



UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Trabajo de Integración Curricular, Previo a la Obtención del Título de Ingeniera en Biotecnología

“Evaluación del estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko.”

Autora: Ramos Guaytarilla, Lissette Estefanía

Directora: Raluca Alexandra Mihai, Ph.D.

Sangolquí, 07 de marzo 2023



CONTENIDO

01

Introducción

02

Objetivos

03

Hipótesis

04

Materiales y métodos

05

Resultados y discusión

06

Conclusiones

07

Recomendaciones

08

Agradecimientos



INTRODUCCIÓN

Musáceas



Sudeste asiático

Más de mil variedades



2018



Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

6,64 millones de toneladas anuales

Baby banana - Producto revelación 2020

- 169% ventas internacionales
 - \$ 296,4 millones
 - 35 destinos



8000 hectáreas

Es cultivada en El Oro, Cotopaxi, Guayas, Bolívar, Esmeraldas y Santo Domingo

Baby Banana beneficios de nutrición e información técnica.



Magnesio

Necesario para la síntesis de las proteínas, mejora la función cerebral, muscular y nerviosa, balance de electrolitos, etc.



Potasio

Necesario para producir proteínas, desarrollar los músculos, controlar la actividad eléctrica del corazón, etc.



Vitamina C

Poderoso antioxidante, incrementa las defensas, protege el sistema circulatorio, disminuye el colesterol, etc.



Fibra

Aumenta la absorción de minerales, reduce el estreñimiento, nivela el colesterol, regula el azúcar en la sangre, etc.

(TENKA,2021)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

INTRODUCCIÓN

Enfermedad del Moko

Ralstonia solanacearum raza 2

Afecta más de 200 especies

Latente en el suelo

Pérdidas del 70-100%

- Marchitez
- Taponamiento de haces vasculares
- Amarillamiento de hojas

2021

84 hallazgos confirmados en 11 provincias

2013
Plátano barraganete

- Eliminación de nueve plantas aparentemente sanas por una afectada
- Prevenir costos altos
- No existe método para controlar la enfermedad del Moko



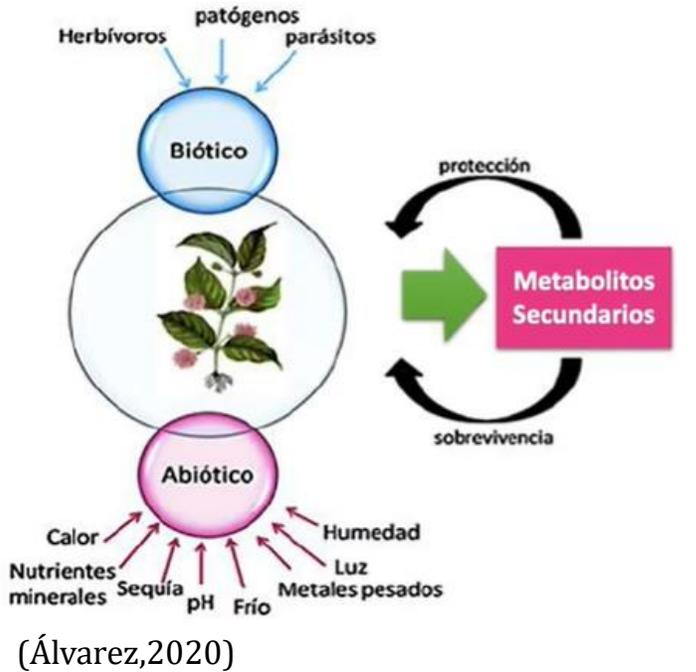
(FAO,2013) (Obregón et al., 2008) (AGROCALIDAD, 2022)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

INTRODUCCIÓN

Mecanismo de defensa



Macronutrientes

N, K, Mg, Ca, P y S

Micronutrientes

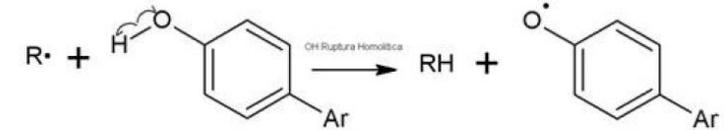
Mn, Fe, Zn, Cu, Co y Ni

Compuestos fenólicos

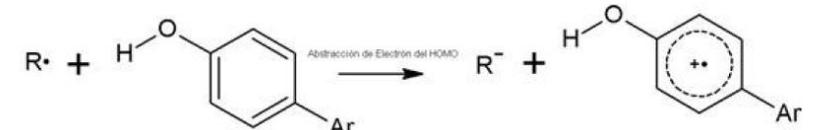
- Distribución amplia
- Antioxidantes – captadores de radicales libres
- Protección de agentes externos

1. Reacciona con el radical libre, con la transferencia de un átomo de hidrógeno.
2. El oxidante transfiere un electrón singlete a la molécula del polifenol

1 Transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT)



2 Transferencia de un electrón (SET)



(Mendoza,2020)

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko.

Objetivos Específicos

Recolectar muestras de plantas de orito sanas e infectadas con el patógeno *Ralstonia solanacearum* raza 2, en las tres etapas del desarrollo de la enfermedad.

Determinar el contenido nutricional de las plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad del Moko, empleando análisis de suelo y foliares para establecer su rol en la defensa de la planta.

Analizar la concentración de principios activos (fenoles y flavonoides) implicados en la defensa de las plantas de orito, tanto sanas como infectadas por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 empleando métodos espectrofotométricos.

Medir la capacidad antioxidante mediante ensayos espectrofotométricos DPPH, FRAP y ABTS en plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad de Moko cursando las tres etapas del desarrollo de la enfermedad, para establecer su rol en la defensa de la planta.

Realizar comparaciones de las características metabólicas, nutricionales y biológicas de plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad del Moko.



HIPÓTESIS

El estado nutricional, la concentración de principios activos y la capacidad antioxidante están relacionados con la defensa de las plantas de *Musa acuminata* Colla, frente a la enfermedad del Moko.



MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio



Provincia: Sto. Domingo de los Tsáchilas

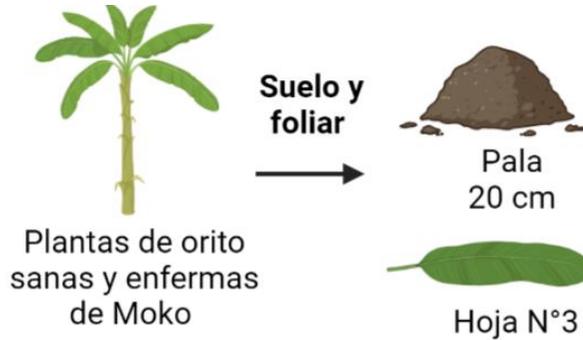
Cantón: Sto. Domingo

Parroquia: El Esfuerzo

Hacienda: Las Marías

Coordenadas: 0 °53.3'22S, 79 °46.5'12W

Recolección de muestras



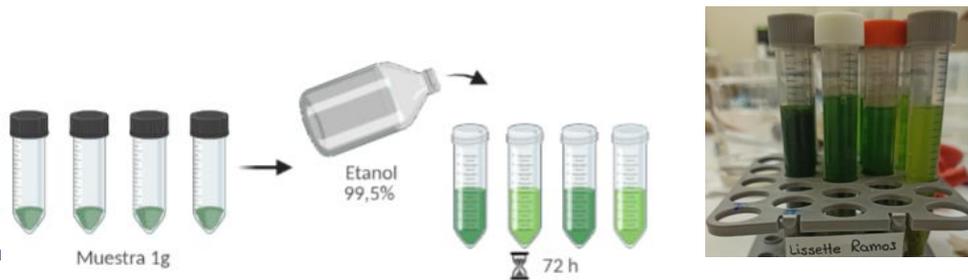
Identificación de muestras

Muestra	Nombre	Abreviatura
1	Plantas de orito sanas	H
2	Plantas de orito cursando etapa inicial de la enfermedad	St I
3	Plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad	St II
4	Plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad	St III

Contenido nutricional

Absorción atómica: Macro y micronutrientes

Obtención de extractos



Principios activos

Método Folin Ciocalteu

Curva de calibración: Ácido gálico



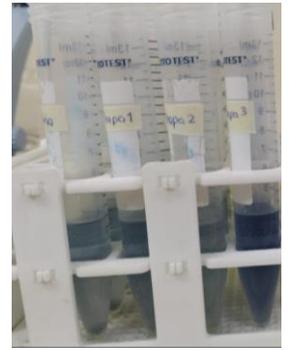
Prueba: Muestra, agua destilada, reactivo de Folin 1N, Na_2CO_3 al 20%

Método AlCl_3

Curva de calibración: Quercetina



Prueba: Muestra, etanol 99,5%, CH_3COONa 1M, AlCl_3 al 10% y agua destilada



765 nm



435 nm



Capacidad antioxidante

Curva de calibración: Trolox y solución acuosa de sulfato ferroso.

DPPH

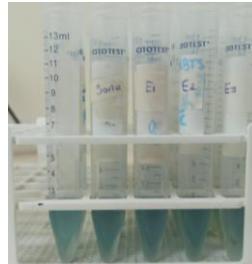
Prueba: Muestra, solución DPPH 0,2 mM



517 nm

ABTS

Prueba: Muestra y solución de ABTS 7 mM y persulfato de potasio 2,45 mM



734 nm

FRAP

Prueba: Solución FRAP.-buffer acetato, TPTZ en HCl y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, muestra y agua destilada



593 nm

Análisis estadístico

- Diseño 2x4 y 3x4
- ANOVA doble vía
- Prueba Tukey



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de suelo de plantas de orito sanas y enfermas de Moko.

Parámetro Analizado	Unidad	Contenido adecuado			Suelo sano	Resultado	Suelo con presencia de la Enfermedad del Moko	Resultado
		Bajo	Medio	Alto				
pH a 25°C	---	-	-	-	6,59	Neutro	6,36	Ligeramente ácido
Materia orgánica	%	< 3,1	3,1- 5,0	> 5,0	4,15	Medio	3,95	Medio
Nitrógeno	%	< 0,15	0,15-0,30	> 0,30	0,21	Medio	0,20	Medio
Fósforo	mg/kg	< 8,0	8,0-14,0	> 14,0	7,9	Bajo	5,3	Bajo
Potasio	cmol/kg	< 0,20	0,20-0,40	> 0,40	0,27	Medio	0,13	Bajo
Calcio	cmol/kg	< 5,0	5,0-9,0	> 9,0	5,14	Medio	2,50	Bajo
Magnesio	cmol/kg	< 1,6	1,6-2,3	> 2,3	1,02	Bajo	0,72	Bajo
Hierro	mg/kg	< 20,0	20,0-40,0	> 40,0	225,4	Alto	247,7	Alto
Manganeso	mg/kg	< 5,0	5,0-15,0	> 15,0	4,41	Bajo	2,42	Bajo
Cobre	mg/kg	< 1,1	1,1-4,0	> 4,0	7,81	Alto	7,74	Alto
Zinc	mg/kg	< 3,0	3,0-7,0	> 7,0	3,26	Medio	1,64	Bajo
Boro	mg/kg	< 0,20	0,20-0,49	> 0,49	1,34	Alto	2,32	Alto
Azufre	mg/kg	< 6,0	6,0-11,0	> 11,0	14,85	Alto	14,34	Alto

Suelos tropicales y subtropicales



Exceso de Fe y Al
Deficiencia Mg

Desequilibrio nutricional



Mayor susceptibilidad o agresividad de las enfermedades

Relación K:Mg



Mayor incidencia de enfermedades en banano



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de nutrientes en plantas de orito sanas y enfermas de Moko.

Parámetro Analizado	Unidad	Plantas de orito sana	Plantas de orito enferma
Cenizas	%	9,86	13,55
Materia Orgánica	%	90,14	86,45
Nitrógeno	%	2,49	2,45
Fósforo	%	0,14	0,12
Potasio	%	4,03	4,45
Calcio	%	0,48	0,78
Magnesio	%	0,22	0,13
Hierro	mg/kg	93,93	114,95
Manganeso	mg/kg	59,46	97,46
Cobre	mg/kg	8,99	7,00
Zinc	mg/kg	18,49	15,99
Boro	mg/kg	11,50	11,00
Azufre	%	0,21	0,26

P

Estimula la generación de fitoalexinas

Ca

Biosíntesis de polifenoles y flavonoides

Mg

Inactivación de metabolitos

Zn

Aumenta la síntesis de flavonoides



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de fenoles

Disease Stage	TPC (mg GAE/g dw)				
	R1	R2	R3	Mean	St.Dev.
H	1,192	1,449	0,971	1,204	0,195
St. I	2,126	2,069	1,670	1,955	0,203
St. II	4,049	4,315	3,978	4,114	0,145
St. III	1,389	1,362	1,401	1,384	0,016

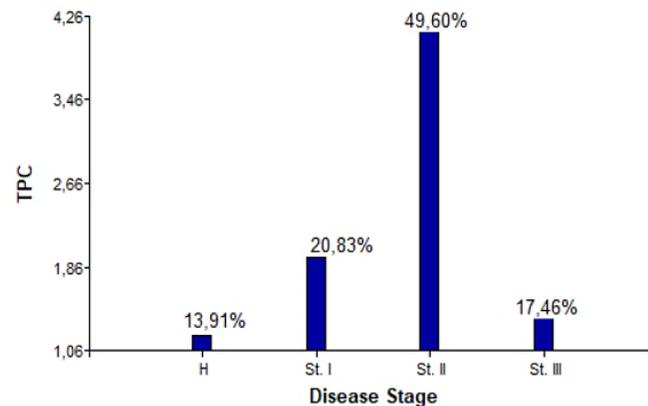
- Impedir invasión de la plaga
- Ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido rosmarínico, catequina

Contenido de flavonoides

Disease Stage	TFC (mg QE/g dw)				
	R1	R2	R3	Mean	St.Dev.
H	0,394	0,394	0,488	0,425	0,044
St. I	1,900	1,708	1,796	1,801	0,078
St. II	3,054	2,510	2,193	2,586	0,355
St. III	0,244	0,245	0,235	0,242	0,005

- **Enfermas:** 2,36 mg QE/g
- Limitan la invasión de patógenos

$$y=0,0061x+0,1393 \text{ (R= 0,9941)}$$



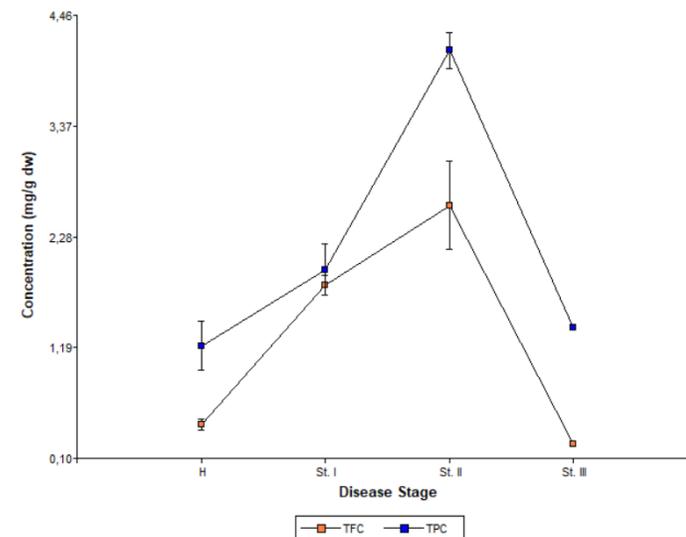
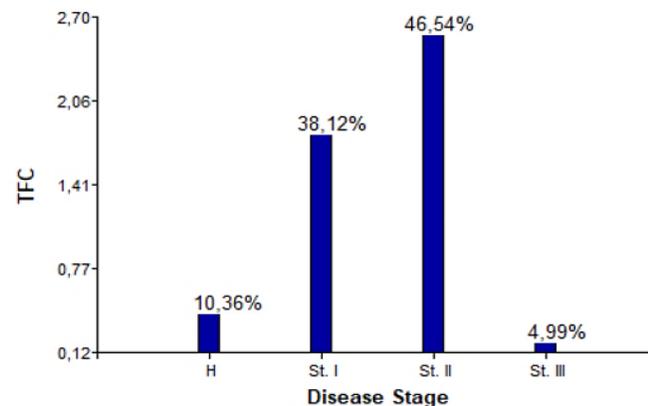
Prueba de significancia Tukey sobre el contenido de fenoles y flavonoides de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas.

Error: 0,0441 gl: 16

Disease Stage	Assay	Medias	n	E.E.
St. III	TFC	0,24	3	0,12 A
H	TFC	0,43	3	0,12 A
H	TPC	1,20	3	0,12 B
St. III	TPC	1,38	3	0,12 B C
St. I	TFC	1,80	3	0,12 C
St. I	TPC	1,96	3	0,12 C
St. II	TFC	2,59	3	0,12 D
St. II	TPC	4,11	3	0,12 F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

$$y=0,0149x+0,0983 \text{ (R=0,9915)}$$

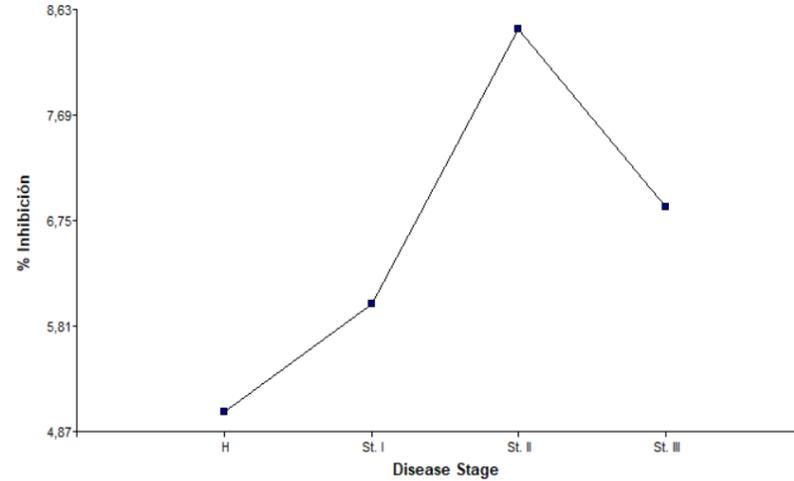


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DPPH

$$y=18.073x+1.2252 \text{ (R= 0.9868)}$$

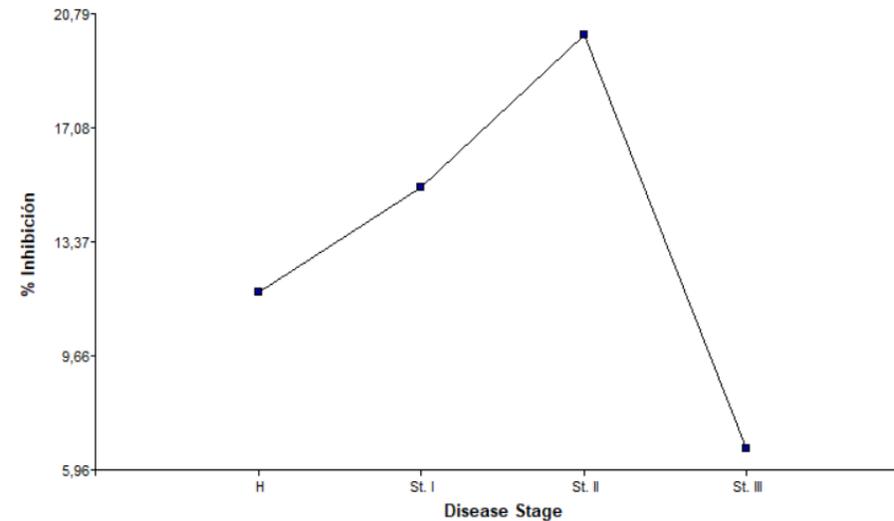
Disease Stage	DPPH ($\mu\text{mol TROLOX/g dw}$)					
	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.	% Inhibición
H	14,876	14,464	14,051	14,464	0,337	5,045
St. I	15,702	18,593	17,767	17,354	1,216	6,012
St. II	24,375	25,201	24,375	24,650	0,389	8,454
St. III	19,901	19,970	19,586	19,819	0,167	6,870



ABTS

$$y=34,102+9.2946 \text{ (R=0.9612)}$$

Disease Stage	ABTS ($\mu\text{mol TROLOX/g dw}$)					
	R1	R2	R3	Mean	St.Dev.	% Inhibición
H	13,708	17,355	17,355	16,139	1,719	11,741
St. I	22,998	21,539	20,119	21,552	1,175	15,160
St. II	28,142	28,142	31,904	29,396	1,773	20,113
St. III	10,407	10,292	8,487	9,729	0,879	6,630



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FRAP

$$y=0,5981x-0,0082 \quad (R=0,9989)$$

Disease Stage	Fe ²⁺ Reduction Potential (Fe ²⁺ umol/g dw)				
	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.
H	13,674	13,493	14,170	13,779	0,286
St. I	38,502	38,502	36,742	37,916	0,830
St. II	41,392	43,408	40,609	41,803	1,179
St. III	17,409	17,499	19,967	18,291	1,185

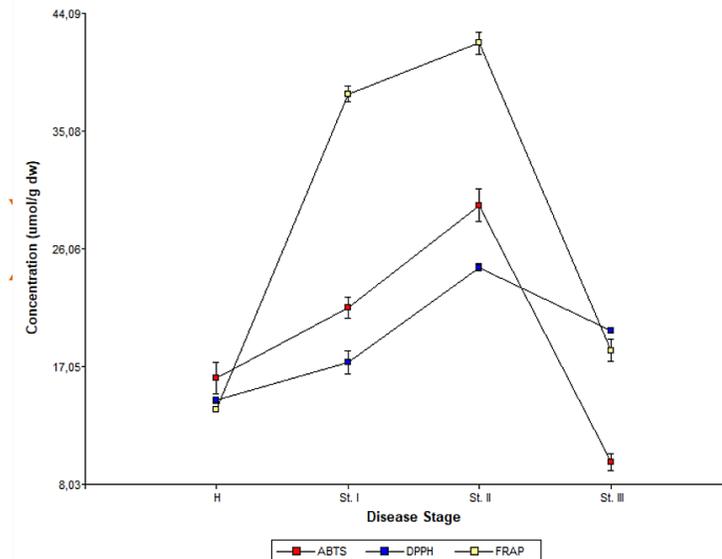
Prueba de significancia Tukey sobre la capacidad antioxidante de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas

Error: 1,6989 gl: 24

Assay Disease Stage Medias n E.E.

ABTS	St. III	9,73	3 0,75	A
FRAP	H	13,78	3 0,75	B
DPPH	H	14,46	3 0,75	B C
ABTS	H	16,14	3 0,75	B C D
DPPH	St. I	17,35	3 0,75	B C D
FRAP	St. III	18,29	3 0,75	C D E
DPPH	St. III	19,82	3 0,75	D E
ABTS	St. I	21,55	3 0,75	E F
DPPH	St. II	24,65	3 0,75	F
ABTS	St. II	29,40	3 0,75	G
FRAP	St. I	37,92	3 0,75	H
FRAP	St. II	41,80	3 0,75	I

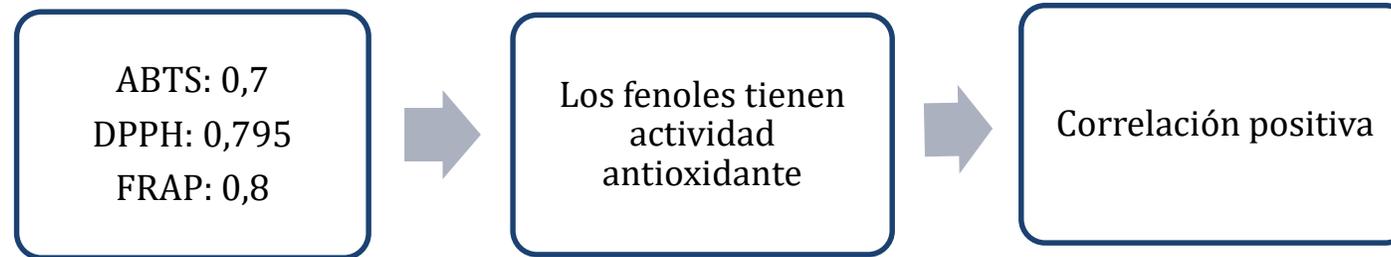
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Correlación de variables

Correlación de Pearson	DPPH	FRAP	ABTS	TFC	TPC
DPPH	1				
FRAP	0,64	1			
ABTS	0,52	0,83	1		
TFC	0,63	0,95	0,91	1	
TPC	0,85	0,82	0,86	0,88	1



CONCLUSIONES

Las plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) que fueron recolectadas, tanto sanas como afectadas cursando las tres etapas de la enfermedad del Moko, se diferenciaron acorde a la sintomatología foliar.

En base a los análisis de suelo y foliares mostraron semejanzas, en la deficiencia de manganeso, magnesio y fósforo, a su vez exceso notable de hierro, cobre, boro y azufre que principalmente están relacionados con características que presenta el tipo de suelo donde se cultiva el orito, pueden generar mayor incidencia de la enfermedad.

Las plantas de orito cursando la etapa intermedia de la enfermedad (St.II) mostraron mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, como parte del mecanismo de defensa las plantas pueden incrementar la síntesis de dichos compuestos con el objetivo de limitar la diseminación del patógeno en otras partes de la planta.

La capacidad antioxidante se determinó empleando los métodos DPPH, ABTS y FRAP, donde el mayor contenido se encontró en plantas de orito cursando la etapa intermedia de la enfermedad (St.II), por ende poseen mayor protección ante el daño oxidativo.

En última instancia al comparar el estado nutricional, concentración de principios activos y la actividad biológica en plantas de orito sanas y enfermas, se concluye que los macro y micro nutrientes son indispensables y en nutrientes como P, Ca, Mg y Zn tienen participación metabólica, al existir deficiencia puede una planta ser susceptible o incrementar la gravedad de la enfermedad; a nivel metabólico los compuestos fenólicos y flavonoides son excelentes antioxidantes, debido a que se evidenció que las plantas de orito, cursando la etapa intermedia de la enfermedad (St.II) mostró mayor cantidad de principios activos y capacidad antioxidante, es decir que ambos factores son directamente proporcionales, lo mismo que se corrobora con el análisis de coeficiente de Pearson porque mantiene una correlación fuertemente positiva entre dichos factores.



RECOMENDACIONES

Se recomienda para análisis de suelo y foliar, contemplar las condiciones ambientales, ya que pueden afectar a la obtención de resultados sobreestimados, a su vez a nivel foliar realizar más estudios con el objetivo de contar con valores estándar de nutrientes.

Con la finalidad de conocer la presencia de otros principios activos en las plantas de orito, se sugiere realizar un tamizaje fitoquímico.

Identificar y cuantificar mediante HPLC compuestos fenólicos para determinar aquel que está presente en mayor proporción y se relacione directamente con la defensa de las plantas de orito frente a la enfermedad del Moko, ya que la información y estudios que abarquen la problemática es limitada.



AGRADECIMIENTOS



Gracias!

Raluca Mihai, Ph.D.
Directora del proyecto
Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE

Al todo el equipo del
**Laboratorio de Biotecnología del Centro de
Investigación de Aplicaciones Militares "CICTE- ESPE"**

FAMILIA Y AMIGOS