CAPÍTULO II
TINCIÓN DE LA BACTERIA (*Ralstonia solanacearum*) EN EL CULTIVO DE PLÁTANO (*Musa* AAB) EN LABORATORIO Y CAMPO

Diana Alexandra Alava Cruz
Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí
https://orcid.org/0000-0002-2975-2180

Mónica Mireya Tutillo Ortiz
Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica
https://orcid.org/0009-0003-8329-7371

Leonardo Enrique Avellán Vásquez
Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí
https://orcid.org/0000-0003-4265-8049

Jordan Michael Vasquez Loor
Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí
https://orcid.org/0009-0005-2911-0048

https://doi.org/10.70171/8b44rq53

Resumen

El plátano (*Musa* AAB) es un rubro estratégico para Ecuador, concentrado en el "triángulo platanero" (Manabí, Santo Domingo y Los Ríos). El moko, causado por *Ralstonia solanacearum* raza 2, es uno de los problemas fitosanitarios más graves de las musáceas. En el cantón El Carmen se confirmó su presencia, lo que hace prioritario mejorar su identificación en campo mediante aislamiento y tinción. El estudio se realizó en dos fases (laboratorio y campo) con 18 tratamientos que combinaron seis tipos de colorante (hipoclorito 5%, violeta de genciana, safranina, azul de metileno, Lugol y testigo) y tres partes de la planta (pseudotallo, raquis y dedo). Se usó un diseño completo al azar en laboratorio y bloques completos al azar en campo, evaluando el nivel de tinción en una escala de 1 (nula) a 4 (alta). Las muestras provinieron de una planta Barraganete enferma de la finca "Trajanito", con aislamiento, purificación y tinción de Gram previos. Los resultados mostraron que el T5 (Lugol en pseudotallo) y T17 (Lugol en dedo) alcanzaron el nivel máximo de tinción (4), siendo superiores al resto en laboratorio y campo. El Lugol produjo una coloración negra intensa por reacción física con el almidón (en el dedo) y con la presencia bacteriana (en el pseudotallo). Se concluye que el Lugol es el colorante más eficaz para visualizar la bacteria y que el pseudotallo es la parte de la planta que mejor se pigmea y donde los síntomas son más evidentes.

Palabras clave: *Ralstonia solanacearum*, moko, tinción, Lugol, *Musa* AAB.

INTRODUCCIÓN

Un rubro importante para economía y seguridad alimentaria del país es el cultivo de plátano (*Musa* AAB), desde el punto de vista socioeconómico, el plátano genera fuentes estables y transitorias de trabajo. Actualmente se reportan en el país un total de 144981 ha de plátano, de las cuales 86712 ha están bajo el sistema de monocultivo. La mayor zona de producción de esta musácea es la conocida como el triángulo platanero, la cual abarca las provincias de Manabí, Santo Domingo y los Ríos con 52612, 14249 y 13376 ha en producción de esta especie, respectivamente (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP, 2019).

El moko del plátano es considerado uno de los problemas fitosanitarios más importantes que afectan a las musáceas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo; y constituye una complicación potencial para aquellos países o áreas en los que está presente, debido a que afecta a todos los estados de desarrollo de la planta, se disemina fácilmente y es un factor determinante en la restricción comercial de la producción (Belalcázar e*t al*, 2004).

Según informe de la Dirección General de Sanidad Vegetal (2016), en países como Guyana se reportan pérdidas en rendimiento de hasta 74 %, mientras que en países como México y Belice esta enfermedad se presenta de forma constante mermando la producción y comercialización de este fruto (Eyres e*t al*., 2001).

En el cantón El Carmen se llevó a cabo una investigación con el propósito de establecer la situación actual de la enfermedad del moko (*Ralstonia solanacearum*, raza II) que ataca al cultivo de plátano; los resultados determinaron que el 21% de los productores de plátanos manifiestan que si existe la enfermedad en su propiedad; el 50% expresan que conocen sobre esta enfermedad, y que reconocen sus síntomas, dichos resultados son alarmantes ya que deja precedentes sobre la existencia de la enfermedad en el cantón y sobre la poca capacitación en el tema por autoridades reguladores en el tema (Alava et al., 2019).

Con lo anterior mencionado se pone en manifiesto la importancia de iniciar de manera correcta la identificación de la bacteria en campo, siendo la fase de aislamiento y tinción de la bacteria lo primero.

Objetivos

El objetivo general de la investigación fue realizar la tinción de la bacteria causante del moko, *Ralstonia solanacearum* raza 2, en muestras del cultivo de plátano (*Musa* AAB), mediante procedimientos desarrollados en laboratorio y campo. De manera específica, se buscó

identificar los colorantes que permiten una visualización más nítida de la bacteria y comparar la respuesta a los diferentes colorantes aplicados en muestras de tejidos enfermos procedentes de distintas partes de la planta, tanto en condiciones de laboratorio como de campo.

Hipótesis

Existe diferencias entre los diferentes tipos de colorantes aplicados en muestras de tejidos enfermos de diferentes partes de la planta de plátano.

METODOLOGÍA

Ubicación del ensayo

El presente trabajo se desarrolló en dos fases: la primera fase de laboratorio que se llevó a cabo en el Instituto Superior Calazacón en el cantón Santo Domingo de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas; la segunda fase de campo se realizó en el cantón El Carmen, en el año 2020, localizado en el noreste de la provincia de Manabí, con las siguientes coordenadas geográficas: latitud: -0°22`45,2121” y longitud: -79°34`34,29”.

Variables

Las variables independientes del estudio correspondieron al tipo de colorante utilizado y a las partes de la planta de plátano afectadas por la enfermedad del moko. Por su parte, las variables dependientes comprendieron el nivel de tinción obtenido en las muestras analizadas, tanto en condiciones de laboratorio como de campo.

Tratamientos

El experimento contó con 18 tratamientos en total en laboratorio y campo, que resultaron de la interacción de los dos factores en estudio, los cuales se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1

Tratamientos evaluados en laboratorio y campo

Tratamientos	Factor A	Factor B
T1	Hipoclorito 5%	En pseudotallo
T2	Violeta de Genciana	
T3	Safranina	
T4	Azul de Metileno	
T5	Lugol	
T6	Testigo	
T7	Hipoclorito 5%	En raquis
T8	Violeta de Genciana	
T9	Safranina	
T10	Azul de Metileno	
T11	Lugol	
T12	Testigo	
T13	Hipoclorito 5%	En dedo
T14	Violeta de Genciana	
T15	Safranina	
T16	Azul de Metileno	
T17	Lugol	
T18	Testigo	

Características de las unidades experimentales

Laboratorio y campo: Se empleó muestras obtenidas del sector del Porvenir, de la finca Trajanito, la cual ha sido identificada por Agrocalidad como sitio erradicado de moko; dichas muestras fueron de una sola planta enferma de la variedad Barraganete con fruto.

Modelo experimental

La fase de laboratorio se empleó un diseño completo al azar (DCA) en un arreglo factorial A x B + n, el factor A correspondió a los tipos de colorante y el factor B a las partes de la planta enferma.

Tabla 2

Esquema de ADEVA en laboratorio

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	17
Factor A (Tipo de colorante)	4
Factor B (Parte de la planta)	2
Factor A*Factor B (Tipo de colorante*Parte de la planta)	8
Error	36
Total	53

En la fase de campo se implementó en un diseño de bloques completos al azar (DBCA) en un arreglo factorial A x B + n, el factor A correspondió a los tipos de colorante y el factor B a las partes de la planta enferma. A continuación, en la Tabla 3 y 4, se exponen los esquemas de varianza empleados:

Tabla 3

Esquema de ADEVA en campo

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	17
Factor A (Tipo de colorante)	4
Factor B (Parte de la planta)	2
Factor A*Factor B (Tipo de colorante*Parte de la planta)	8
Repeticiones	2
Error	34
Total	53

Materiales y equipos

Para el desarrollo de las actividades de laboratorio se utilizaron una balanza, un agitador digital, una estufa, un autoclave, una cámara de flujo laminar, una incubadora y un microscopio. Asimismo, se emplearon cajas de Petri, matraces Erlenmeyer, asas de siembra, portaobjetos, cubreobjetos, goteros y pipetas. Entre los medios de cultivo, reactivos y materiales utilizados se incluyeron agar de carne, cloruro de sodio, agar papa dextrosa (PDA), agua destilada,

diferentes colorantes y muestras de tejidos procedentes de plantas de plátano afectadas por la enfermedad del moko.

Para las actividades de campo se utilizaron machetes, guantes, atomizadores y diferentes colorantes, además de muestras de tejidos obtenidas de plantas de plátano afectadas por la enfermedad del moko.

Datos tomados

Nivel de tinción: Para el registro de esta variable tanto en campo como laboratorio se estableció una escala, la cual se detalla en la Tabla 4.

Tabla 4

Escala de nivel de tinción

Nivel	Ponderación
Alta	4
Media	3
Baja	2
Nula	1

Manejo del experimento

Fase de laboratorio

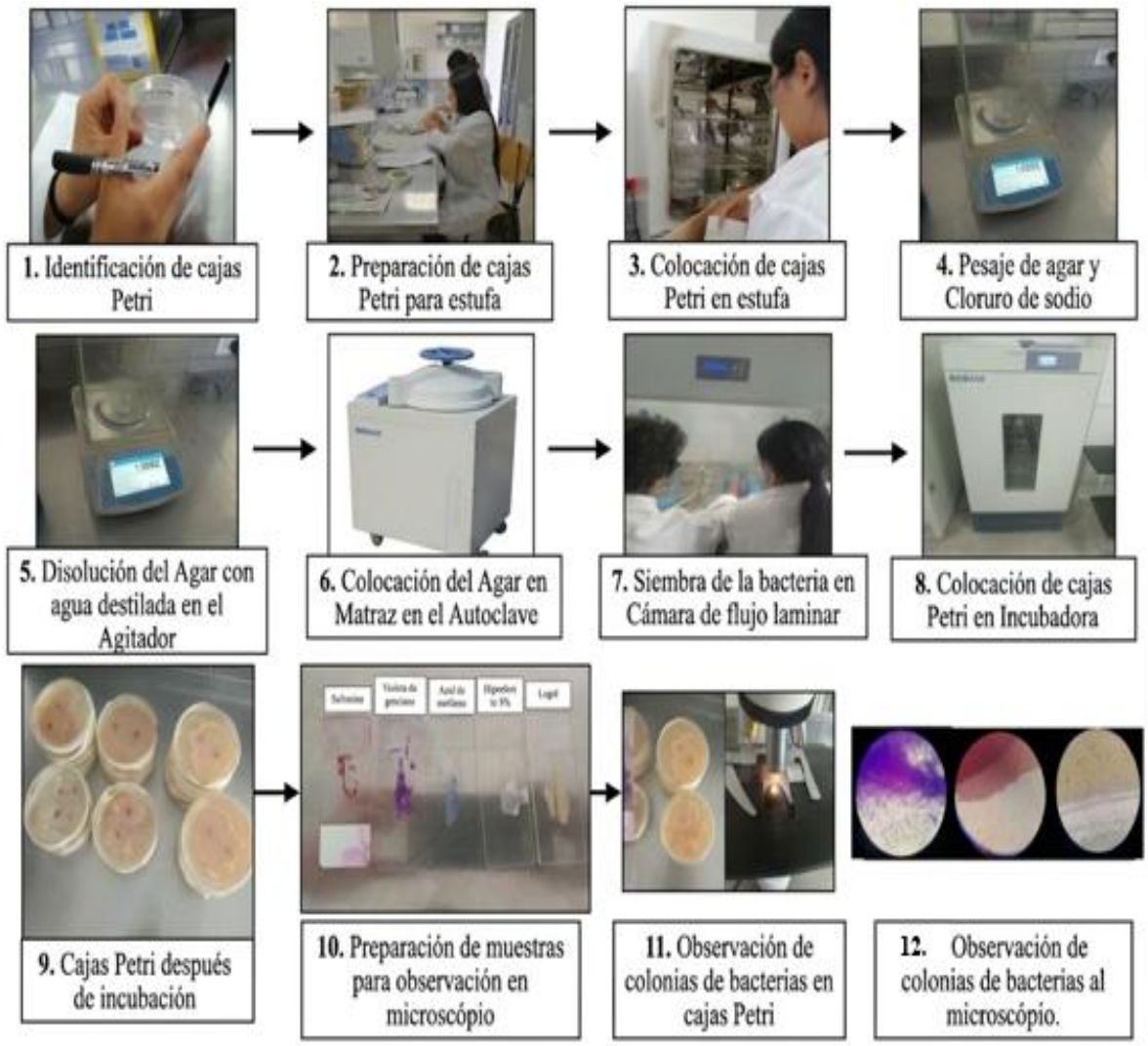
a. Aislamiento y purificación de la bacteria

Las muestras vegetativas recolectadas, fueron desinfectadas por un minuto en alcohol etílico al 70% y luego flameadas. Para facilitar la salida de la bacteria, se cortó los tallos en pequeños trozos (2 pulgadas), seguido se depositó durante 15 minutos en cada caja Petri y se incubó por 48 horas (Rodríguez et al., 2020).

Para el proceso de purificación de la bacteria, se seleccionó la colonia con las características morfológicas (colonias color blanco, forma irregulares redondas y fluidas) de *R. solanacearum* E. F. Smith.

Figura 1

Preparación de muestras para observación en microscopio



b. Prueba de Tinción de Gram

Consistió en preparar un frotis en una lámina portaobjeto; con el asa bacteriológica previamente estéril, se colocó una muestra de la colonia extendiéndolo sobre el portaobjeto, se dejó secar a temperatura ambiente. Posteriormente el frotis se fijó flameándolo por tres veces en un mechero de Bunsen. Después se cubrió el frotis con cada uno de los colorantes durante un minuto, se lavó y escurrió aplicando agua destilada; se dejó secar a temperatura ambiente. Luego en el microscopio se observó en el objetivo de inmersión (Salazar et al., 2025).

Figura 2

Preparación de muestras para observación en microscopio

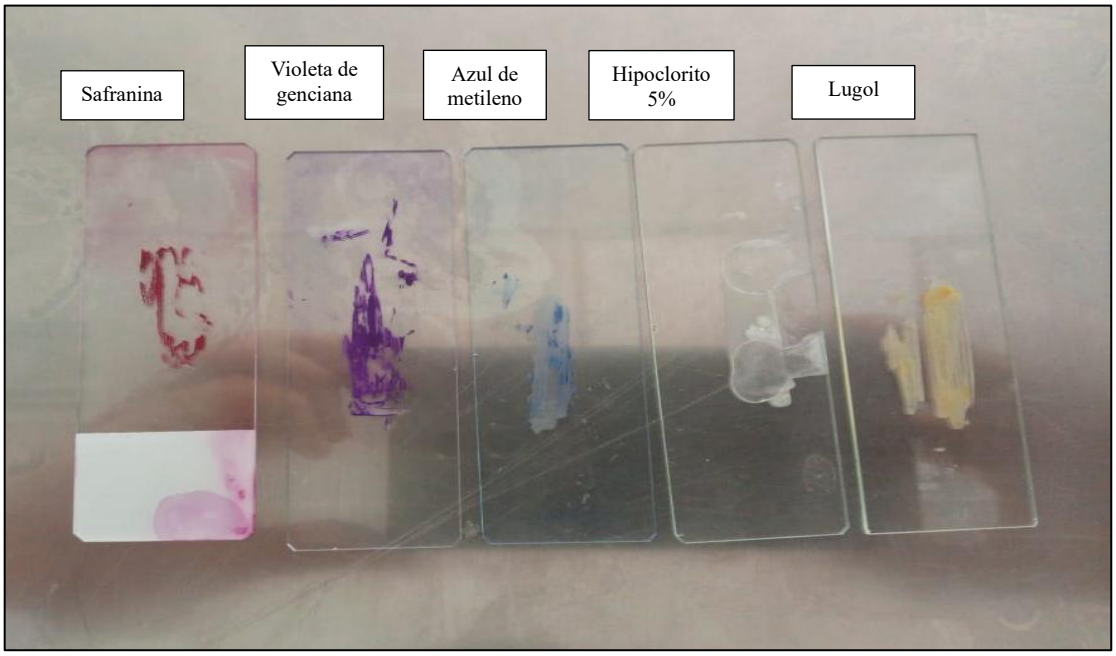
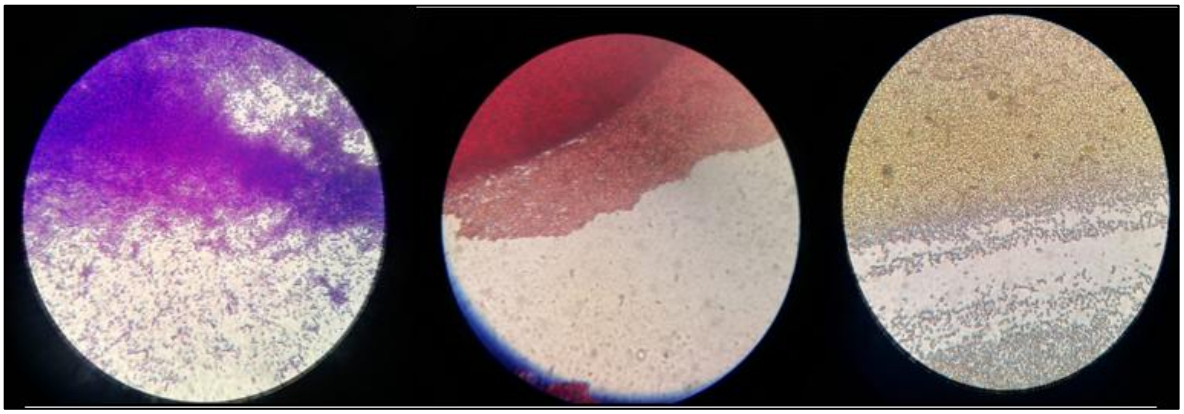


Figura 3

Observación de colonias de bacterias al microscopio



Fase de campo

Se empleó plantas enfermas de Barraganete con fruto previamente identificadas por los síntomas externos, a las cuales se las seccionó en partes con ayuda de un machete, posteriormente se les aplicó los colorantes y se determinó sus resultados. Cabe indicar que se tomó medidas de bioseguridad para la toma de muestras y transporte de las mismas a laboratorio como lo sugiere Agrocalidad (2015) en plan de acción para control de *Ralstonia solanacearum* raza 2. Además, se realizó desinfección de botas y herramientas a la salida de la finca Trajanito con una solución de cloro concentrado con el propósito de evitar la diseminación de la bacteria.

RESULTADOS

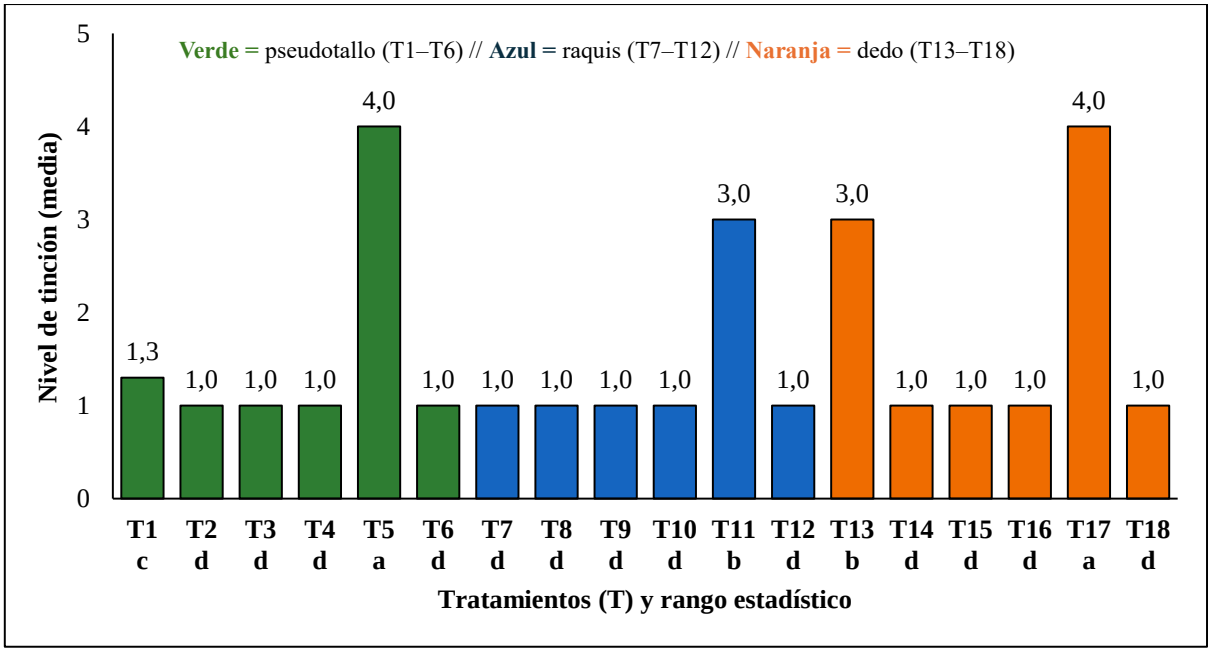
Nivel de tinción en laboratorio

Los resultados del análisis de varianza para la variable de Tinción de la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 en laboratorio, en la cual se distinguen diferencias estadísticas significativas ($p<0.01$) para las fuentes de variación: tratamientos, factor A (Tipos de colorantes), factor B (Partes de la planta) y la interacción A x B (Tipos de colorantes * partes de la planta).

El tratamiento T5 (Lugol en pseudotallo) y T17 (Lugol en dedo) tuvieron un valor de escala de 4, siendo estadísticamente iguales y diferentes al resto de tratamientos evaluados en laboratorio (Figura 4). Se pudo aprecia que en forma general todos los tratamientos presentaron colonias de coloración blancas con centros rojizos como lo menciona también Kelman (1954) como se citó en Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2019), quienes manifiestan que la diferencia entre las clases de colonias y niveles de virulencia es debido a la presencia y cantidad de polisacárido extracelular producido por la bacteria.

Figura 4

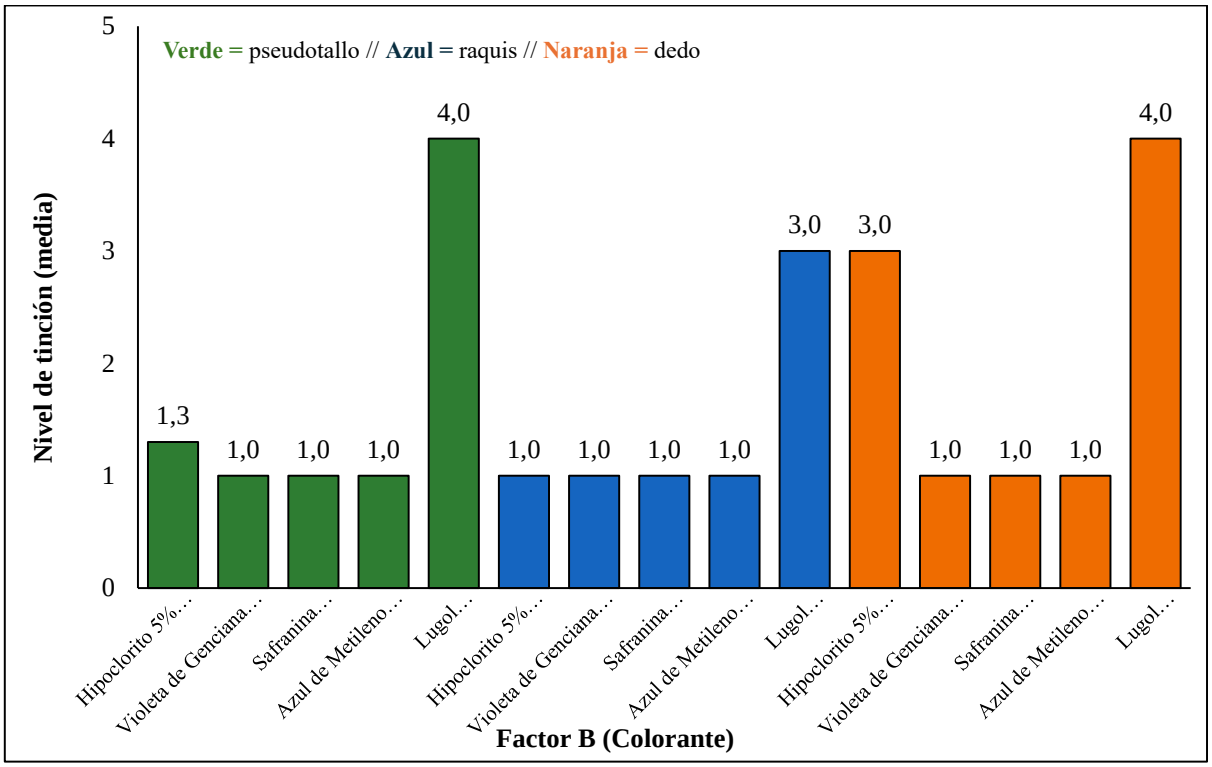
Promedios de nivel de tinción bacteria Ralstonia solanacearum en el cultivo de plátano (Musa AAB*), por tratamientos*



Al analizar los resultados de la prueba de Tukey (0,05) para la interacción factorial A*B (Tipos de colorantes * Partes de la planta) se observó que es la interacción Lugol en pseudotallo y en dedo, la que resultó con una alta tinción y cambio de coloración de colorante (Figura 5).

Figura 5

Promedios de nivel de tinción de la bacteria Ralstonia solanacearum en el cultivo de plátano (Musa AAB*)* en laboratorio



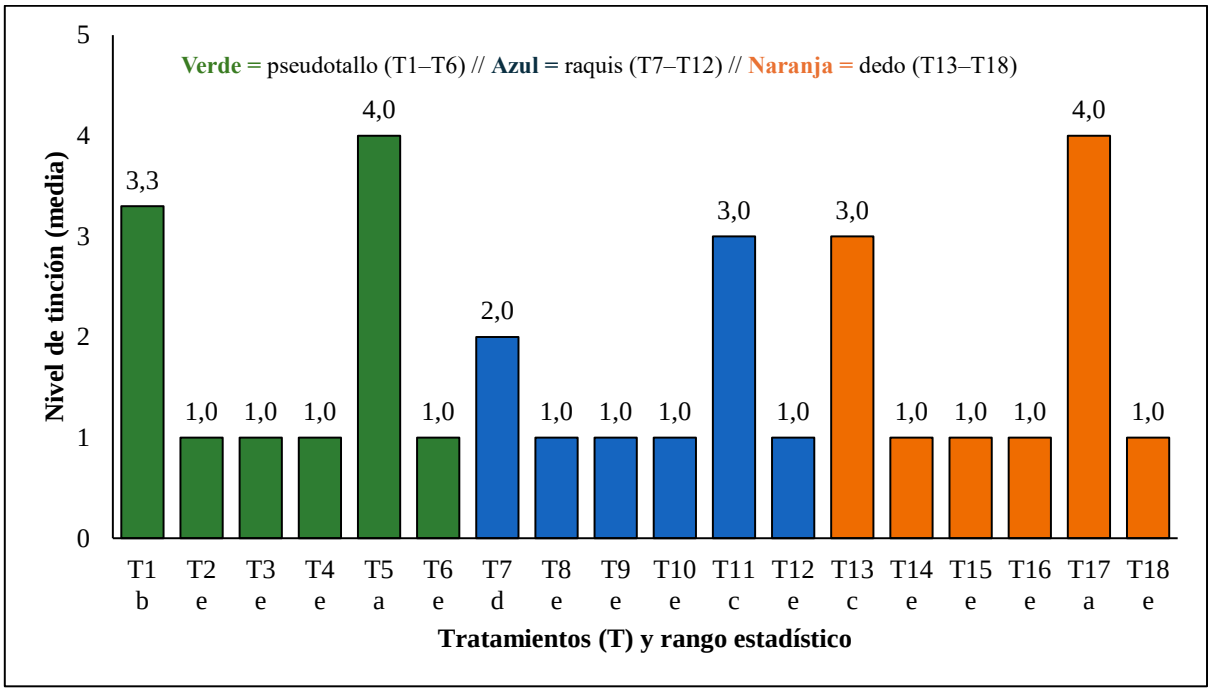
Nivel de tinción en campo

Los resultados del análisis de varianza para la variable de tinción de la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 en campo denotan diferencias estadísticas significativas ($p<0,01$) para las fuentes de variación: Tratamientos, factor A (Tipos de colorantes), factor B (Partes de la planta) y la interacción A x B (Tipos de colorantes * Partes de la planta).

En cuanto a tratamientos, los resultados de la prueba de Tukey (0,05) determinaron que es el T5 (Lugol en pseudotallo) y T17 (Lugol en dedo) tuvieron un valor de escala de 4, siendo estadísticamente iguales y diferentes al resto de tratamientos evaluados; es decir que estos tratamientos tuvieron una alta pigmentación del tejido enfermo evaluado en campo. El T3 (Hipoclorito 5% en pseudotallo) ocupó en segundo rango estadístico con un valor de 3,33, es decir su coloración fue de media a alta (Figura 6).

Figura 6

Promedios de nivel de tinción de la bacteria Ralstonia solanacearum en el cultivo de plátano (Musa AAB*), a nivel de campo por tratamientos*



Al apreciar las Figuras 7, 8 y 9, se observa que el Lugol da una tonalidad negra muy marcada y diferenciada del resto de tratamientos incluido el testigo, este hecho se debe a que no es una verdadera reacción química sino una reacción física indicando una coloración azul negro, es decir, que los átomos de yodo se introducen entre las espirales provocando la absorción o fijación de yodo en las moléculas del almidón (amilosa) como lo explica Aguiar et al. (2014).

Figura 7

Aplicación de los colorantes en pseudotallo de plátano afectado con moko

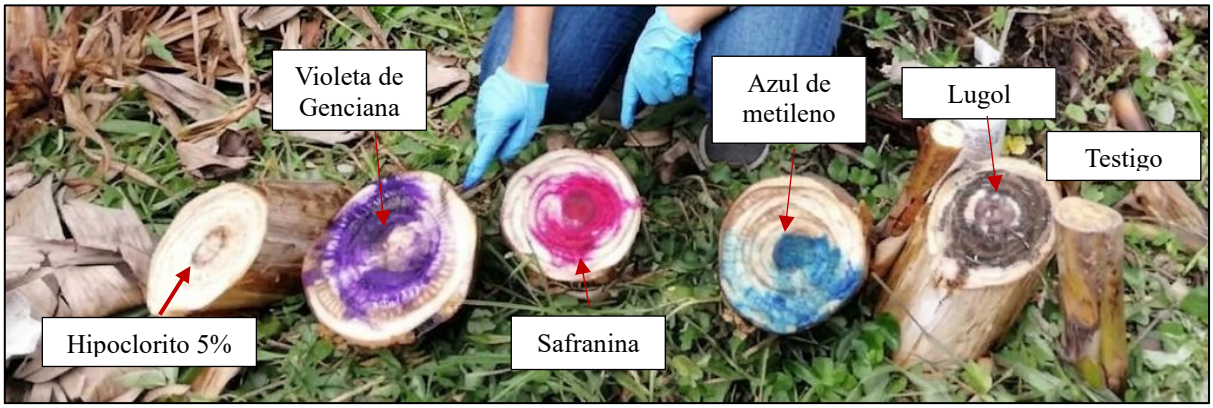


Figura 8

Aplicación de los colorantes en raquis de plátano afectado con moko

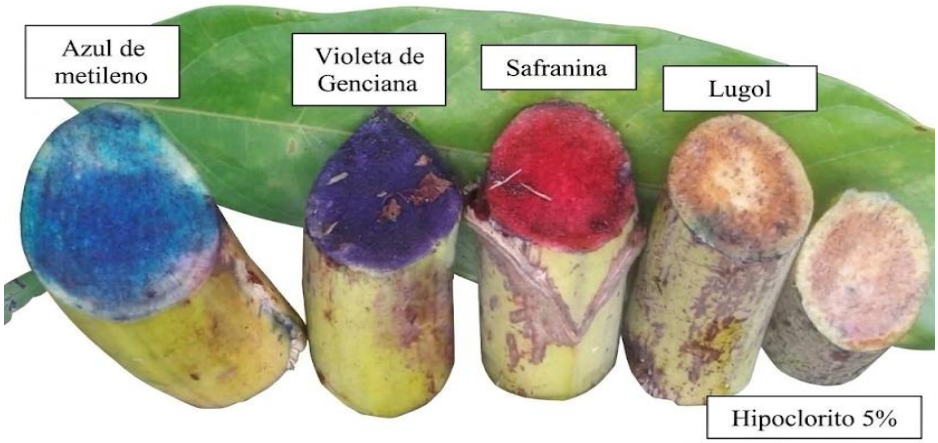
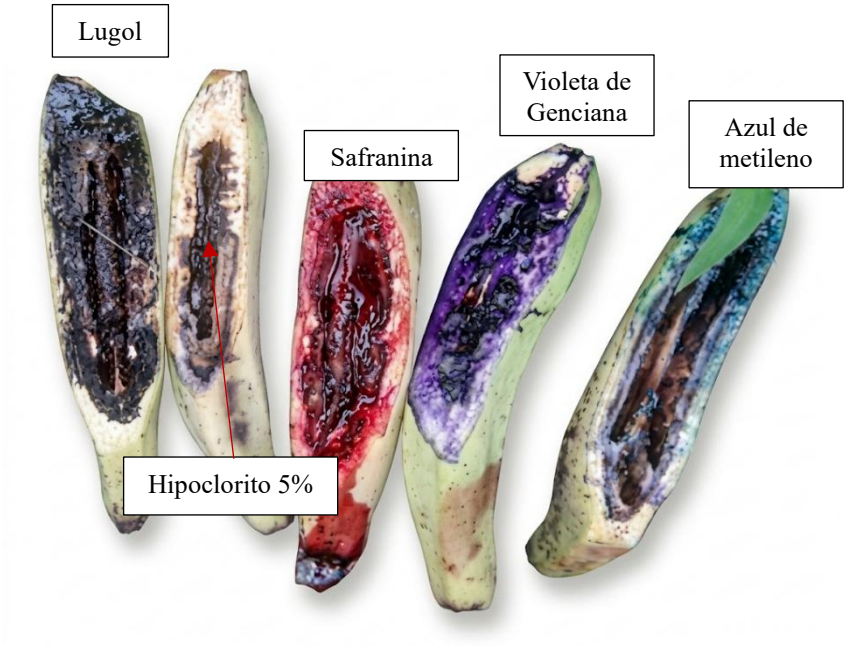


Figura 9

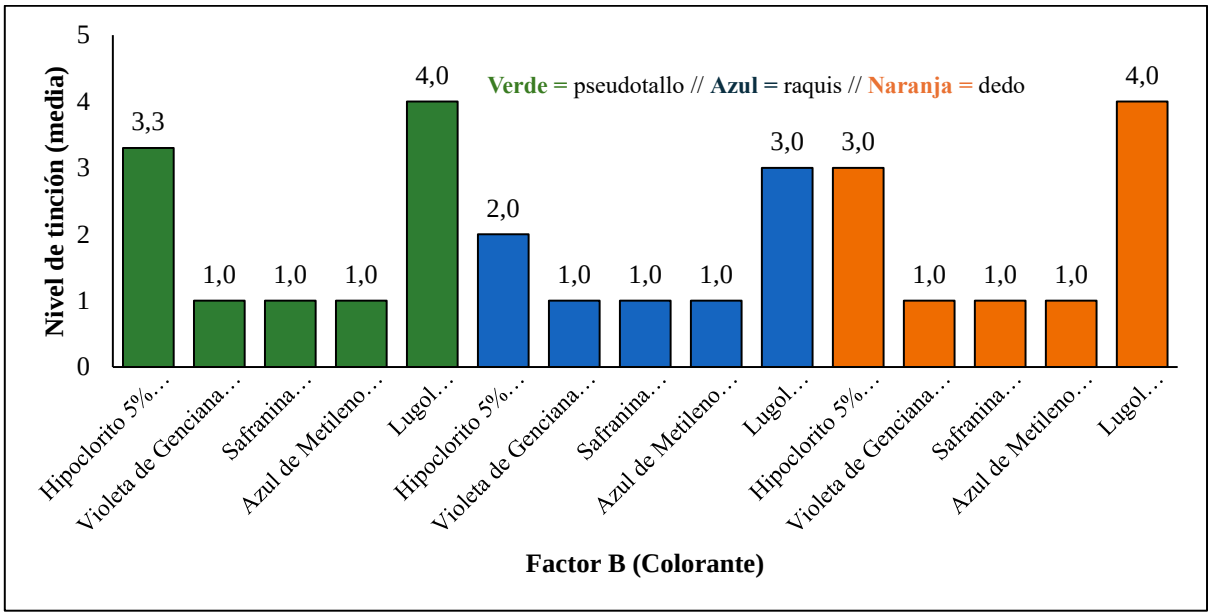
Aplicación de los colorantes en dedos de plátano afectado con moko



Al analizar los resultados de la prueba de Tukey (0,05) para la interacción factorial A*B (Tipos de colorantes * Partes de la planta) se observó que es la interacción Lugol en pseudotallo y en dedo la que resultó con una alta tinción y cambio de coloración de colorante (Figura 10). Este efecto a nivel de dedo se puede explicar por el contenido de almidón del fruto del plátano que es de 68,13% según Soto (2010); además del hecho que al contacto cambio de tonalidad del Lugol, este se debe a que es positiva la presencia de almidón como los sugiere (Hernández et al., 2017) en pruebas cualitativas de detección de almidón en diferentes tipos de plátanos.

Figura 10

Promedios de nivel de tinción de la bacteria Ralstonia solanacearum en el cultivo de plátano (Musa AAB*) a nivel de campo por efecto de interacción factorial*



Sin embargo, a nivel de pseudotallo el plátano barraganete tiene otra estructura la cual carece de almidón, hecho que lo corrobora Torres y Vera (2015), quien mencionan que la fibra del tallo de plátano y banano es una fibra de estopa natural, que tiene sus propias características físicas y químicas y muchas otras características que le hacen una fibra fina de calidad. Por lo cual, el Lugol reacciona con la presencia de las bacterias que provocan la enfermedad a nivel de pseudotallo.

CONCLUSIONES

Se definió qué el tipo de colorante que permite una coloración más visible de la bacteria de moko en laboratorio y campo fue el Lugol. Al comparar con muestras de tejidos enfermo de diferentes partes de la planta de plátano *Musa* AAB y su reacción ante los diferentes colorantes se determinó que es el pseudotallo, la parte que más se pigmenta. Además de ser la parte donde es más visible los síntomas de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, C., Carrillo, F., Díaz, S., Parreño, J., y Vallejo, L. (2014). *Prueba de almidón.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica & Farmacia. Obtenido de https://idoc.pub/documents/idocpub-en5k17zojpno

Alava, D., Vivas, J., y Meza, M. (2019). *Situación actual de la enfermedad del moko (Ralstonia solanacearum, Raza II) en el cultivo de plátano en el cantón El Carmen.* Obtenido de edisd.org/index.php/es/resumen-recibidos/11-linea-02-agricultura-y-ganaderia/536-situacion-actual-de-la-enfermedad-del-moko-ralstonia-solanacearum-raza-ii-en-el-cultivo-de-platano-en-el-canton-el-carmen

Belalcázar, S., Rosales, F. E., y Pocasangre, L. E. (2004). El "moko" del plátano y banano y el rol de las plantas hospederas en su epidemiología. *Memorias XVI Reunión Internacional ACORBAT*. Publicación especial, 16-34. http://acorbatinternacional.com/wp-content/uploads/2025/09/Memorias-Acorbat-2004.pdf

Castañeda, B. (2004). *Microbiología aplicada:manual de laboratorio - Zaloamati.* Obtenido de http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/1746/Microbiologia_aplicada_manual_de_laboratorio.pdf?%20sequence=3&isAllowed=y

Dirección General de Sanidad Vegetal. (febrero de 2016). *MOKO DEL PLÁTANO.* http://www.cesaveson.com/files/docs/campanas/vigilancia/fichas2016/mokoplatano.pdf

Hernández, I., Martínes, M., Contreras, R., y Pérez, R. (2017). *Extracción de almidón por el método seco en plátano macho, cuadrado y castilla.* Obtenido de https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Simulacion_y_Laboratorio/vol4num13/Revista_de_Simulacion_y_Laboratorio_V4_N13_1.pdf

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP. (2019). *Banano, plátano y otras musáceas.* Obtenido de http://www.iniap.gob.ec/pruebav3/banano-platano-y-otras-musaceas/

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO. (2019). *Estado del arte y opciones de manejo del moko y Sigatoka negra.* Obtenido de http://www.fao.org/3/a-as124s.pdf

Rodríguez, D., Hernández, Y., Casassa, A. y Arcia, M. (2020). *La Sociedad Venezolana de Fitopatología y su aporte a la Sanidad Vegetal del país.* Revista *Agronomía Tropical*, Vol. 70, Nº. 1-4. Obtenido de: https://zenodo.org/records/4323319

Salazar, C., Orellana, O., Quevedo, J. y Tuz, I. (2025). *Bacterias Gram Negativas (-) que Afectan al Cultivo de Banano en Cinco Cantones del sur del Ecuador.* Revista *Ciencia Latina.*, Vol. 9, Nº. 4, págs. 4708-4725. Obtenido de: https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/19113

Soto, V. (2010). *Cuantificacion de almidon total y de almidon resistente en harina de platano verde (musa cavendishii) y banana verde (Musa paradisíaca).* Obtenido de http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v27n2/v27n2a04.pdf

Torres, A. y Vera, A. (2015). *Análisis de la utilización del tallo del banano como fuente de fibra, para potencializar la producción de artesanías.* Obtenido de http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/17209/1/TESIS%20FINAL.pdf