cu	C ₃₄ H ₃₄ CuN ₄ O ₆
Met545	510,1165	M+2H	2	1018,2168	Dímero de epicatequina galato	
Met340	678,3248	M+2H	4	1354,6405	Diosgenina 3-[glucosil-(1->4)-[glucopiranosil-(1->6)]-glucopiranosil-(1->4)-ramnosil-(1->4)-[ramnosil-(1->2)]-glucósido]	C ₆₃ H ₁₀₂ O ₃₁
Met608	600,2052	M+NH ₄	4	582,1737	Epicatequina 3-O-(2-trans-cinamoil-beta-D-alopiranosido)	C ₃₀ H ₃₀ O ₁₂
Met1169	755,2257	M+H	10	754,2109	Espinosina 6'''-(E)-p-cumarato	C ₃₇ H ₃₈ O ₁₇
Met450	769,2423	M+H-H ₂ O	9	786,2384	Heptacarboxilporfirina III	C ₃₉ H ₃₈ N ₄ O ₁₄
Met59	769,2423	M+H-H ₂ O	9	786,2384	Heptacarboxilporfirina III	C ₃₉ H ₃₈ N ₄ O ₁₄
Met136	769,2426	M+H-H ₂ O	9	786,2384	Heptacarboxilporfirina III	C ₃₉ H ₃₈ N ₄ O ₁₄
Met226	347,0632	M+K	3	308,1008	Indicaxantina	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₆
Met157	496,1007	M+H	3	495,092	Isopenteniladenosina-5'-difosfato	C ₁₅ H ₂₃ N ₅ O ₁₀ P ₂
Met171	723,1994	M+H-H ₂ O	10	740,1953	Kaempferol 3-(4''-(Z)-p-cumarylrobinobiosido)	C ₃₆ H ₃₆ O ₁₇
Met349	558,1371	M+Na	5	535,1452	Malvidina 3-(6''-acetilglucósido)	C ₂₅ H ₂₇ O ₁₃
Met182	720,1898	M+Na	4	697,198	Malvidina 3-(6''-acetilglucósido)-5-glucósido	C ₃₁ H ₃₇ O ₁₈
Met34	544,1205	M+H-H ₂ O	1	561,1244	Malvidina 3-glucósido-piruvato	C ₂₆ H ₂₅ O ₁₄
Met281	443,2001	M+NH ₄	10	425,1621	Met Glu Phe	C ₁₉ H ₂₇ N ₃ O ₆ S
Met470	338,079	M+K	0	299,1158	N-cis-cafeoil tiramina	C ₁₇ H ₁₇ N ₄ O
Met419	753,211	M+K	2	714,2492	Niazimicina A	C ₃₂ H ₄₆ N ₂ O ₁₂ S ₂
Met278	542,106	M+Na	6	519,1139	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)	C ₂₄ H ₂₃ O ₁₃
Met308	706,1743	M+H-H ₂ O	0	723,1773	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)-5-(6'''-acetilglucósido)	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₉

Metabolito	Masa experimental (m/z)	Aducto	Error (ppm)	Peso molecular	Anotacion putativa	Formula molecular
Met605	706,1743	M+H-H ₂ O	0	723,1773	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)-5-(6'''-acetilglucósido)	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₉
Met717	706,1743	M+H-H ₂ O	0	723,1773	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)-5-(6'''-acetilglucósido)	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₉
Met383	706,1744	M+H-H ₂ O	0	723,1773	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)-5-(6'''-acetilglucósido)	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₉
Met421	706,1744	M+H-H ₂ O	0	723,1773	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)-5-(6'''-acetilglucósido)	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₉
Met168	706,1746	M+H-H ₂ O	1	723,1773	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)-5-(6'''-acetilglucósido)	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₉
Met274	706,1743	M+H-H ₂ O	0	723,1773	Pelargonidina 3-(6''-malonilglucósido)-5-(6'''-acetilglucósido)	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₉
Met144	324,0633	M+Na	10	301,0712	Peonidina	C ₁₆ H ₁₃ O ₆
Met571	324,0633	M+Na	10	301,0712	Peonidina	C ₁₆ H ₁₃ O ₆
Met252	528,1268	M+Na	6	505,1346	Peonidina 3-(6''-acetilgalactósido)	C ₂₄ H ₂₅ O ₁₂
Met199	528,1267	M+Na	6	505,1346	Peonidina 3-(6''-acetilglucósido)	C ₂₄ H ₂₅ O ₁₂
Met710	734,1696	M+Na	4	711,1773	Peonidina 3-(6'-malonilglucósido)-5-glucósido	C ₃₁ H ₃₅ O ₁₉
Met1103	340,0581	M+Na	9	317,0661	Petunidina	C ₁₆ H ₁₃ O ₇
Met881	340,0581	M+Na	9	317,0661	Petunidina	C ₁₆ H ₁₃ O ₇
Met243	340,0582	M+Na	9	317,0661	Petunidina	C ₁₆ H ₁₃ O ₇
Met681	340,0582	M+Na	9	317,0661	Petunidina	C ₁₆ H ₁₃ O ₇
Met230	706,1737	M+Na	3	683,1823	Petunidina 3-glucósido-5-(6''-acetilglucósido)	C ₃₀ H ₃₅ O ₁₈
Met54	706,1739	M+Na	3	683,1823	Petunidina 3-glucósido-5-(6''-acetilglucósido)	C ₃₀ H ₃₅ O ₁₈
Met817	706,1739	M+Na	3	683,1823	Petunidina 3-glucósido-5-(6''-acetilglucósido)	C ₃₀ H ₃₅ O ₁₈
Met779	748,1846	M+NH ₄	4	730,1534	Procianidina B2 3-galato	C ₃₇ H ₃₀ O ₁₆
Met1138	748,1852	M+NH ₄	3	730,1534	Procianidina B2 3-galato	C ₃₇ H ₃₀ O ₁₆

Metabolito	Masa experimental (m/z)	Aducto	Error (ppm)	Peso molecular	Anotacion putativa	Formula molecular
Met40	748,186	M+NH4	3	730,1534	Procianidina B2 3-galato	C37H30O16
Met118	748,1866	M+NH4	3	730,1534	Procianidina B2 3-galato	C37H30O16
Met641	468,1237	M+2H	5	934,2379	Quercetina 3-(6"-cafeoilsoforósido)-7-ramnósido	C42H46O24
Met573	278,1267	M+H	7	277,1175	Queuine	
Met953	571,1911	M+H	9	570,189	Sanggenona B	C33H30O9
Met399	114,0469				Sin coincidencia	
Met1424	135,0684				Sin coincidencia	
Met45	145,0527				Sin coincidencia	
Met836	322,0476				Sin coincidencia	
Met1143	365,8316				Sin coincidencia	
Met557	388,8366				Sin coincidencia	
Met1090	404,074				Sin coincidencia	
Met725	421,7893				Sin coincidencia	
Met1110	422,0823				Sin coincidencia	
Met1050	423,8223				Sin coincidencia	
Met505	440,7597				Sin coincidencia	
Met1399	472,2055				Sin coincidencia	
Met845	495,7892				Sin coincidencia	
Met934	495,9006				Sin coincidencia	
Met330	497,9001				Sin coincidencia	
Met1292	500,1316				Sin coincidencia	
Met1098	514,1108				Sin coincidencia	
Met1032	514,1111				Sin coincidencia	
Met1186	514,1113				Sin coincidencia	
Met979	514,7595				Sin coincidencia	
Met862	528,1269				Sin coincidencia	
Met834	535,77				Sin coincidencia	
Met1139	554,7399				Sin coincidencia	
Met1416	559,2054				Sin coincidencia	
Met1323	609,8804				Sin coincidencia	
Met1079	611,8801				Sin coincidencia	
Met1187	639,8755				Sin coincidencia	
Met1386	641,874				Sin coincidencia	
Met842	664,3087				Sin coincidencia	
Met679	668,7205				Sin coincidencia	
Met1283	698,2937				Sin coincidencia	
Met851	706,1736				Sin coincidencia	

Metabolito	Masa experimental (m/z)	Aducto	Error (ppm)	Peso molecular	Anotacion putativa	Formula molecular
Met796	706,1741				Sin coincidencia	
Met1379	716,1222				Sin coincidencia	
Met1215	720,19				Sin coincidencia	
Met1447	723,2003				Sin coincidencia	
Met651	723,2005				Sin coincidencia	
Met1397	723,2008				Sin coincidencia	
Met305	725,8598				Sin coincidencia	
Met970	734,17				Sin coincidencia	
Met912	736,1847				Sin coincidencia	
Met1387	737,2161				Sin coincidencia	
Met1335	737,2165				Sin coincidencia	
Met905	739,7266				Sin coincidencia	
Met910	742,7208				Sin coincidencia	
Met1091	751,1956				Sin coincidencia	
Met1082	751,8562				Sin coincidencia	
Met160	753,208				Sin coincidencia	
Met907	753,2105				Sin coincidencia	
Met748	753,8549				Sin coincidencia	
Met546	755,8527				Sin coincidencia	
Met767	758,697				Sin coincidencia	
Met873	765,2103				Sin coincidencia	
Met1130	769,2423				Sin coincidencia	
Met821	781,2059				Sin coincidencia	
Met850	803,4427				Sin coincidencia	
Met531	840,2211				Sin coincidencia	
Met1053	842,3694				Sin coincidencia	
Met616	856,7031				Sin coincidencia	
Met532	867,8354				Sin coincidencia	
Met749	881,8132				Sin coincidencia	
Met432	885,8087				Sin coincidencia	
Met558	1032,675				Sin coincidencia	
Met525	1060,708				Sin coincidencia	
Met296	1072,2325				Sin coincidencia	
Met127	1072,2346				Sin coincidencia	
Met1021	1076,7023				Sin coincidencia	
Met716	1090,7162				Sin coincidencia	
Met404	1104,7333				Sin coincidencia	
Met1033	1120,7271				Sin coincidencia	
Met1172	1148,7597				Sin coincidencia	

Metabolito	Masa experimental (m/z)	Aducto	Error (ppm)	Peso molecular	Anotacion putativa	Formula molecular
Met600	1324,8664				Sin coincidencia	
Met7	453,1632	M+H-H ₂ O	8	460,207	Trp Gln Gln	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₆