



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**CARRERA DE MICROBIOLOGÍA**

**Título de disertación: Aplicación de bacteriófagos como una posible alternativa de biocontroladores contra *Ralstonia solanacearum*, en cultivos de banano en la provincia de Los Ríos, Ecuador.**

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciado/a en Microbiología**

**MELANY JULIANA RENGIFO LEMA**

Quito, 2024

## CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Microbiología de la señorita Melany Juliana Rengifo Lema ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'S. Estrella V.', with a horizontal line underneath.

**Mgtr. Sonia Margarita Estrella Vásquez**  
Directora de la Disertación

Quito, 2024

## **DEDICATORIA**

A mis padres Wilson y Clarita por su amor infinito, paciencia, apoyo y guía durante todos los procesos de mi vida. Los llevo conmigo siempre en mi corazón.

A mi hermana y amiga María José por brindarme su compañía y por estar al pendiente de mí. Eres un ejemplo a seguir.

A mi mascota Odie, quien siempre me ha brindado su amor incondicional. Su alegría diaria fueron una constante de felicidad y consuelo

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, a mi hermana y a mi mascota, que sin duda sin ellos nada de esto sería posible debido a que estuvieron pendientes de mi a lo largo de todo mi periodo universitario.

Agradezco a Biosiembra Nature´s Lab que me han otorgado el financiamiento para el presente trabajo

A la sala de preparaciones de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por ayudarme con las instalaciones y materiales para realizar el estudio.

A mis tutoras Margarita Estrella y Teresa Guerrero, por su paciencia y guía durante todo el proceso de estudio.

## LISTADO DE ABREVIATURAS

PIB: Precio interno bruto

mL: Mililitros

$\mu$ L: Microlitros

g: Gramos

%: Porcentaje

$^{\circ}$ C: Grados centígrados

h: Horas

DO: Densidad óptica

CN: Caldo nutritivo

Rpm: Revoluciones por minuto

Nm: Nanómetros

## TABLA DE CONTENIDO

|   |     |
|---|-----|
| CERTIFICACIÓN .....   | III |
| DEDICATORIA .....   | IV  |
| AGRADECIMIENTOS .....   | V   |
| LISTADO DE ABREVIATURAS.....                                    | VI  |
| LISTA DE FIGURAS, LISTA DE TABLAS Y LISTA DE ANEXO .....        | 8   |
| 1. RESUMEN.....   | 1   |
| 2. ABSTRAC.....   | 2   |
| 3. INTRODUCCIÓN.....  | 2   |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....                                    | 5   |
| 4.1 Preparación de medios de cultivo.....                       | 5   |
| 4.2 Material biológico.....                                     | 5   |
| 4.1 Bacterias.....  | 5   |
| 4.2 Fagos.....  | 5   |
| 4.3 Curvas de crecimiento.....                                  | 5   |
| 4.4 Infección de <i>R.solanacearum</i> con fagos filtrados..... | 6   |
| 4.5 Cálculos de porcentaje.....                                 | 6   |
| 5. RESULTADOS.....  | 6   |
| 5.1 Curvas de crecimiento.....                                  | 6   |
| 5.2 Infección con fago.....                                     | 9   |
| 6. DISCUSIÓN.....   | 14  |
| 7. CONCLUSIONES.....  | 16  |
| 8. AGRADECIMIENTOS.....   | 16  |
| 9. BIBLIOGRAFÍA.....  | 16  |
| 10.- ANEXOS SUPLEMENTARIOS.....                                 | 21  |

## LISTA DE FIGURAS, LISTA DE TABLAS Y LISTA DE ANEXO

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Promedio de crecimiento de la cepa: 077-080_1 (H25) aislada del pseudotallo de <i>R. solanacearum</i> a lo largo de 26 h.....                      | 7  |
| Figura 1. Curva de crecimiento de la cepa 077-080_1 (H25) de <i>R. solanacearum</i> aislada del pseudotallo, a lo largo de 26h, con sus 3 repeticiones..... | 7  |
| Tabla 2. Promedio de crecimiento de la cepa: 081-084_1.1 aislada del pseudotallo de <i>R. solanacearum</i> a lo largo de 26 h.....                          | 8  |
| Figura 2. Curva de crecimiento de la cepa 081-084_1.1, de <i>R. solanacearum</i> aislada del pseudotallo, a lo largo de 26 h, con sus 3 repeticiones.....   | 8  |
| Tabla 3. Promedio de crecimiento de la cepa: 068_2 aislada del pseudotallo de <i>R. solanacearum</i> a lo largo de 26 h.....                                | 9  |
| Figura 3. Curva de crecimiento de la Cepa 068_2, de <i>R. solanacearum</i> aislada del pseudotallo, a lo largo de 26h, con sus 3 repeticiones.....          | 9  |
| Tabla 4. Comparación de densidades ópticas de la cepa 077-080_1 (H25) de <i>R. solanacearum</i> infectadas con fagos a lo largo de 24h.....                 | 10 |
| Tabla 5. Valores de promedio de la cepa 077-080_1 (H25) de <i>R. solanacearum</i> .....   | 10 |
| Tabla 6. Valores de porcentaje de disminución de los tratamientos con fagos de la cepa 077-080_1 (H25) de <i>R. solanacearum</i> .....                      | 11 |
| Tabla 7. Comparación de densidades ópticas de la cepa 081-084_1.1 de <i>R. solanacearum</i> infectadas con fagos a lo largo de 24h.....                     | 11 |
| Tabla 8. Valores de promedio de la cepa 081-084_1.1 de <i>R. solanacearum</i> .....   | 12 |
| Tabla 9. Valores de porcentaje de disminución de los tratamientos con fagos de la cepa 081-084_1.1 de <i>R. solanacearum</i> .....                          | 12 |
| Tabla 10. Comparación de densidades ópticas de la cepa 068_2 de <i>R. solanacearum</i> infectadas con fagos a lo largo de 24h.....                          | 13 |
| Tabla 11. Valores de promedio de la cepa 068_2 de <i>R. solanacearum</i> .....  | 13 |
| Tabla 12. Valores de porcentaje de disminución de los tratamientos con fagos de la cepa 068_2 de <i>R. solanacearum</i> .....                               | 14 |
| ANEXO 1. Valores de densidades ópticas de la cepa 077-080_1 (H25) de <i>R. solanacearum</i> a lo largo de 26h.....  | 21 |

ANEXO 2. Valores de densidades ópticas de la cepa 081-084\_1.1 de *R. solanacearum*, a lo largo de 27h.....22

ANEXO 3. Valores de densidades ópticas de la cepa 081-084\_1.1 de *R. solanacearum*, a lo largo de 27h.....22

A partir de esta hoja el formato de presentación será en artículo:

<https://lagranja.ups.edu.ec/pdf/granja/normas.pdf>

Sección (Marcar)

Artículo científico \_X\_

Revisión Bibliográfica

Punto de vista

Special Issue” Sustentabilidad Organizacional, Desarrollo y Gestión Ambiental”

**Aplicación de bacteriófagos como una posible alternativa de biocontroladores contra *Ralstonia solanacearum*, en cultivos de banano en la provincia de Los Ríos, Ecuador.**

***Application of bacteriophages as a potential biocontrol alternative against Ralstonia solanacearum in banana crops in Los Ríos, Ecuador.***

Melany Juliana Rengifo Lema <sup>\*1</sup>, Sonia Margarita Estrella Vásquez <sup>1</sup>, Esthela Teresa Guerrero Villegas <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Carrera de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), Quito, Ecuador.

<sup>2</sup> Biosiembra Nature´s Lab, Quito, Ecuador.

**RESUMEN**

El banano es una fruta que tiene importancia a nivel mundial debido a sus valores nutricionales y para el Ecuador generando recursos económicos, donde a su vez proveen empleo a millones de familias ecuatorianas. El moko del banano es una enfermedad causada *por Ralstonia solanacearum*, dónde se observa un amarillamiento en la hoja que posteriormente provocará la muerte de la planta. Esto conllevará a pérdidas económicas debido a que ya no se podrá exportar este producto y tratar esta enfermedad generará elevados costos. El Ecuador ha empleado como estrategias el uso de sustancias químicas que eliminarán la microbiota normal del suelo debido a que estas son de amplio espectro y para controlarla se aplica una cuarentena de seis meses. Por ello, el presente trabajo analiza la capacidad de bacteriófagos como controladores biológicos *in vitro* de *Ralstonia solanacearum* estas serán aisladas del pseudotallo de plantas de banano de la provincia de Los Ríos, Ecuador. Al conocer las fases

30 de crecimiento de esta bacteria, se realizó la infección con los bacteriófagos en las cuatro fases  
31 de la curva de crecimiento de la bacteria y mediante los cálculos de promedio y porcentaje se  
32 conoció su efectividad. El uso de bacteriófagos es una alternativa ecosostenible debido a que  
33 no resulta ser tóxico para el ser humano y para los microorganismos que se encuentran en el  
34 suelo.

### 35 **ABSTRACT**

36 The banana is a fruit of global importance due to its nutritional values and its economic benefits  
37 for Ecuador, providing employment to millions of Ecuadorian families. Banana wilt is a disease  
38 caused by *Ralstonia solanacearum*, which manifests as yellowing of the leaf and eventually  
39 leads to the plant's death. This results in economic losses as the product can no longer be  
40 exported, and treating the disease incurs high costs. Ecuador has employed strategies such as  
41 using chemical substances that eliminate the soil's normal microbiota due to their broad  
42 spectrum, and a six-month quarantine is applied to control it. Therefore, this study analyzes the  
43 capacity of bacteriophages as in vitro biological controllers of *Ralstonia solanacearum*, isolated  
44 from the pseudostem of banana plants in the Los Ríos province of Ecuador. By understanding  
45 the growth phases of this bacterium, an infection with the bacteriophages was carried out in the  
46 four phases of the bacterial growth curve, and their effectiveness was determined through  
47 average and percentage calculations. The use of bacteriophages is an eco-sustainable  
48 alternative as it is non-toxic to humans and the microorganisms present in the soil.

### 49 **Palabras clave**

50 Biocontroladores, Bacteriófagos, *Ralstonia solanacearum*, Banano, Enfermedad del Moko.

### 51 **Keywords**

52 Biocontrol agents, Bacteriophages, *Ralstonia solanacearum*, Banana, Moko disease.

### 53 **1. Introducción**

54 El banano es un fruto tropical que tiene interés a nivel mundial por sus propiedades  
55 nutricionales, como: Vitaminas (A, C y B6), ácido fólico, hidratos de carbono y zinc. Además, es  
56 considerado como una de las mejores fuentes de potasio (Jiménez et al., 2020). Es un alimento  
57 básico, posicionado como el cuarto alimento más importante en el mundo, contribuye a la  
58 seguridad alimentaria. Por otro lado, para los países exportadores aporta con importantes  
59 ingresos a los productores de banano y genera fuentes de empleo. A nivel mundial el banano

60 se ubica en los principales productos agrícolas, los mayores importadores son China y la Unión  
61 Europea, siendo los mayores exportadores Ecuador y Filipinas (León Ajila et al., 2023). Los  
62 valores nutricionales y la accesibilidad de producción del banano en todo el año hacen que  
63 aumente las importaciones mundiales a más de 13 300 millones de dólares (según estadísticas  
64 de comercio exterior de 93 países). Direccionado el 55% a Rusia, Estados Unidos, Unión  
65 Europea, Holanda, Turquía y Argentina (FAO, 2022).

66 En el Ecuador el banano es el segundo recurso que genera más ingresos a la nación (El  
67 impacto del comercio del banano en el desarrollo del Ecuador, 2017). En el país representa el  
68 2% del PIB (Precio interno bruto) general y el 35% del PIB agrícola. Hasta el mes de marzo del  
69 2023 se reportó 367 millones de dólares en exportación de banano. El número de hectáreas  
70 sembradas es 162 236. (Ministerio de Comercio Exterior, 2023).

71 Los cultivos se ven afectados por varias enfermedades que atacan al banano y plátano.  
72 Plantas musáceas que son atacadas principalmente por hongos, seguido de bacterias o virus.  
73 Entre estas encontramos a la mancha foliar eumusae, Mal de Panamá, Moko del banano,  
74 marchitez bacteriana, virus del bunchy top, virus del estriado del plátano, virus del mosaico del  
75 plátano, entre otras. El Moko del banano es causada por la bacteria patógena del género  
76 *Ralstonia*, que pertenece al Dominio Bacteria, Phylum Proteobacteria, Clase  
77 Betaproteobacteria, Orden Burkholderiales, Familia Burkholderiaceae, Género: *Ralstonia*,  
78 Especie *Ralstonia solanacearum* raza 2. Esta bacteria es un bacilo Gram negativo de tamaño  
79 0.5-0.7  $\mu\text{m}$  x 1.5-2.5  $\mu\text{m}$ , móvil con 1 o 4 flagelos polares, la motilidad varía de acuerdo con la  
80 presencia de flagelos, el tipo de la colonia y la edad del cultivo. Sus hospedantes principales  
81 son: banano, papa, tomate y plantas ornamentales, cuenta con un amplio rango de  
82 hospedadores, que llegan a ser más de 200 especies entre cultivos y en más de 50 familias  
83 botánicas diferentes, presentes en África, América y Asia; en total 35 países han reportado su  
84 presencia. (SENASICA, Agricultura, 2013).

85 La bacteria ataca el sistema vascular de la planta provocando un amarillamiento de la hoja  
86 que se irá debilitando y posteriormente provocando la muerte (AGROCALIDAD, 2020). Su  
87 amplia distribución ha representado un peligro fitosanitario para el Ecuador (Sanchez, 2021).  
88 La enfermedad producida por *R. solanacearum* actualmente está causando pérdidas

89 económicas en los cultivos de banano (Dirección de Estudios Económicos y Comerciales,  
90 2023); por su restricción en la comercialización y su amplia y rápida propagación en varias  
91 provincias de la nación.

92 En el Ecuador, el género *Ralstonia* es catalogado como la segunda bacteria más fitopatógena  
93 y enemiga silenciosa del banano. Se cree que ha sido propagada en provincias, como:  
94 Esmeraldas, Manabí, Sucumbíos, Los Ríos, El Oro y Santo Domingo de los Tsáchilas que son  
95 provincias donde mayormente se cultivan plantas musáceas (Manrique, 2023). Es por lo que  
96 la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario o mejor conocida como  
97 AGROCALIDAD la ha declarado un peligro, debido a que esta entidad prioriza la seguridad y  
98 soberanía alimentaria, la generación de empleos (dónde se benefician 1 millón de familias) y  
99 la cantidad de superficies dedicadas, en este caso, al cultivo de banano, que son  
100 representativas en el Ecuador (Muentes, 2022). *R. solanacearum* ha causado hasta el 100%  
101 de pérdidas económicas para los agricultores y, con la grave consecuencia de impedir que se  
102 siga cultivando banano en las zonas afectadas hasta por varios años (Aguirre, 2023). Para  
103 recuperar estos territorios se necesita de algunos años e involucra un alto costo (Barrios et al.,  
104 2011). Además, su fácil adaptabilidad y diseminación, conlleva a un riguroso control de áreas  
105 afectadas y posterior cuarentena por 6 meses, de acuerdo con la Normativa (AGR-  
106 AGROCALIDAD/CSV-2022-000195-M) propuesta por el ente regulador AGROCALIDAD  
107 (Saquicela et al., 2023). En el país las acciones de control se basan en zonificar el lugar afectado  
108 y tratarse con químicos, específicamente pesticidas (Cacarín, 2022), que resultarán tóxicos  
109 para los seres humanos y eliminarán la microbiota normal del suelo debido a su amplio  
110 espectro de acción (Hernández et al., 2019). Además, *R. solanacearum* tiene la capacidad de  
111 desarrollar resistencia a los productos químicos utilizados para su control (Cortéz, 2019).

112 En la actualidad, en México y España han empleado bacteriófagos como potenciales  
113 inhibidores de bacterias del género *Ralstonia*. En México, los bacteriófagos fueron adicionados  
114 a cultivos líquidos de *R. solanacearum* en fase exponencial. Se observó que inhibieron el  
115 crecimiento microbiano y se revocó completamente su capacidad infectiva, demostrando su  
116 eficaz efecto lítico al estar incluso un fago por cada millón de bacterias presentes en el medio  
117 (Hernández et al., 2019). El uso de bacteriófagos en el suelo representa toxicidad que resultará  
118 idóneo para una agricultura ecosostenible y segura (Belén Alvarez y Biosca, 2023).

119 En el Ecuador, no se ha encontrado reportes de bacteriófagos contra *R. solanacearum*. Los  
120 métodos de control de la enfermedad del Moko del banano, se basan en delimitar el área  
121 donde se encuentran las plantaciones infectadas con *R. solanacearum* e inyectar en el  
122 pseudotallo glifosato al 20% y herbicidas para las malezas, sustancias químicas que podrían  
123 afectar a la salud del consumidor y disminuir considerablemente la microbiota benéfica del  
124 suelo (Núñez, 2015; Remache, 2018).

125 En este contexto, este trabajo investigativo propone el uso de bacteriófagos como potenciales  
126 inhibidores del crecimiento de *R. solanacearum* aisladas del pseudotallo de plantas de banano  
127 para determinar la fase ideal de infección después de realizar curvas de crecimiento.

## 128 **2. Materiales y Métodos**

### 129 **2.1 Preparación de medios de cultivo**

- 130 ▪ **Caldo nutritivo:** 13,0 g de caldo nutritivo con 1 000 mL de agua.

### 131 **2.2 Material biológico**

132 Todas las cepas bacterianas y los fagos que formaron parte de este estudio fueron  
133 proporcionadas por Biosiembra Nature's Lab.

#### 134 **2.1 Bacterias (*Ralstonia solanacearum*)**

- 135 ▪ Cepa: 077-080\_1 (H25)
- 136 ▪ Cepa: 081-084\_1.1
- 137 ▪ Cepa: 068\_2

#### 138 **2.2 Fagos**

139 Mezcla de fagos para *R. solanacearum* aislados de suelos de varias  
140 plantaciones bananeras de la zona Costera del Ecuador.

#### 141 **2.3 Curvas de crecimiento**

142 El procedimiento que se siguió para la realización de las curvas de crecimiento es el propuesto  
143 por Yang et al. (2017):

144 A partir de un cultivo de *R. solanacearum* en NASYE, se inoculó 5 mL de Caldo Nutritivo (CN)  
145 y se incubó durante la noche a 30 °C, hasta que se obtuvo una densidad óptica igual a 1.0  
146 ( $DO_{600\text{ nm}} = 1.0$ ). Luego se inocularon 25 mL de CN con 125  $\mu\text{L}$  del cultivo del literal anterior y  
147 se incubó con agitación a 120 rpm por 24 h a 30 °C. La densidad bacteriana se determinó  
148 midiendo la Densidad óptica (DO) cada hora.

149 Se realizaron dos curvas adicionales en las mismas condiciones con una diferencia de 8 h de  
150 la primera curva, para obtener los datos que no lograron ser leídos durante la noche.

#### 151 **2.4 Infección de *Ralstonia solanacearum* con filtrados de fagos**

152 A partir de un cultivo de *R. solanacearum* en NASYE, se inocularon 5 mL de CN y se incubaron  
153 durante la noche a 30 °C, hasta obtener una densidad óptica igual a 1.0 ( $DO_{600\text{ nm}} = 1.0$ ). Luego  
154 se inocularon 25 mL de CN con 125  $\mu\text{L}$  del cultivo del literal anterior y se incubaron con  
155 agitación a 120 rpm por 24 h a 30 °C. La densidad bacteriana se determinó midiendo la DO  
156 cada hora. Por otro lado, la mezcla de fagos se centrifugó 2 veces por 20 minutos a 4000 rpm o  
157 1788.8 g. Luego se filtró utilizando filtros de jeringuilla de 0.22  $\mu\text{m}$ . Se colocó en un tubo estéril:  
158 500  $\mu\text{L}$  de fagos, 10 mL de CN y 1 mL del cultivo bacteriano, para cada una de las 4 fases de la  
159 curva de crecimiento realizadas. Una vez que transcurrió el tiempo de incubación de 24 h a 30  
160 °C, se midió la densidad óptica por cada fase (Benson, 1980).

#### 161 **2.5 Cálculos de porcentaje**

162 Al realizar curvas de crecimiento para observar el efecto de bacteriófagos sobre *R.*  
163 *solanacearum*, se calcularon el promedio y el porcentaje de reducción permitiendo una  
164 evaluación cuantitativa de la efectividad de los fagos. El promedio de las repeticiones con  
165 fagos redujo el impacto de variaciones experimentales y proporcionó una estimación más  
166 precisa del efecto, mientras que el porcentaje de reducción cuantifica el impacto de los fagos  
167 en la densidad óptica de *R. solanacearum*. Estos cálculos proporcionaron una visión clara de  
168 la magnitud del efecto, facilitaron la comparación entre tratamientos y optimizaron estrategias  
169 de control.

### 170 **3. Resultados**

#### 171 **3.1 Curvas de crecimiento**

- 172 ▪ Cepa: 077-080\_1 (H25)

173 Aislada del pseudotallo de una planta de banano obtenida de la provincia de los Ríos, Ecuador.  
174 Para conocer el promedio de crecimiento de la bacteria *R. solanacearum*, cepa 077-080\_1  
175 (H25) en las 3 repeticiones realizadas, se utilizó el programa Python, de los valores de  
176 densidades ópticas (ANEXO 1).

177 Al hacer el análisis general, esta bacteria presentó la fase de latencia desde la hora 0 hasta la  
178 3, la fase exponencial se manifiesta desde la hora 3 hasta la hora 10, la fase estacionaria se

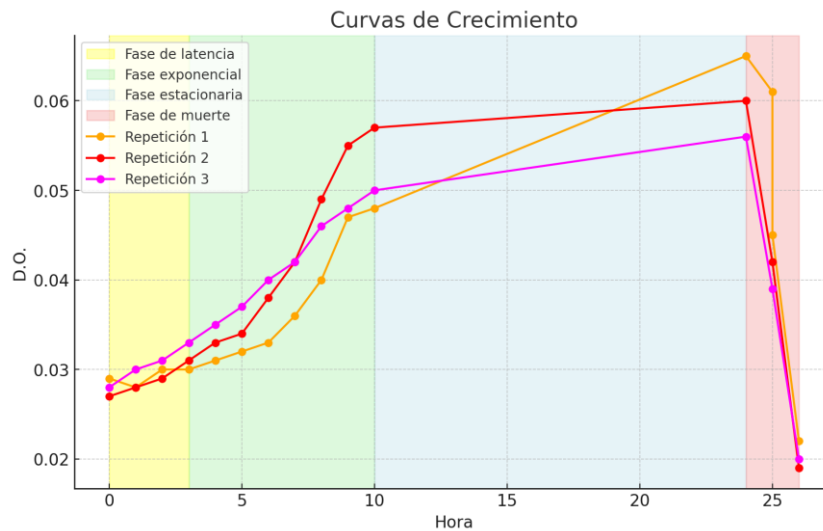
179 exhibe entre la hora 10 hasta la hora 24, la fase de muerte comienza desde la hora 24 en  
 180 adelante y específicamente entre las horas 25 y 26 (Tabla 1 y Figura 1).

181

182 **Tabla 1.** Promedio de crecimiento de la cepa: 077-080\_1 (H25) aislada del pseudotallo  
 183 de *R. solanacearum* a lo largo de 26h.

| Fase         | Curva<br>Repetición 1 | Curva<br>Repetición 2 | Curva<br>Repetición 3 |
|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|              | Hora                  | Hora                  | Hora                  |
| Latencia     | 0 – 3                 | 0 – 3                 | 0 – 3                 |
| Exponencial  | 3 – 10                | 3 – 9                 | 3 – 10                |
| Estacionaria | 10 – 24               | 9 – 24                | 10 – 24               |
| Muerte       | 25 -26                | 25 -26                | 25 -26                |

184



185

186 **Figura 1.** Curva de crecimiento de la cepa 077-080\_1 (H25) de *R. solanacearum* aislada del  
 187 pseudotallo, a lo largo de 26h, con sus 3 repeticiones. El color amarillo indica fase de latencia,  
 188 verde indica fase exponencial, azul indica fase estacionaria y rojo indica fase de muerte.

189

190 **▪ Cepa 081-084\_1.1**

191 Aislada del pseudotallo de una planta de banano obtenida de la provincia de los Ríos, Ecuador.  
 192 Al hacer el análisis general, esta bacteria presentó la fase de latencia desde la hora 0 hasta la  
 193 2, la fase exponencial se manifiesta desde la hora 2 hasta la hora 8, la fase estacionaria se  
 194 exhibe entre la hora 8 hasta la hora 24, la fase de muerte comienza desde la hora 24 en  
 195 adelante (Tabla 2).

196

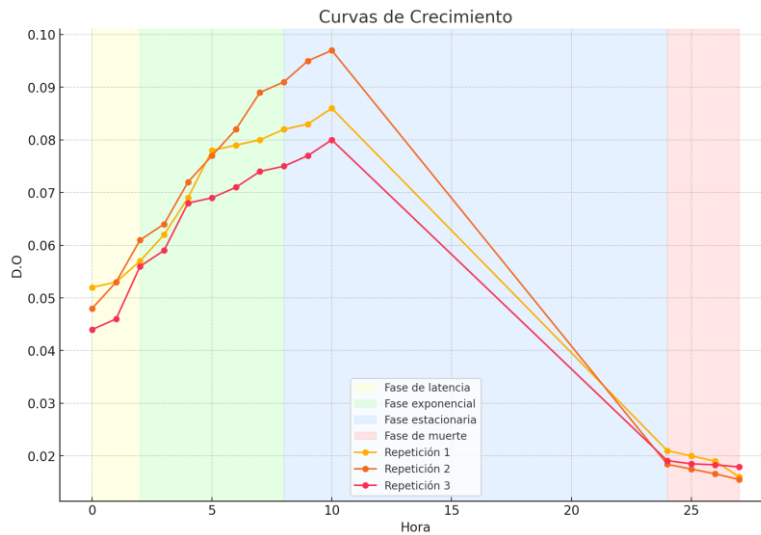
197 **Tabla 2.** Promedio de crecimiento de la cepa 081-084\_1.1 de *R. solanacearum* aislada del  
 198 pseudotallo, a lo largo de 26h.

| Fase         | Curva Repetición 1 | Curva Repetición 2 | Curva Repetición 3 |
|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|              | Hora               | Hora               | Hora               |
| Latencia     | 0 –2               | 0 –2               | 0 – 2              |
| Exponencial  | 2 –8               | 2 –8               | 2 – 8              |
| Estacionaria | 8 –24              | 8 –24              | 8 – 24             |
| Muerte       | 25                 | 25                 | 25                 |

199

200 Al realizar el análisis general esta bacteria presentó las 4 fases de crecimiento en los mismos  
 201 tiempos, con respecto a sus tres repeticiones.

202 Para conocer el promedio del crecimiento de la bacteria *R. solanacearum*, cepa 081-084\_1.1,  
 203 en las 3 repeticiones realizadas se utilizó el programa Python con los datos de densidades  
 204 ópticas (ANEXO 2). La Figura 2. muestra de una manera más clara las fases de crecimiento de  
 205 la bacteria 081-084\_1.1.



206

207 **Figura 2.** Curva de crecimiento de la cepa 081-084\_1.1, de *R. solanacearum* aislada del  
 208 pseudotallo, a lo largo de 26 h, con sus 3 repeticiones. Color amarillo indica fase de latencia,  
 209 verde indica fase exponencial, azul indica fase estacionaria y rojo indica fase de muerte.

210

- Cepa 068\_2

211

Aislada del pseudotallo de una planta de banano obtenida de la provincia de los Ríos,

212

Ecuador.

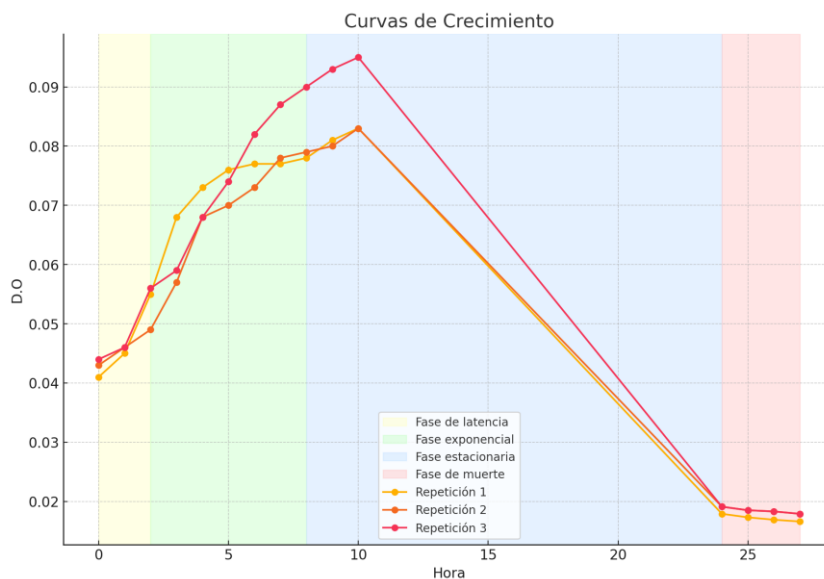
213 Al hacer el análisis general, esta bacteria presentó la fase de latencia desde la hora 0 hasta la  
 214 2, la fase exponencial se manifiesta desde la hora 2 hasta la hora 8, la fase estacionaria se  
 215 exhibe entre la hora 8 hasta la hora 24, la fase de muerte comienza desde la hora 24 en  
 216 adelante, usando valores de densidades ópticas (ANEXO 3). Se utilizó el programa Python,  
 217 para mostrar de una manera más clara las fases de crecimiento de la bacteria 068\_2 (Tabla 3.  
 218 Figura 3).

219 **Tabla 3.** Promedio de crecimiento de la cepa 068\_2 de *R. solanacearum* aislada del  
 220 pseudotallo a lo largo de 26h.

| Fase         | Curva<br>Repetición 1 | Curva<br>Repetición 2 | Curva<br>Repetición 3 |
|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|              | Hora                  | Hora                  | Hora                  |
| Latencia     | 0 – 2                 | 0 – 2                 | 0 – 2                 |
| Exponencial  | 2 – 8                 | 2 – 8                 | 2 – 8                 |
| Estacionaria | 8 – 10                | 8 – 10                | 8 – 10                |
| Muerte       | 25                    | 25                    | 25                    |

221

222 Al realizar el análisis general esta bacteria presenta sus 4 fases de crecimiento en los mismos  
 223 tiempos, con respecto sus tres repeticiones.



224

225 **Figura 3.** Curva de crecimiento de la Cepa 068\_2, de *R. solanacearum* aislada del pseudotallo,  
 226 a lo largo de 26h, con sus 3 repeticiones. Color amarillo indica fase de latencia, verde indica  
 227 fase exponencial, azul indica fase estacionaria y rojo indica fase de muerte.

228

229 **3.2 Infección de fagos**

230 1. Cepa: 077-080\_1 (H25)

231 Una vez conocidas las fases de crecimiento de la bacteria, se procede a infectarlas con fagos.

232 **Tabla 4.** Comparación de densidades ópticas de la cepa 077-080\_1 (H25) de *R. solanacearum*  
 233 infectadas con fagos a lo largo de 24h.

234

| Hora | Fase de crecimiento | Densidad Óptica   | Repetición 1 Fagos | Repetición 2 Fagos | Repetición 3 Fagos | Placa sin Fagos (Solo Cultivo) |
|------|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|
| 3    | Latencia            | DO <sub>600</sub> | 0,032              | 0,029              | 0,030              | 0,031                          |
| 10   | Exponencial         | DO <sub>600</sub> | 0,041              | 0,046              | 0,049              | 0,059                          |
| 24   | Estacionaria        | DO <sub>600</sub> | 0,049              | 0,055              | 0,053              | 0,067                          |
| 26   | Muerte              | DO <sub>600</sub> | 0,020              | 0,020              | 0,021              | 0,029                          |

235 Para conocer el porcentaje de disminución de *Ralstonia solanacearum* en presencia y  
 236 ausencia de fagos, se realizó primero un promedio de los valores obtenidos en las  
 237 repeticiones con fagos. Este paso es importante, ya que los valores pueden variar  
 238 ligeramente debido a factores experimentales. Calcular el promedio permitió reducir el  
 239 efecto de estas variaciones y obtener una estimación más precisa del efecto de los  
 240 bacteriófagos en relación a la densidad óptica. Para ello se utilizó la siguiente fórmula  
 241 propuesta por Mochón y Tlachy Anell (2003):

242

$$Promedio = \left( \frac{DO_{6000} Repetición 1 + DO_{6000} Repetición 2 + DO_{6000} Repetición 3}{3} \right) \quad (1)$$

243

244 Los resultados obtenidos al aplicar la mencionada fórmula se observan en la Tabla 5.

245 **Tabla 5.** Valores de promedio de la cepa 077-080\_1 (H25) de *R. solanacearum*

| Fase de crecimiento | Hora | Promedio (DO) |
|---------------------|------|---------------|
| Latencia            | 3    | 0,0303        |
| Exponencial         | 10   | 0,0453        |
| Estacionaria        | 24   | 0,0523        |
| Muerte              | 26   | 0,0203        |

246 Una vez obtenidos los datos de densidad óptica en presencia y ausencia de fagos, se  
 247 procedió a calcular el porcentaje de reducción con respecto al control sin fagos, mediante  
 248 la fórmula de Mendoza y Block (2010):

$$\text{Porcentaje de reducción} = \frac{DO_{600} \text{ sin fagos} - \text{Promedio } DO_{600} \text{ con fagos}}{DO_{600} \text{ sin Fagos}} \times 100 \quad (2)$$

249

250 Los resultados obtenidos indican que las densidades ópticas con fagos tienen reducciones que  
 251 van del 2.26 % al 26,87 % en comparación con el control sin fagos. Demostrándose que el  
 252 porcentaje más bajo es en la fase de latencia y el más alto en la fase estacionaria. (Tabla 6)

253

254 **Tabla 6.** Valores de porcentaje de disminución de los tratamientos con fagos de la cepa 077-

255

080\_1 (H25) de *R. solanacearum*

| Fase de crecimiento | Hora | Porcentaje |
|---------------------|------|------------|
| Latencia            | 3    | 2.26 %     |
| Exponencial         | 10   | 23.22 %    |
| Estacionaria        | 24   | 26,87 %    |
| Muerte              | 26   | 21.94 %    |

256

## 257 2. Cepa 081-084\_1.1

258 Una vez conocidas las fases de crecimiento de la cepa 081-084\_1.1, se procede a  
 259 infectarla con fagos.

260

261 **Tabla 7.** Comparación de densidades ópticas de la cepa 081-084\_1.1 de *R. solanacearum*

262

infectadas con fagos a lo largo de 24h.

| Fase de crecimiento | Hora | Densidad Óptica   | Repetición 1<br>Placa con Fagos | Repetición 2<br>Placa con Fagos | Repetición 3<br>Placa con Fagos | Placa sin Fagos (Solo Cultivo) |
|---------------------|------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Latencia            | 2    | DO <sub>600</sub> | 0,053                           | 0,049                           | 0,051                           | 0,059                          |
| Exponencial         | 8    | DO <sub>600</sub> | 0,058                           | 0,057                           | 0,061                           | 0,089                          |
| Estacionaria        | 10   | DO <sub>600</sub> | 0,071                           | 0,064                           | 0,069                           | 0,098                          |
| Muerte              | 27   | DO <sub>600</sub> | 0,016                           | 0,013                           | 0,015                           | 0,018                          |

263

Para conocer el porcentaje de disminución de *Ralstonia solanacearum* en presencia y

264

ausencia de fagos, se realizó primero un promedio de los valores obtenidos en las

265 repeticiones con fagos (Tabla 7). Este paso es importante, ya que los valores pueden variar  
 266 ligeramente debido a factores experimentales. Calcular el promedio permitió reducir el  
 267 efecto de estas variaciones y obtener una estimación más precisa del efecto de los  
 268 bacteriófagos de acuerdo con la densidad óptica. Para este cálculo se utilizó la fórmula  
 269 sugerida por Mochón y Tlachy Anell (2003):

270

$$Promedio = \left( \frac{DO_{6000} Repetición 1 + DO_{6000} Repetición 2 + DO_{6000} Repetición 3}{3} \right) \quad (1)$$

271

272 La fórmula permitió obtener el promedio de las DO de acuerdo con el promedio de cada fase  
 273 de la curva de crecimiento de *Ralstonia solanacearum*. (Tabla 8)

274

275 **Tabla 8.** Valores de promedio de la cepa 081-084\_1.1 de *R. solanacearum*

| Fase de crecimiento | Hora | Promedio (DO) |
|---------------------|------|---------------|
| Latencia            | 2    | 0.051         |
| Exponencial         | 8    | 0.05867       |
| Estacionaria        | 10   | 0.068         |
| Muerte              | 27   | 0.01467       |

276 Una vez obtenidos los datos de densidad óptica en presencia y ausencia de fagos, se  
 277 procedió a calcular el porcentaje de reducción con respecto al control sin fagos. La fórmula  
 278 empleada fue de Mendoza y Block (2010):

$$Porcentaje\ de\ reducción = \frac{DO_{600}\ sin\ fagos - Promedio\ DO_{600}\ con\ fagos}{DO_{600}\ sin\ Fagos} \times 100 \quad (2)$$

279

280 Los resultados evidencian que el promedio de reducción más bajo de la infección de fagos  
 281 a las cepas de *R. solanacearum* se da en la fase de latencias (13,56 %), mientras que la  
 282 reducción más alta se presenta en la fase exponencial (30,61 5. (Tabla 9)

283

284

285

286

287 **Tabla 9.** Valores de porcentaje de disminución de los tratamientos con fagos de la cepa 081-  
 288 084\_1.1 de *R. solanacearum*

| Fase de crecimiento | Hora | Porcentaje de reducción |
|---------------------|------|-------------------------|
| Latencia            | 2    | 13.56 %                 |
| Exponencial         | 8    | 34.10 %                 |
| Estacionaria        | 10   | 30.61 %                 |
| Muerte              | 27   | 18.50 %                 |

289 Estos resultados indican que las densidades ópticas con fagos tienen reducciones que van del  
 290 13.56 % al 34,10 % en comparación con el control sin fagos.

291

### 292 3. Cepa 068\_2

293 Una vez conocidas las fases de crecimiento de la cepa 068\_2, se procede a infectarla con  
 294 fagos. La Tabla 10 muestra los resultados de los valores obtenidos al medir las DO en cada  
 295 una de las repeticiones infectadas y no infectadas con bacteriófagos.

296 **Tabla 10.** Comparación de densidades ópticas de la cepa 068\_2 de *R. solanacearum*  
 297 infectadas con fagos a lo largo de 24h.

| Fases de crecimiento | Hora | Densidad Óptica   | Repetición 1<br>Placa con Fagos | Repetición 2<br>Placa con Fagos | Repetición 3<br>Placa con Fagos | Placa sin Fagos<br>(Solo Cultivo) |
|----------------------|------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Latencia             | 2    | DO <sub>600</sub> | 0,050                           | 0,048                           | 0,044                           | 0,053                             |
| Exponencial          | 8    | DO <sub>600</sub> | 0,061                           | 0,055                           | 0,058                           | 0,088                             |
| Estacionaria         | 10   | DO <sub>600</sub> | 0,071                           | 0,061                           | 0,063                           | 0,094                             |
| Muerte               | 27   | DO <sub>600</sub> | 0,017                           | 0,015                           | 0,016                           | 0,017                             |

298 Para conocer el porcentaje de disminución de *Ralstonia solanacearum* en presencia y  
 299 ausencia de fagos, se realizó primero un promedio de los valores obtenidos en las  
 300 repeticiones con fagos. Este paso es importante, ya que los valores pueden variar  
 301 ligeramente debido a factores experimentales. Calcular el promedio permitió reducir el  
 302 efecto de estas variaciones y a obtener una estimación más precisa del efecto de los  
 303 bacteriófagos con relación a las mediciones de las densidades ópticas obtenidas. Para  
 304 conocer el promedio de las DO se utilizó la fórmula siguiente: Mochón y Tlachy Anell  
 305 (2003):

306

$$Promedio = \left( \frac{DO_{6000} Repetición 1 + DO_{6000} Repetición 2 + DO_{6000} Repetición 3}{3} \right) \quad (1)$$

307 Los resultados obtenidos en la fórmula respectiva se muestran en la Tabla 11.

308

309 **Tabla 11.** Valores de promedio de la cepa 068\_2 de *R. solanacearum*

| Fase de crecimiento | Hora | Promedio (DO) |
|---------------------|------|---------------|
| Latencia            | 2    | 0.0473        |
| Exponencial         | 8    | 0.058         |
| Estacionaria        | 10   | 0.065         |
| Muerte              | 27   | 0.016         |

310 Una vez extraídos los datos de densidad óptica en presencia y ausencia de fagos, se  
 311 procedió a calcular el porcentaje de reducción con respecto al control sin fagos, utilizándola  
 312 misma fórmula anterior de Mendoza y Block (2010). El porcentaje de reducción en esta  
 313 cepa estudiada fue de 5,88 % en la fase muerte, seguido de 10.75 % en la fase de latencia,  
 314 30.85 % en la fase estacionaria y el más alto porcentaje de reducción exponencial con un  
 315 valor de 34.09 % (Tabla 12).

316

$$Porcentaje\ de\ reducción = \frac{DO_{600}\ sin\ fagos - Promedio\ DO_{600}\ con\ fagos}{DO_{600}\ sin\ Fagos} \times 100 \quad (2)$$

317

318 **Tabla 12.** Valores de porcentaje de disminución de los tratamientos con fagos de la cepa

319

068\_2 de *R. solanacearum*

| Fases de crecimiento | Hora | Porcentaje de reducción |
|----------------------|------|-------------------------|
| Latencia             | 2    | 10.75 %                 |
| Exponencial          | 8    | 34.09 %                 |
| Estacionaria         | 10   | 30.85 %                 |
| Muerte               | 27   | 5.88 %                  |

320 Estos resultados indican que las densidades ópticas con fagos tienen reducciones que van del  
 321 10.56 % al 34, 09% en comparación con el control sin fagos.

322

323

324 **1. Discusión**

325 Una vez que se obtuvo las 4 fases de crecimiento de las 3 diferentes cepas de *Ralstonia*  
326 *solanacearum*, se infectó en cada una de esas fases con fagos, donde se obtuvo que hay una  
327 inhibición de *Ralstonia solanacearum* desde el 2.26% hasta el 34.10%, siendo la fase  
328 estacionaria y exponencial donde hubo mayor efecto de inhibición. Para conocer el porcentaje  
329 de disminución se calculó el promedio de las diferentes densidades ópticas y posteriormente se  
330 sacó el porcentaje. Esta disminución se puede corroborar con el artículo de Halawa (2023),  
331 donde menciona que los bacteriófagos muestran tienen precisión para infectar la bacteria de  
332 *Ralstonia solanacearum*. Y esto se debe a su capacidad de identificar, unirse, multiplicarse y  
333 lisar específicamente las células bacterianas.

334 Un ejemplo de la inhibición de la bacteria *Ralstonia solanacearum* con ayuda de los  
335 bacteriófagos es el estudio realizado por Hernández-Romano et al. (2019), donde utiliza  
336 bacterias aisladas de tomate y se obtuvo que se anuló completamente el incremento en la  
337 densidad óptica representando el 99% de inhibición, lo que indica que el bacteriófago ejerció su  
338 efecto lítico, incluso cuando se utilizó un fago por cada millón de bacterias presentes en el  
339 medio. El bacteriófago logró estar estable debido a que se utilizaron soluciones salinas con una  
340 composición química de sulfatos y fosfatos permitiendo mantenerse estable al bacteriófago.  
341 (Baroukh et al., 2022) Se podría agregar solución salina que proporciona un entorno estable  
342 para el crecimiento y supervivencia del bacteriófago, permitiendo una mayor diseminación de la  
343 bacteria (Infante et al., 2012; Sedighian et al., 2020).

344 Clokie et al. (2011) menciona que existen diferentes cepas tanto de bacteriófagos como de *R.*  
345 *solanacearum*, y no todos los fagos son igualmente efectivos contra todas las cepas de la  
346 bacteria (Dion et al., 2020).

347 La infección de *R. solanacearum* con bacteriófagos en muestras obtenidas del pseudotallo de  
348 plantas de banano es una estrategia eficaz debido a las características particulares de este  
349 tejido. El pseudotallo contiene una gran cantidad y diversidad de bacterias, que son los  
350 hospedadores naturales de los bacteriófagos, y puede acumular una mayor concentración de  
351 bacterias patógenas en comparación con otras partes de la planta (Saquicela Cruz et al.,  
352 2023). Esto puede deberse a su posición central en la planta, que facilita la acumulación de  
353 residuos y microorganismos. En el pseudotallo, la abundancia de bacteriófagos puede ser 10-

354 20 veces mayor que la de las células bacterianas hospedadoras, lo que facilita el aislamiento e  
355 identificación de fagos específicos para cepas bacterianas de interés. Al obtener muestras del  
356 pseudotallo se accede directamente a los tejidos internos de la planta, donde pueden  
357 encontrarse bacterias que no están presentes en la superficie, lo que es especialmente útil  
358 para el estudio de infecciones bacterianas que afectan internamente a la planta (Blasco et al.,  
359 2023).

360 El uso de bacteriófagos podría formar parte de programas de gestión sostenible: como manejo  
361 integrado de plagas y cultivos orgánicos (Biosca et al., 2021), ya que estos virus no son tóxicos  
362 para el ambiente, promueve la salud del suelo y del consumidor. A su vez son eficaces en  
363 muestras de pseudotallo de plantas de banano como se observó en este estudio. Además, esto  
364 puede conllevar a que los fagos podrían agregarse a los sistemas de riego y así prevenir de  
365 una mejor manera que los cultivos se infecten con por *R. solanacearum*.

366  
367

#### **4. Conclusiones**

368 En el presente estudio, se investigó el efecto de los bacteriófagos en la inhibición de *Ralstonia*  
369 *solanacearum*, un patógeno bacteriano que afecta a los cultivos de banano. Observándose una  
370 inhibición que osciló entre el 2.26% y el 34.10%, durante las 4 fases de crecimiento de la  
371 bacteria; en las fases estacionaria y de latencia fue donde hubo mayor inhibición de la bacteria.  
372 Además, se determinó que la infección de bacteriófagos en muestras de pseudotallo de banano  
373 puede acumular una mayor concentración de bacterias patógenas en comparación con otras  
374 partes de la planta, permitiendo acceder directamente a los tejidos internos donde pueden  
375 encontrarse bacterias que no están presentes en la superficie, lo que es especialmente útil  
376 para el estudio de infecciones bacterianas que afectan internamente a la planta.

#### **Agradecimientos**

378 Agradezco a Biosiembra Nature´s Lab que me han otorgado el financiamiento para el presente  
379 trabajo, y a la sala de preparaciones de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por  
380 ayudarme con las instalaciones y materiales para realizar el estudio.

381  
382  
383

384 **Referencias**

- 385 Agrocalidad. (2020). *Ralstonia solanacearum* race 2 (Smith 1896) Yabuuchi et al.  
386 1996. Disponible en [https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/foc51.pdf)  
387 [content/uploads/2020/05/foc51.pdf](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/foc51.pdf)
- 388 Aguirre, J. C. (2023). Incidencia y medidas alternativas de control para el moko  
389 (*Ralstonia solanacearum*) del banano en el Ecuador [Univesidad Técnica de  
390 Babahoyo]. Disponible en  
391 <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13942/E-UTB-FACIAG->  
392 [ING%20AGRON-000495.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13942/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000495.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- 393 Clokie, M. R. J., Millard, A. D., Letarov, A. V., y Heaphy, S. (2011). Phages in nature.  
394 *Bacteriophage*, 1(1), 31–45. doi:10.4161/bact.1.1.14942
- 395 Baroukh, C., Zemouri, M., y Genin, S. (2022). Trophic preferences of the  
396 pathogen *Ralstonia solanacearum* and consequences on its growth in xylem  
397 sap. *MicrobiologyOpen*, 11(1). Disponible en <https://doi.org/10.1002/mbo3.1240>
- 398 Barrios, M., Rofriguez, P., y Salazar, M. (2011). Supervivencia de *Ralstonia*  
399 *solanacearum* en suelo y tejido de plantas de Banano en Urabá, Colombia.  
400 *Fitosanidad*, 15, 91–97. Disponible en  
401 <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209122297004.pdf>
- 402 Benson H. (1980). *Microbiological applications a laboratory manual in general*  
403 *microbiology*, 3rd. Ed. Iowa: Wm. C. Brown Company Publishers.
- 404 Biosca, E. G., Català-Senent, J. F., Figàs-Segura, À., Bertolini, E., López, M. M., y  
405 Álvarez, B. (2021). Genomic analysis of the first European bacteriophages with  
406 depolymerase activity and biocontrol efficacy against the phytopathogen  
407 *Ralstonia solanacearum*. *Viruses*, 13(12), 2539. Disponible en  
408 <https://doi.org/10.3390/v13122539>
- 409 Blasco, L., García-Quintanilla, M. D. J., Ramon, J., Oteo Iglesias, P. J., & Tomás, M. del  
410 M. (2023). Fagoterapia, manejo en el laboratorio. *Enfermedades Infecciosas y*  
411 *Microbiología Clínica*, 37.

412 <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia>  
413 [/seimc-procedimiento1f.pdf](https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimiento1f.pdf)

414 Cacarín, M. (2022). *Agencia de regulación y control fito y zoonosanitario, Plan de acción*  
415 *para el control de Ralstonia solanacearum.*

416 Caldaz, J. (2016). Isolamiento de bacteriófagos visando sua aplicação no controle de  
417 fitopatógenos. Disponible en  
418 [https://adelpaapi.mackenzie.br/server/api/core/bitstreams/8c404cd1-8170-](https://adelpaapi.mackenzie.br/server/api/core/bitstreams/8c404cd1-8170-472b-bf17-71495f304ef6/content)  
419 [472b-bf17-71495f304ef6/content](https://adelpaapi.mackenzie.br/server/api/core/bitstreams/8c404cd1-8170-472b-bf17-71495f304ef6/content)

420 Cortéz, A. (2019). *Búsqueda de regiones homólogas a péptidos antimicrobianos en el*  
421 *genoma de Solanum lycopersicum con acción frente a Ralstonia solanacearum*  
422 [Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca ]. Disponible en  
423 [https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/3605/Alexandra](https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/3605/Alexandra%20Cortes%20InfFinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y)  
424 [%20Cortes%20InfFinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/3605/Alexandra%20Cortes%20InfFinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

425 Dion, M. B., Oechslin, F., y Moineau, S. (2020). Phage diversity, genomics and phylogeny.  
426 *Nature Reviews. Microbiology*, 18(3), 125–138. Disponible en  
427 <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0311-5>

428 Dirección de Estudios Económicos y Comerciales. (2023, marzo 15). Boletín de cifras.  
429 Comercio Exterior. Disponible en  
430 [https://www.produccion.gob.ec/wp-](https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2023/03/VFBoletinComercioExteriorMarzo2023.pdf)  
431 [content/uploads/2023/03/VFBoletinComercioExteriorMarzo2023.p](https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2023/03/VFBoletinComercioExteriorMarzo2023.pdf)  
432 [df](https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2023/03/VFBoletinComercioExteriorMarzo2023.pdf)

433 El impacto del comercio del Banano en el desarrollo del Ecuador (Vol. 53). (2017). Revista  
434 afese. Disponible en <https://mail.afese.com/img/revistas/revista53/comerbanano.pdf>

435 FAO. (2022). Banano Análisis del mercado 2021. Disponible en  
436 <https://www.fao.org/3/cc1610es/cc1610es.pdf>

437 Halawa, E. M. (2023). Challenges of bacteriophages application in controlling bacterial plant  
438 diseases and how to overcome them. *Journal of Genetic Engineering and*  
439 *Biotechnology /Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 98. Disponible

440 en <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00549-y>

441 Hernández, J., Mastache, L., Molina, A., Serrano, R., Peña, C., Chavez, M., Romero, N., y  
442 Leconda, N. (2019). Huéspedes de *Ralstonia solanacearum* en plantaciones de banano  
443 y plátano en Colombia. *SciELO*, 42. Disponible en  
444 [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802019000100013)  
445 [73802019000100013](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802019000100013)

446 Hernández-Romano, J., Mastache-Estrada, L. A., Molina-Sánchez, D. A., Serrano-Plancarte,  
447 R., Peña-Barrera, C., Chávez-Bejar, M. I., Romero-Martínez, N., y Lecona-Valera, A. N.  
448 (2019). Estabilidad y capacidad inhibitoria del bacteriófago  $\Phi$ RSP, agente potencial  
449 para el biocontrol de *Ralstonia solanacearum*. *Revista fitotecnia mexicana*, 42(1), 13–  
450 19. Disponible en [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802019000100013)  
451 [73802019000100013](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802019000100013)

452 Infante, V. V., Cano, A. M., Medina Valdovinos, H., Macías, A. E., y Álvarez, J. A. (2012).  
453 Solución salina como medio de cultivo desde el punto de vista de las bacteriemias  
454 nosocomiales. *Revista de Investigación Clínica*, 64, 5.

455 Jiménez, G. E. P., Zurita, I. N., y Álvarez, J. C. E. (2020). Análisis del impacto tributario y  
456 contable por las variaciones del precio de la caja de banano en los productores del  
457 cantón Machala, Ecuador. *Dominio de las Ciencias*, 6(1), 396–428. Disponible en  
458 <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7351796>

459 León Ajila, J. P., Espinosa Aguilar, M. A., Carvajal Romero, H. R., y Quezada Campoverde, J.  
460 (2023). Análisis de la producción y comercialización de banano en la provincia de El Oro  
461 en el periodo 2018-2022. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 7494–  
462 7507. Disponible en [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.4981](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.4981)

463 Manrique, V. (2023). Guía para el establecimiento y mantenimiento de sitios de producción  
464 libres de *Ralstonia solanacearum* Raza 2. Disponible en  
465 [https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2023/07/Guía_SLRS_20-07-2023.pdf)  
466 [content/uploads/2023/07/Guía\\_SLRS\\_20-07-](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2023/07/Guía_SLRS_20-07-2023.pdf)  
2023.pdf

467 Mendoza, T., & Block, D. (2010). El porcentaje: lugar de encuentro de las razones,  
468 fracciones y decimales en las matemáticas escolares. *Relime*, 13. Disponible en  
469 <https://www.redalyc.org/pdf/335/33529137012.pdf>

470 Ministerio de Comercio Exterior. (2017). *Informe Sector Bananero Ecuatoriano*. Disponible  
471 en [https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2019/06/Informe-sector-](https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2019/06/Informe-sector-bananero-español-04dic17.pdf)  
472 [bananero-español-04dic17.pdf](https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2019/06/Informe-sector-bananero-español-04dic17.pdf)

473 Mochón, S., y Tlachy Anell, M. M. (2003). Un estudio sobre el promedio: concepciones y  
474 dificultades en dos niveles educativos. *Redalyc*, 15, 25. Disponible en  
475 <https://www.redalyc.org/pdf/405/40515302.pdf>

476 Muentes, C. A. (2022). El directos ejecutivo encargado de la agencia de regulación y control  
477 Fito y Zoonosanitario. Y ZOOSANITARIO. Disponible en  
478 [https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/06/DAJ-20221AD-0201.0072.pdf)  
479 [content/uploads/2022/06/DAJ-20221AD-](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/06/DAJ-20221AD-0201.0072.pdf)  
0201.0072.pdf

480 Núñez, N. (2015). Plan de acción para el control de *Ralstonia solanacearum* Raza 2.  
481 Disponible en  
482 [https://aportecivico.gobiernoelectronico.gob.ec/system/documents/attachments/000/0](https://aportecivico.gobiernoelectronico.gob.ec/system/documents/attachments/000/00/067/original/8ef3c2a34a1e9ce32d61a0d5ab9a948768080335.pdf)  
483 [00/067/original/8ef3c2a34a1e9ce32d61a0d5ab9a948768080335.pdf](https://aportecivico.gobiernoelectronico.gob.ec/system/documents/attachments/000/00/067/original/8ef3c2a34a1e9ce32d61a0d5ab9a948768080335.pdf)

484 Remache, F. (2018). Evaluación del efecto de microorganismos antagonistas en el control de  
485 la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum* E. F. Smith), presente en  
486 plantaciones de eucalipto tropical (*Eucalyptus urograndis*) en la hacienda Los ángeles,  
487 Cantón buena Fe, Provincia de los Ríos [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].  
488 Disponible en <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/8492/1/33T0179.pdf>

489 Sanchez, M. A. (2021). *Ralstonia Solanacearum en el cultivo de plátano en el Ecuador*  
490 [Universidad Técnica de Babahoyo]. Disponible en  
491 [http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10306/E-UTB-FACIAG-](http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10306/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000348.pdf?sequence=1&isAllowed=y)  
492 [ING%20AGRON-000348.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10306/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000348.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

493 Saquicela Cruz, P. S., V. Romanova, E., Guamán Guamán, R. N., Ulloa Cortázar, S. M., &  
494 Villavicencio Abril, Á. F. (2023). Caracterización morfológica y bioquímica de *Ralstonia*  
495 *solanacearum* raza 2, bacteria patógena en cultivos de banano y plátano en El Carmen,

496 Manabí, Ecuador. *Siembra*, 10, 117.  
497 <http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/siembra/v10n1/2477-8850-siembra-10-01-04305.pdf>  
498 Saquicela, P., Romanova, E., Guamán, R., Ulloa, S., y Villavicencio, Á. (2023).  
499 Caracterización morfológica y bioquímica de *Ralstonia solanacearum* raza 2,  
500 bacteriopatógena en cultivos de banano y plátano en El Carmen, Manabí,  
501 Ecuador. *Siembra*, 10. Disponible en  
502 <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/SIEMBRA/article/view/4305/5356>

503 Sedighian, N., Mendes, O., Poleij, L., Bonants, P., y Van der Wolf, J. (2020). Detection  
504 of *Ralstonia pseudosolanacearum* in drain water based on concentration, enrichment  
505 and the use of a duplex TaqMan PCR test. *Bulletin OEPP. EPPO Bulletin. European*  
506 *and Mediterranean Plant Protection Organisation*, 50(2), 340–349. Disponible en  
507 <https://doi.org/10.1111/epp.12675>

508 SENASICA, Agricultura. (2013). *Ralstonia solanacearum* raza 2. Disponible en  
509 [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/746658/FICHA\\_T\\_CNICA\\_MOK\\_O.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/746658/FICHA_T_CNICA_MOK_O.pdf)

510 Yang L., Li S., Qin X., Jiang G., Chen J., Li B., et al. (2017). Exposure to umbelliferone reduces  
511 *Ralstonia solanacearum* biofilm formation, transcription of type III secretion system  
512 regulators and effectors and virulence on tobacco. *Front. Microbiol.* 8:1234.

513  
514  
515  
516  
517  
518  
519

## 5. Anexos Suplementarios

### 521 5.1 Curvas de crecimiento

522 **ANEXO 1.** Valores de densidades ópticas de la cepa 077-080\_1 (H25) de *R. solanacearum* a lo

523 largo de 26h.

| Curvas de Crecimiento |       |              |       |              |       |
|-----------------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|
| Repetición 1          |       | Repetición 2 |       | Repetición 3 |       |
| HORA                  | D.O   | Hora         | D.O.  | HORA         | D.O   |
| 0                     | 0,029 | 0            | 0,027 | 0            | 0,028 |
| 1                     | 0,028 | 1            | 0,028 | 1            | 0,03  |
| 2                     | 0,03  | 2            | 0,029 | 2            | 0,031 |
| 3                     | 0,03  | 3            | 0,031 | 3            | 0,033 |
| 4                     | 0,03  | 4            | 0,033 | 4            | 0,035 |
| 5                     | 0,032 | 5            | 0,034 | 5            | 0,037 |
| 6                     | 0,033 | 6            | 0,038 | 6            | 0,04  |
| 7                     | 0,036 | 7            | 0,042 | 7            | 0,042 |
| 8                     | 0,04  | 8            | 0,049 | 8            | 0,046 |
| 9                     | 0,047 | 9            | 0,055 | 9            | 0,048 |
| 10                    | 0,048 | 10           | 0,057 | 10           | 0,05  |
| 24                    | 0,065 | 24           | 0,06  | 24           | 0,056 |
| 25                    | 0,061 | 25           | 0,042 | 25           | 0,039 |
| 26                    | 0,022 | 26           | 0,019 | 26           | 0,02  |

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534 **ANEXO 2.** Valores de densidades ópticas de la cepa 081-084\_1.1 de *R. solanacearum*, a  
 535 lo largo de 27h.

| Curvas de Crecimiento |       |              |        |              |        |
|-----------------------|-------|--------------|--------|--------------|--------|
| Repetición 1          |       | Repetición 2 |        | Repetición 3 |        |
| HORA                  | D.O   | Hora         | D.O.   | HORA         | D.O    |
| 0                     | 0,052 | 0            | 0,048  | 0            | 0,044  |
| 1                     | 0,053 | 1            | 0,053  | 1            | 0,046  |
| 2                     | 0,057 | 2            | 0,061  | 2            | 0,056  |
| 3                     | 0,062 | 3            | 0,064  | 3            | 0,059  |
| 4                     | 0,069 | 4            | 0,072  | 4            | 0,068  |
| 5                     | 0,078 | 5            | 0,077  | 5            | 0,069  |
| 6                     | 0,079 | 6            | 0,082  | 6            | 0,071  |
| 7                     | 0,08  | 7            | 0,089  | 7            | 0,074  |
| 8                     | 0,082 | 8            | 0,091  | 8            | 0,075  |
| 9                     | 0,083 | 9            | 0,095  | 9            | 0,077  |
| 10                    | 0,086 | 10           | 0,097  | 10           | 0,08   |
| 24                    | 0,021 | 24           | 0,0184 | 24           | 0,0191 |
| 25                    | 0,02  | 25           | 0,0175 | 25           | 0,0185 |
| 26                    | 0,019 | 26           | 0,0166 | 26           | 0,0183 |
| 27                    | 0,016 | 27           | 0,0155 | 27           | 0,0179 |

536

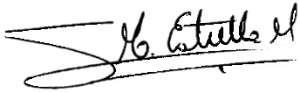
537 **ANEXO 3.** Valores de densidades ópticas de la cepa 081-084\_1.1 de *R. solanacearum*,  
 538 a lo largo de 27h.

| Curvas de Crecimiento |        |              |        |              |        |
|-----------------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|
| Repetición 1          |        | Repetición 2 |        | Repetición 3 |        |
| HORA                  | D.O    | Hora         | D.O.   | HORA         | D.O    |
| 0                     | 0,041  | 0            | 0,043  | 0            | 0,044  |
| 1                     | 0,045  | 1            | 0,046  | 1            | 0,046  |
| 2                     | 0,055  | 2            | 0,049  | 2            | 0,056  |
| 3                     | 0,068  | 3            | 0,057  | 3            | 0,059  |
| 4                     | 0,073  | 4            | 0,068  | 4            | 0,068  |
| 5                     | 0,076  | 5            | 0,07   | 5            | 0,074  |
| 6                     | 0,077  | 6            | 0,073  | 6            | 0,082  |
| 7                     | 0,077  | 7            | 0,078  | 7            | 0,087  |
| 8                     | 0,078  | 8            | 0,079  | 8            | 0,09   |
| 9                     | 0,081  | 9            | 0,08   | 9            | 0,093  |
| 10                    | 0,083  | 10           | 0,083  | 10           | 0,095  |
| 24                    | 0,0179 | 24           | 0,0191 | 24           | 0,0191 |
| 25                    | 0,0173 | 25           | 0,0185 | 25           | 0,0185 |
| 26                    | 0,0169 | 26           | 0,0183 | 26           | 0,0183 |
| 27                    | 0,0166 | 27           | 0,0179 | 27           | 0,0179 |



---

**Firma de la estudiante**  
Melany Juliana Rengifo Lema  
Quito, 12 de julio del 2024



---

**Firma del director/a de disertación**  
Mgtr. Sonia Margarita Estrella Vásquez  
Quito, 12 de julio del 2024

---

**Firma de la coordinadora de carrera**  
PhD. Diana Astorga García  
Quito, 12 de julio del 2024