

# Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE

## Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

### Carrera de Biotecnología

#### Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Evaluación del estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa x paradisiaca* L. (plátano) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko

**Autor:** Portilla Benalcázar Karen Andrea  
**Directora:** Mihai, Raluca Ph.D.

Sangolquí, 7 de marzo de 2023





Introducción

Objetivos

Metodología

Resultados y Discusión

Conclusiones

Recomendaciones

Agradecimientos

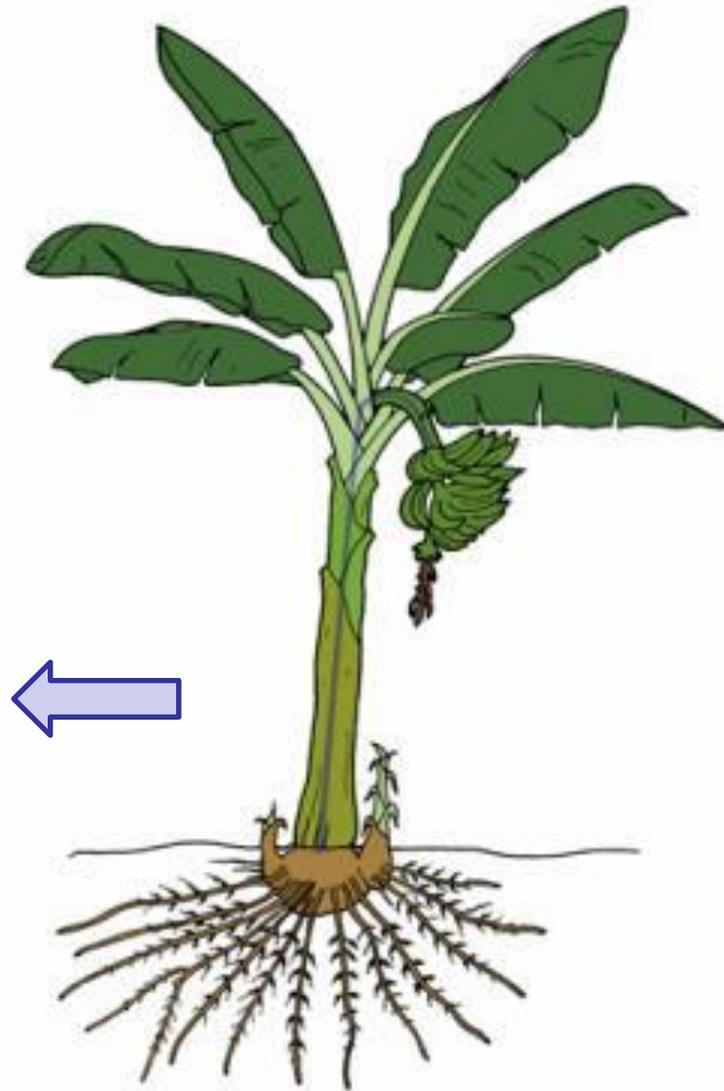
# INTRODUCCIÓN



África (72,7%)  
América (22,9%)  
Asia (4,3%)

Alimento de importancia mundial

- Riesgo a contraer diferentes enfermedades.
- Daños al tejido foliar y frutos.
- Disminución de la producción.



Manabí  
Santo Domingo  
Los Ríos

Pilar de la economía del país



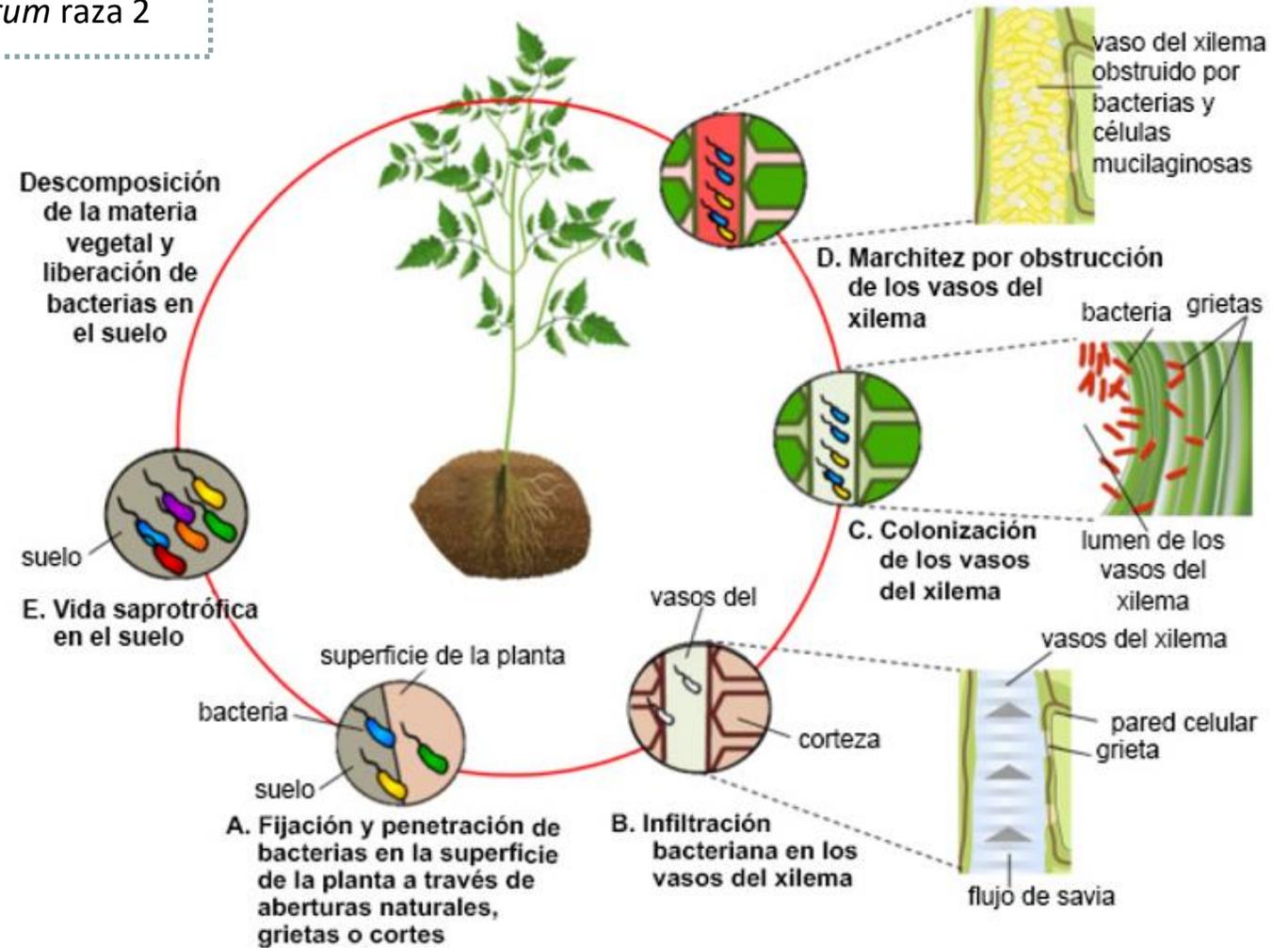
(Avellán et al., 2020; INIAP, 2015; EDANE, 2016)

VERSIÓN: 1.1

# INTRODUCCIÓN

Moko del plátano

*Ralstonia solanacearum* raza 2



- Enfermedad que ataca a las Musáceas a nivel mundial.
- Amarillamiento en hojas, marchitamiento, sequía y muerte de la planta.

## Mecanismos de defensa de las plantas

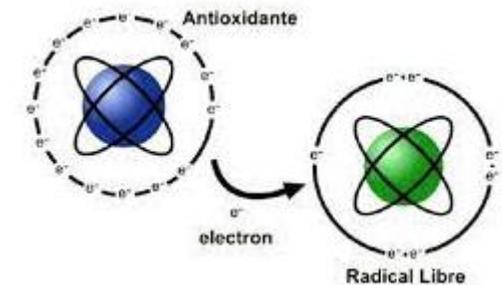
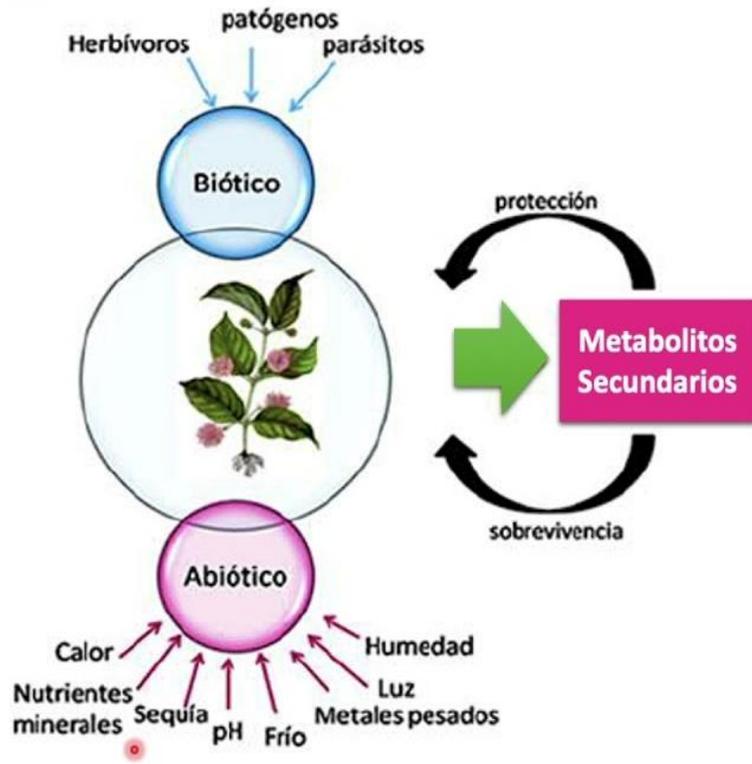
**Metabolitos primarios:** se producen cuando la planta se encuentra en crecimiento activo y tiene los nutrientes necesarios en el medio en el que se está desarrollando.

**Metabolitos secundarios:** son compuestos que se generan cuando las plantas son expuestas a condiciones de estrés, poseen actividad antimicrobiana y antioxidante.

**Fenoles:** sustancias que se generan como respuesta al ataque por patógenos.

**Flavonoides:** coloración, desarrollo y defensa frente a lesiones e infecciones

**Actividad Antioxidante:** moléculas que retardan o previenen la oxidación de otras moléculas .



(Camacho et al., 2020; Sepúlveda et al., 2004; Zaynab et al., 2019)



## Objetivo General

Evaluar el estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa x paradisiaca* L. (plátano) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko.

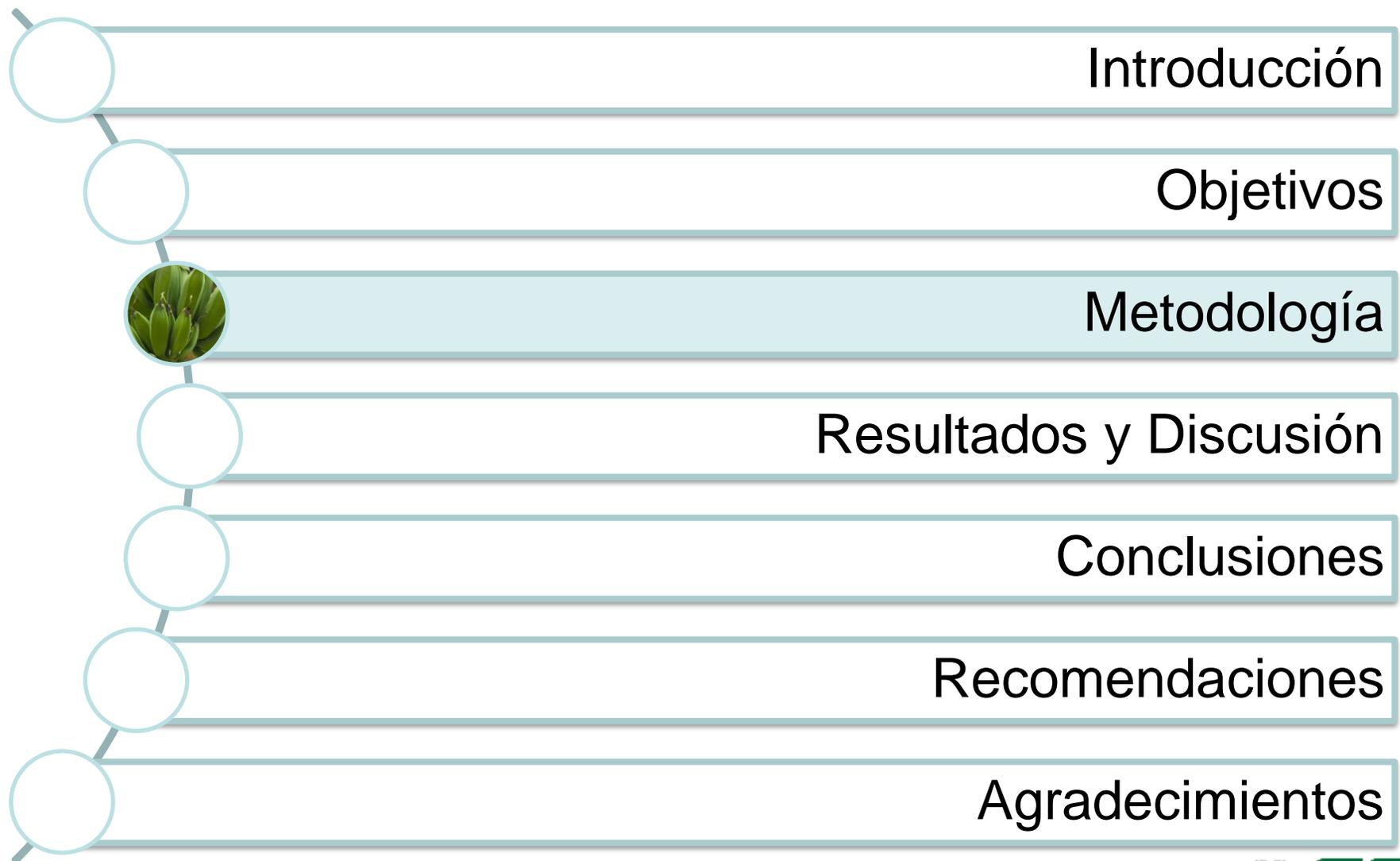
## Objetivos Específicos

- Recolectar muestras de plantas de plátano sanas e infectadas con el patógeno *Ralstonia solanacearum* raza 2 en tres estados diferentes de la enfermedad.
- Evaluar los estados nutricionales de las plantas de plátano sanas y afectadas por la enfermedad mediante análisis de suelo y foliares para determinar su relación en la defensa de la planta.
- Evaluar la concentración de metabolitos secundarios (fenoles y flavonoides) de las plantas de plátano, tanto sanas como infectadas por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2, usando métodos espectrofotométricos.
- Evaluar el carácter antioxidante de las plantas sanas y afectadas por la enfermedad del Moko en los tres estados de desarrollo de la enfermedad a través de los métodos DPPH, FRAP, y ABTS, para determinar su relación en la defensa de la planta.
- Comparar las características nutricionales, metabólicas y biológicas de las plantas de plátano sanas y afectadas por la enfermedad del Moko.

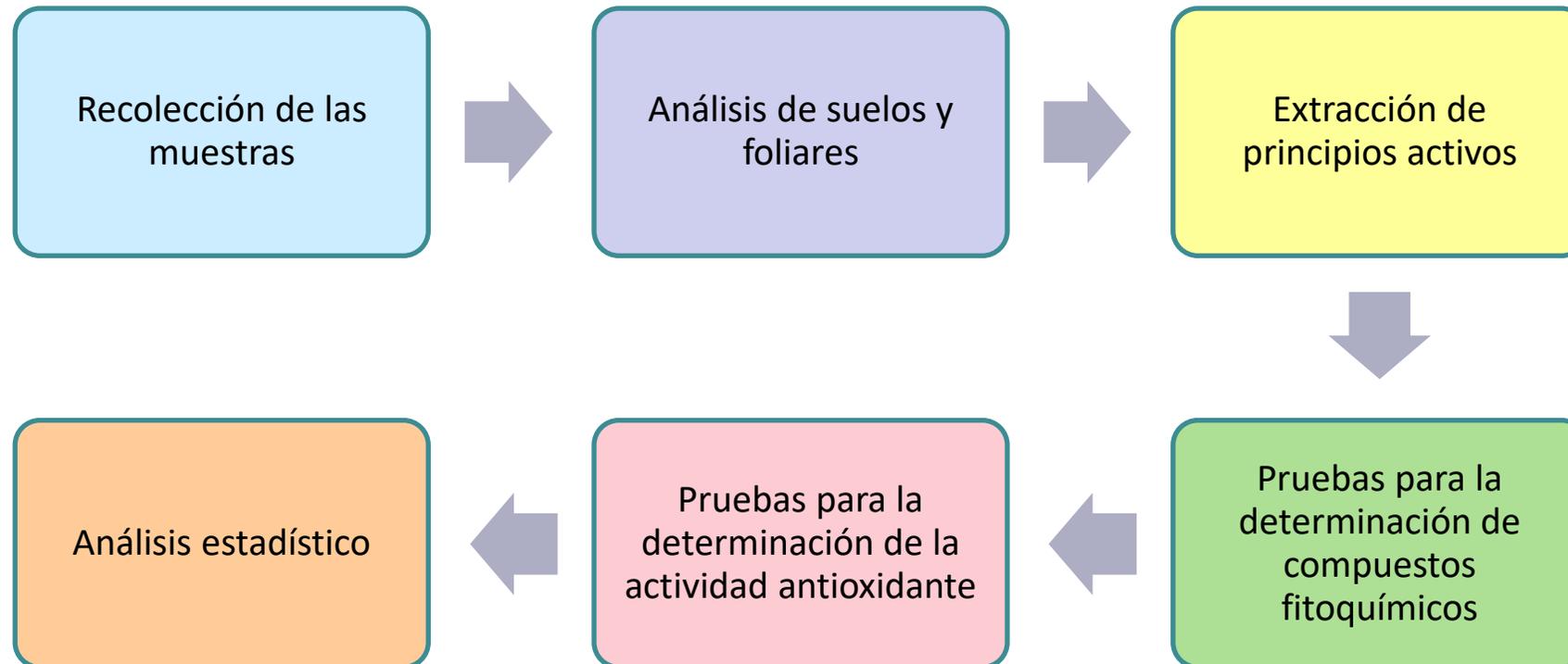
VERSIÓN: 1.1

El estado nutricional, la concentración de fenoles y flavonoides, y el carácter antioxidante se encuentran implicados en la defensa de plantas de *Musa x paradisiaca* L. afectadas por la enfermedad del Moko causada por *Ralstonia solanacearum* raza 2.





# METODOLOGÍA



VERSIÓN: 1.1

## Recolección de muestras



(Portilla, 2023)

Estación experimental INIAP – Santo Domingo

**Tabla 1.**

Nomenclatura de las muestras recolectadas

S	Plantas sanas
E1	Plantas enfermas en estado 1
E2	Plantas enfermas en estado 2
E3	Plantas enfermas en estado 3

## Análisis Nutricional

Absorción atómica: macro y micronutrientes

## Extracción de principios activos

Secado al aire libre por una semana



Maceramiento de las hojas



1g de muestra con 9 ml de etanol



Refrigeración



Reposo por 24h



(Portilla, 2023)

VERSIÓN: 1.1

## Determinación de compuestos fitoquímicos

### Fenoles

- Folin Ciocalteu
- 760 nm
- Ácido Gálico

### Flavonoides

- Aluminio
- 435 nm
- Quercetina

## Determinación de actividad antioxidante

### DPPH

- 517 nm
- TROLOX

### FRAP

- 593 nm
- Sulfato Ferroso

### ABTS

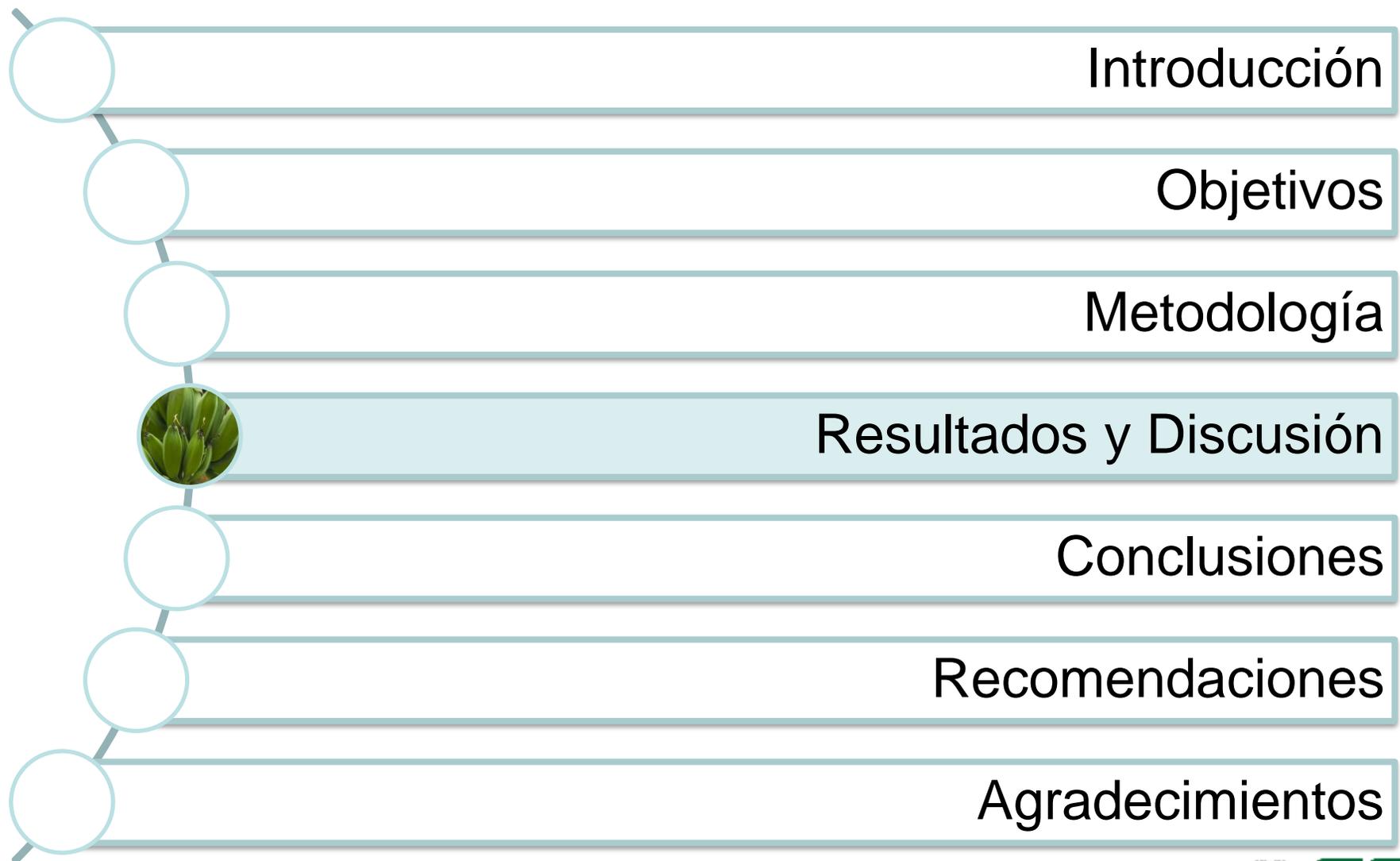
- 734 nm
- TROLOX

## Análisis Estadístico



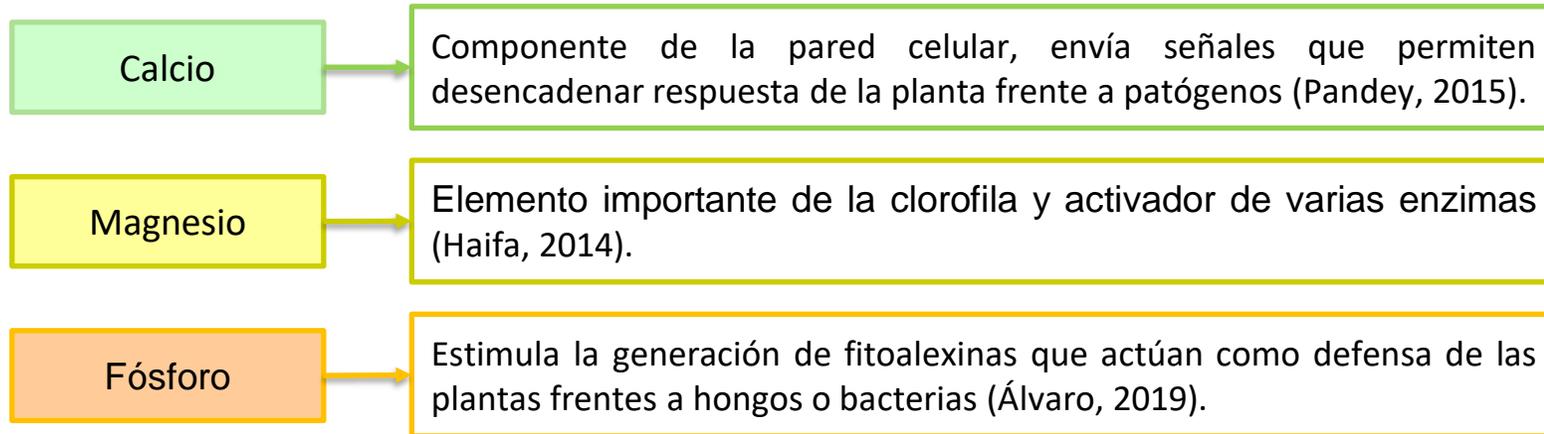
- Diseño factorial mixto 2x4 y 3x4
- Esquema con ANOVA de dos vías
- Prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%

VERSIÓN: 1.1



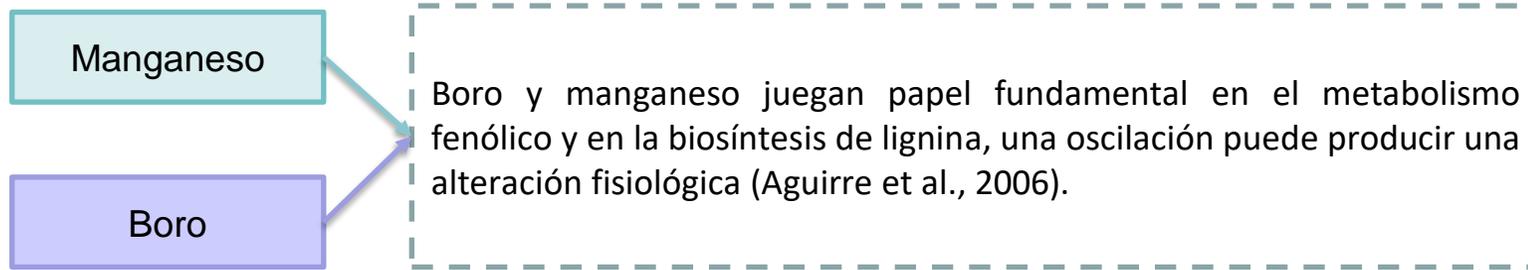
## Contenido Nutricional

### Deficiencia de nutrientes



El calcio y el boro son importantes para la fortaleza de la planta. Las plantas con deficiencia de estos elementos son las que más sufren respecto a enfermedades provocadas por patógenos y estrés ambiental (Haifa, 2014).

### Exceso de nutrientes



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Contenido de Fenoles y Flavonoides

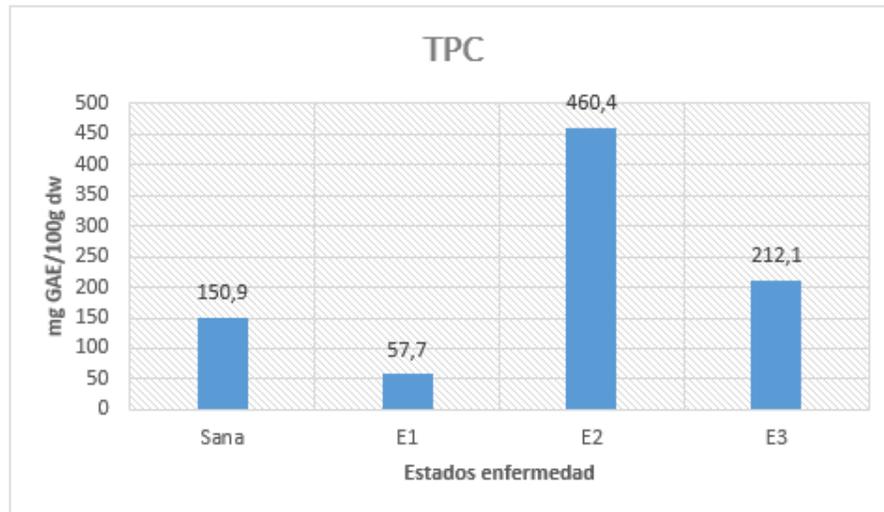
Resultados obtenidos del ensayo colorimétrico (fenoles)

Estado Enfermedad	TPC (mg GAE/100g dw)				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
Sana	157,043	128,125	167,666	150,944	16,709
E1	72,649	43,731	56,715	57,698	11,826
E2	431,469	482,813	46,879	460,387	21,458
E3	219,600	219,009	197,764	212,125	10,157

Comparación del contenido de Fenoles

$$y = 0,0061 x + 0,1393$$

(R2 = 0,9941)



(Terán, 2022); (Falowo et al., 2021)

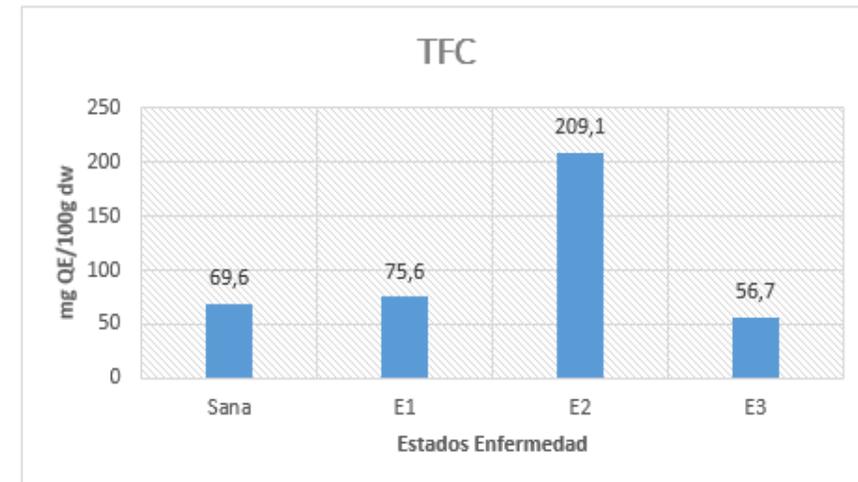
Resultados obtenidos del ensayo colorimétrico (flavonoides)

Estado Enfermedad	TFC (mg QE/100g dw)				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
Sana	69,3664	66,4671	72,9906	69,6080	2,6687
E1	78,0644	75,1651	73,7154	75,6483	1,8080
E2	198,3866	213,1248	215,7826	209,0980	7,6514
E3	58,2523	54,8698	57,0443	56,7221	1,3996

Comparación del contenido de Flavonoides

$$y = 0,0149 x + 0,0983$$

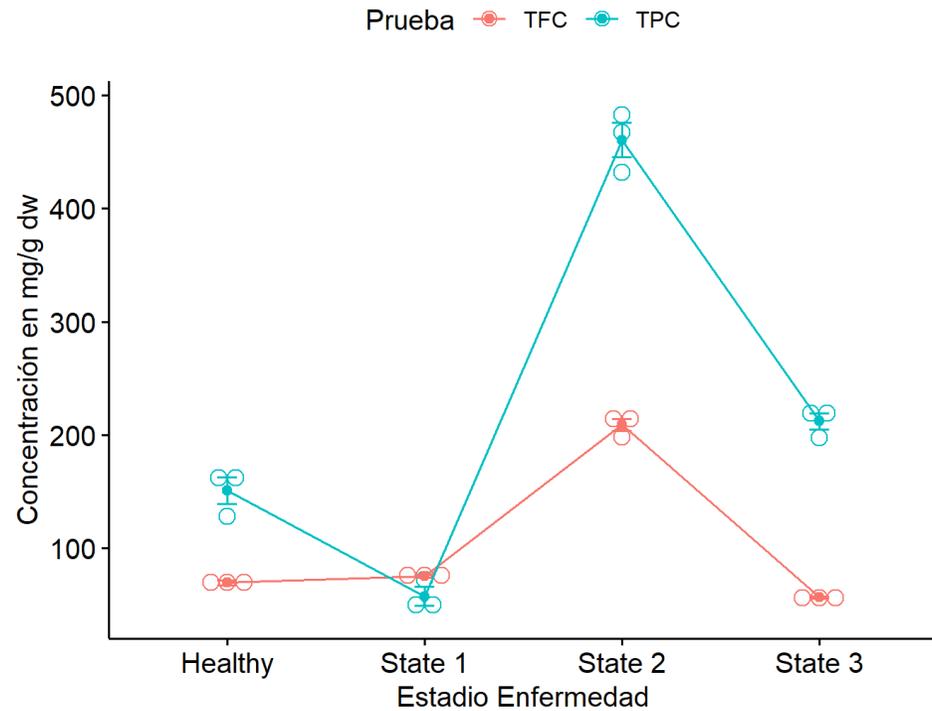
(R2 = 0,9915)



VERSIÓN: 1.1

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Contenido de Fenoles y Flavonoides



Prueba ANOVA de dos vías con interacción

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Prueba	1	82865	82865	419.48	6.63e-13
Estado	3	254172	84724	428.90	1.72e-15
Prueba-Estado	3	58486	19495	98.69	1.56e-10
Residuos	16	3161	198		

> TukeyHSD

Tukey multiple comparisons of means  
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Concentracion ~ Prueba + Estado + Prueba:Estado, data = verdecontent)

```
$Estado
      diff      lwr      upr
State 1-Healthy -43.60282 -66.8188278 -20.38680
State 2-Healthy  224.46629  201.2502730  247.68230
State 3-Healthy   24.14720    0.9311894   47.36321
State 2-State 1  268.06910  244.8530881  291.28511
State 3-State 1   67.75002   44.5340044   90.96603
State 3-State 2 -200.31908 -223.5350965 -177.10307
```

VERSIÓN: 1.1

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Actividad Antioxidante

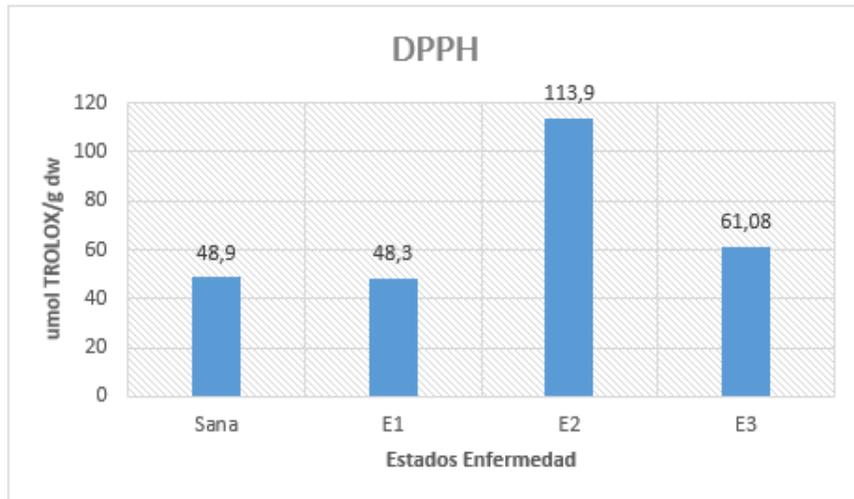
Resultados obtenidos del ensayo DPPH

Estado Enfermedad	DPPH (umol TROLOX/g dw)				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
Sana	45,0762	58,1294	43,7708	48,9921	6,4829
E1	55,7798	48,2089	40,8991	48,2959	6,07532
E2	111,3865	120,2627	110,3422	113,9972	4,4508
E3	64,9170	60,2179	58,1294	61,0881	2,8386

Comparación de la captura de radicales de DPPH.

$$y = 18,073 x + 1,2252$$

$$(R2 = 0,9868)$$



(Terán, 2022); (Kumar et al., 2020)

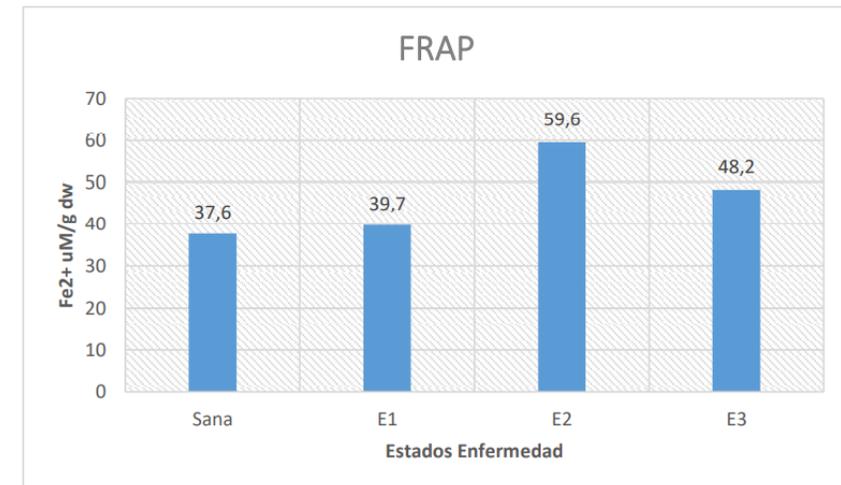
Resultados obtenidos del ensayo FRAP

Estado Enfermedad	Potencial reductor de Fe <sup>2+</sup> (Fe <sup>2+</sup> uM/g dw)				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
Sana	35,9097	39,5813	37,4144	37,6351	1,5070
E1	39,2201	39,4007	40,6647	39,7619	0,6426
E2	61,5509	59,1432	58,1802	59,6248	1,4175
E3	47,3459	49,9341	47,3459	48,2086	1,2200

Comparación del poder reductor férrico.

$$y = 0,5981 x + 0,0082$$

$$(R2 = 0,9989)$$



VERSIÓN: 1.1

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Actividad Antioxidante

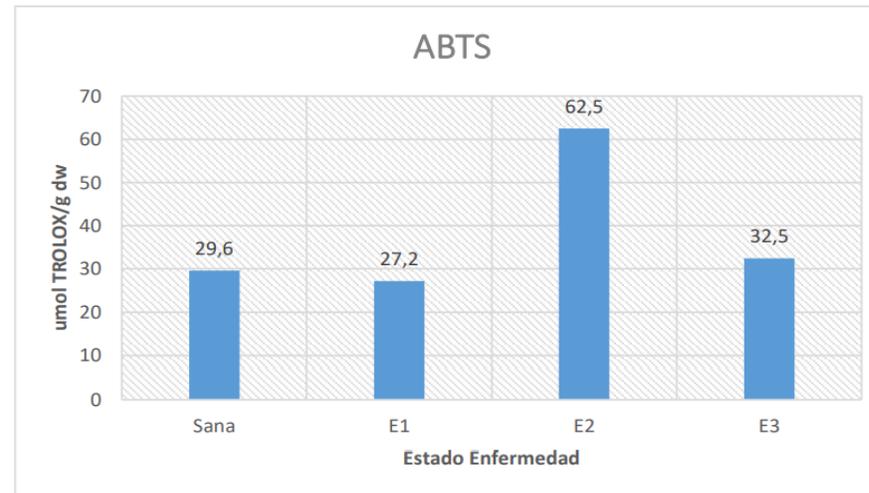
Resultados obtenidos del ensayo ABTS

Estado Enfermedad	ABTS (umol TROLOX/g dw)				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
Sana	30,7121	20,4960	37,8189	29,6757	7,1098
E1	25,9742	28,3431	27,3067	27,2080	0,9696
E2	61,0640	66,0980	60,4718	62,5446	2,5242
E3	34,7096	32,0446	30,8601	32,5381	1,6098

$$y = 34,102 x + 9,2946$$

(R<sup>2</sup> = 0,9612).

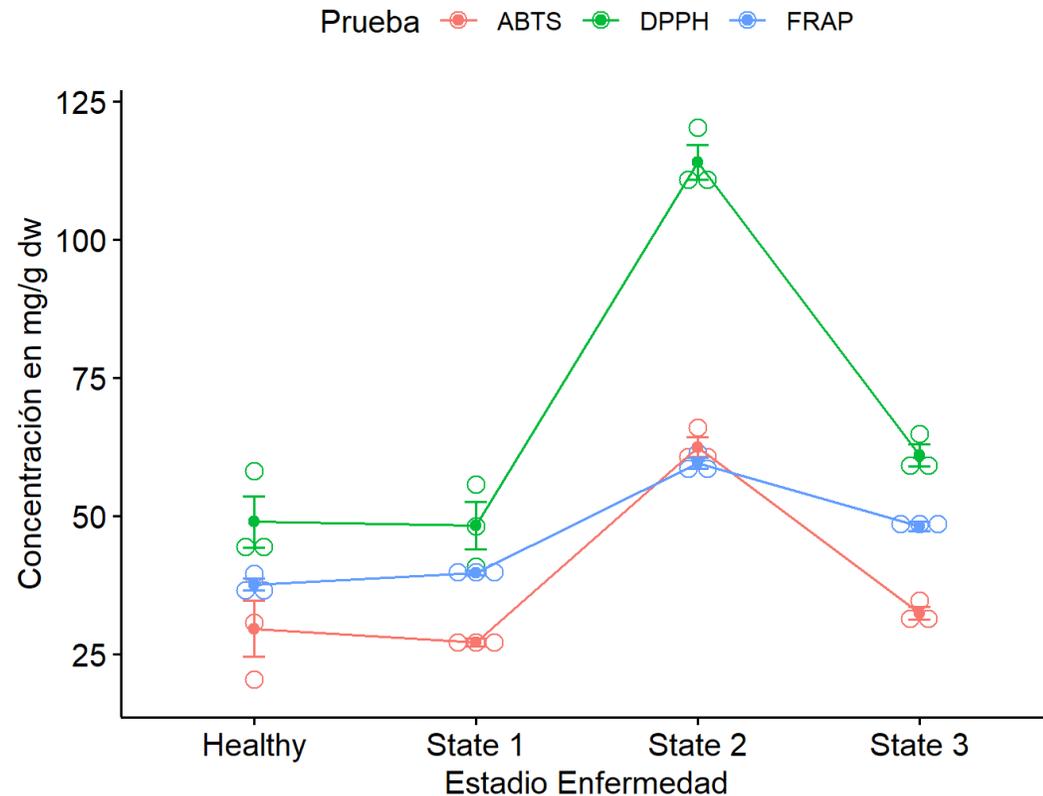
Comparación de la captura de radicales de ABTS.



VERSIÓN: 1.1

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Actividad Antioxidante



Prueba ANOVA de dos vías con interacciones

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Prueba	2	5800	2900	133.75	9.70e-14
Estado	3	9810	3270	150.84	1.05e-15
Prueba: Estado	6	2280	380	17.53	1.06e-07
Residuos	24	520	22		

> TukeyHSD

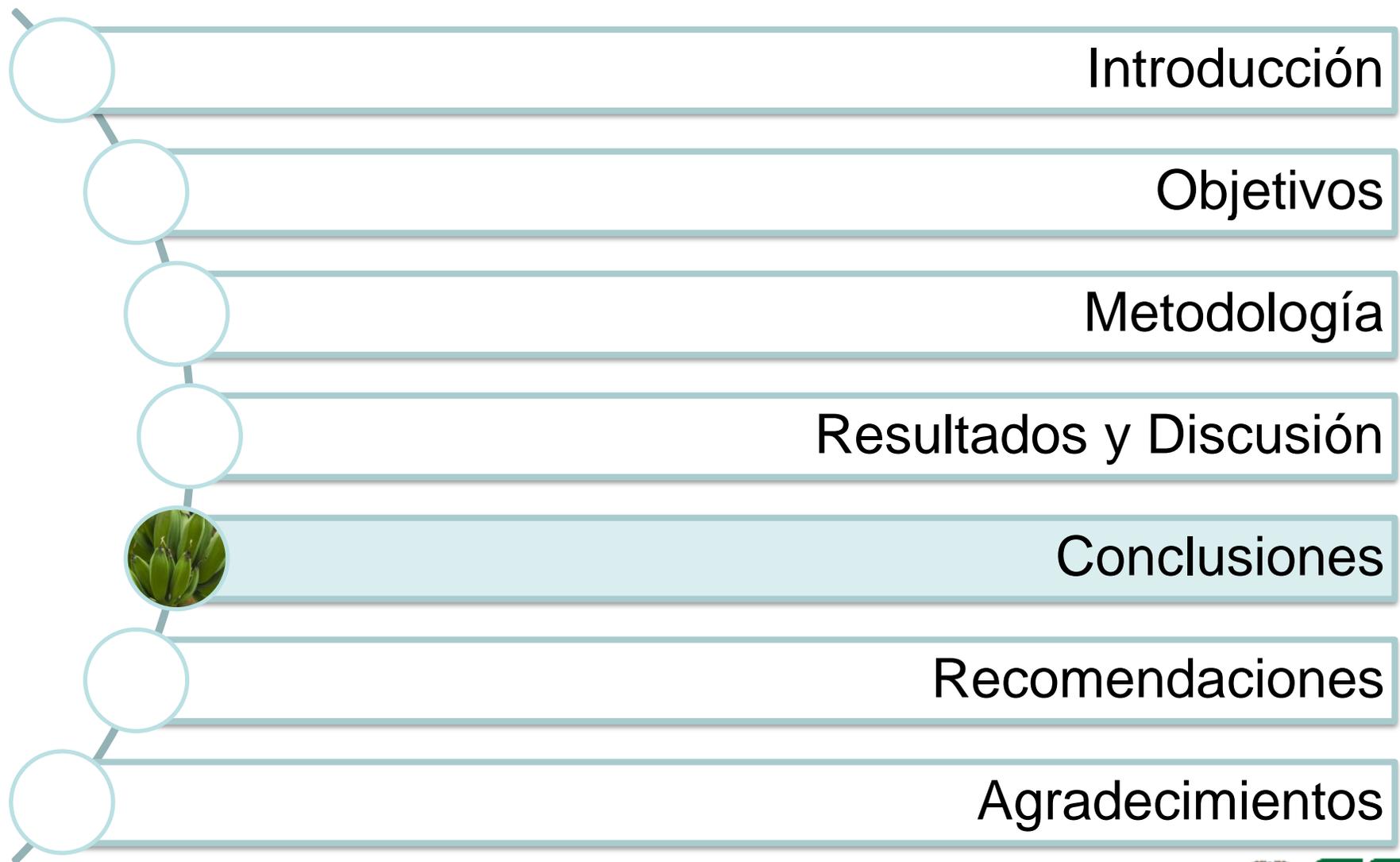
Tukey multiple comparisons of means  
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Resultado ~ Prueba + Estado + Prueba:Estado, data = verd  
eredox)

\$Estado

	diff	lwr	upr
state 1-Healthy	-0.3456915	-6.400719	5.709336
state 2-Healthy	39.9545522	33.899525	46.009579
state 3-Healthy	8.5106456	2.455618	14.565673
state 2-state 1	40.3002437	34.245216	46.355271
state 3-state 1	8.8563370	2.801310	14.911364
state 3-state 2	-31.4439067	-37.498934	-25.388879

VERSIÓN: 1.1



# CONCLUSIONES



Se hizo una identificación de plantas de *Musa x paradisiaca* L. sanas y afectadas por la enfermedad del Moko, en donde en base a la sintomatología se distinguieron tres estados diferentes de la enfermedad en las plantas para recolectar las muestras necesarias.



El contenido nutricional del suelo es primordial para abastecer de los elementos necesarios al metabolismo primario, porque brinda el sustrato a usarse para la síntesis de los metabolitos secundarios que se encuentran implicados en la defensa de las plantas.



En la evaluación metabólica, se determinó un mayor contenido de fenoles y flavonoides en las plantas de plátano en estado 2, debido al mecanismo de defensa frente a la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 para poder sobrevivir. En el análisis biológico también se obtuvo una mayor capacidad antioxidante en las plantas E2, lo que estaría relacionado con la cantidad de fenoles y flavonoides.



	Introducción
	Objetivos
	Metodología
	Resultados y Discusión
	Conclusiones
	Recomendaciones
	Agradecimientos

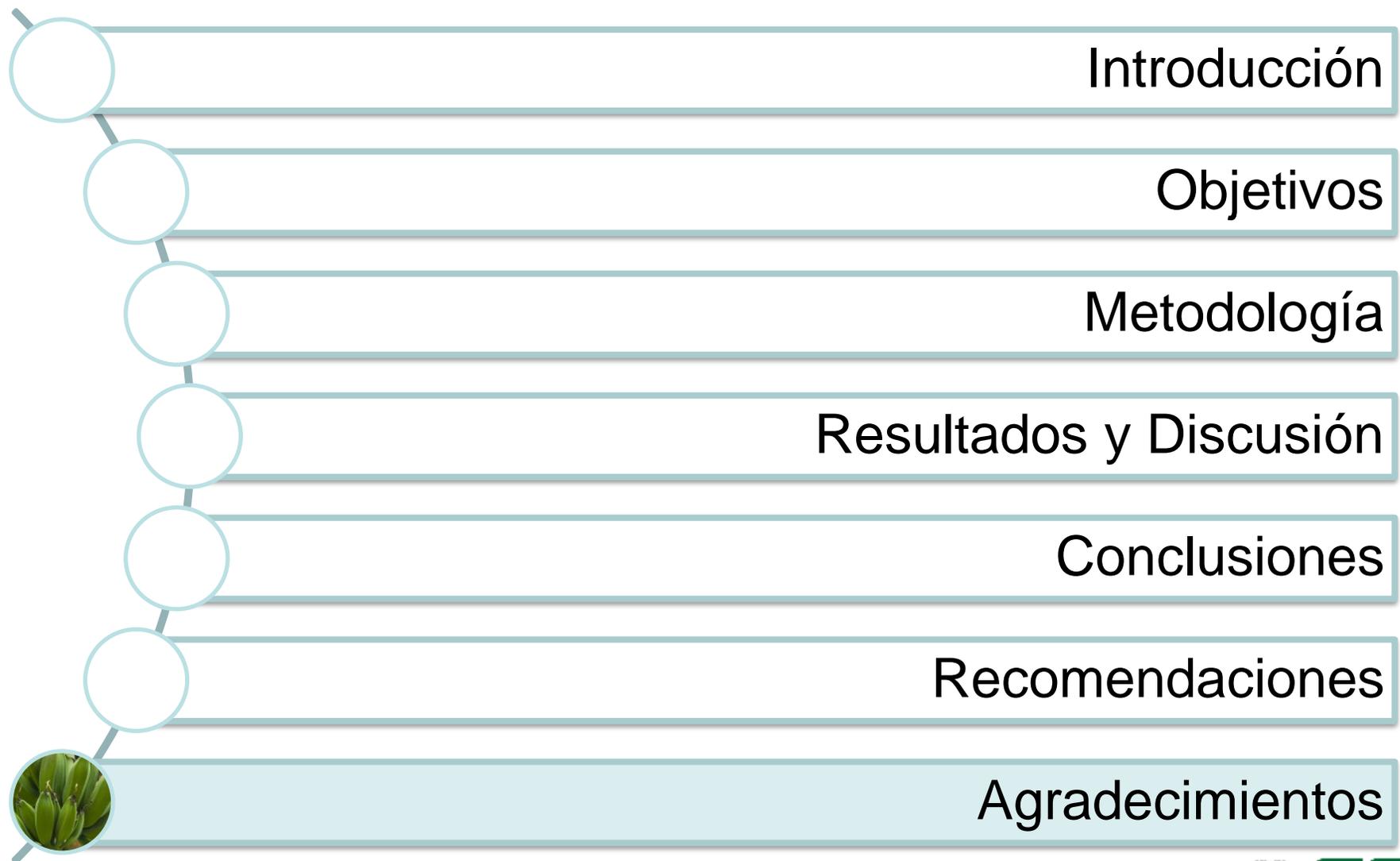
# RECOMENDACIONES



Dado que los análisis metabólicos y biológicos son usados comúnmente en la evaluación de alimentos, sería importante que dichos análisis sean aplicados con más frecuencia a estudios relacionados con la influencia de los metabolitos en la defensa de las plantas frente a patógenos.

Se debería realizar más estudios que relacionen el contenido nutricional con la capacidad que tienen las plantas para defenderse, para así lograr determinar de manera más clara si existe algún nutriente que pueda evitar la pérdida significativa de plantaciones cuando son atacadas por microorganismos infecciosos.

VERSIÓN: 1.1



# AGRADECIMIENTOS



Universidad de las Fuerzas  
Armas - ESPE



Carrera de Biotecnología



**Tutora de UIC:** Raluca Mihai Ph.D.  
**Amigos de laboratorio:** Erly, Nelson, Alejo



Mi Familia y Amigos

VERSIÓN: 1.1