



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

**DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA**

TEMA DE TESIS

Análisis preliminar de la acción bacteriostática y bactericida del
glifosato frente a *Ralstonia solanacearum* filotipo II en
condiciones *in vitro*

TESIS

Que para obtener el título de:
LICENCIADA EN INGENIERÍA EN AGRONOMÍA

PRESENTA:

Heidy Iliana Aguirre Arzola|

Director y Co-director

Dra. Ilse Alejandra Huerta Arredondo

Freddy Arturo Magdama Tobar, Ph. D.

Revisores

Dra. Diana Sanzón Gómez
Dr. Manuel Darío Salas Araiza

IRAPUATO, GUANAJUATO

Noviembre, 2025

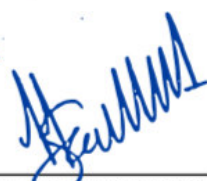
Irapuato, Gto., a 12 de noviembre del 2025.

MTRO. JUAN SIGFRIDO LÓPEZ CUSTODIO
COORDINADOR DE ASUNTOS ESCOLARES
P R E S E N T E.-

Por medio de la presente, se otorga autorización para proceder a los trámites de impresión, empastado de tesis y titulación al alumno(a) **HEIDY ILIANA AGUIRRE ARZOLA** del **Programa de Licenciatura en Agronomía** y cuyo número de **NUA** es: **602761** del cual soy director. El título de la tesis es: "Efecto bacteriostático y bactericida de glifosato sobre *Ralstonia solanacearum* filotipo II mediante ensayos *in vitro*"

Hago constar que he revisado dicho trabajo y he tenido comunicación con los sinodales asignados para la revisión de la tesis, por lo que no hay impedimento alguno para fijar la fecha de examen de titulación.

ATENTAMENTE

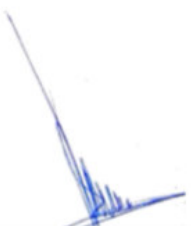


DRA. ILSE ALEJANDRA HUERTA ARREDONDO
DIRECTOR DE TESIS
SECRETARIO

Firmado electrónicamente por:
FREDDY ARTURO
MAGDAMA TOBAR
Validar Únicamente con FirmaSC

FREDDY ARTURO MAGDAMA TOBAR, PH.D.
DIRECTOR DE TESIS



DRA. DIANA SANZÓN GÓMEZ
PRESIDENTE

DR. MANUEL DARÍO SALAS ARAIZA
VOCAL

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a mis padres, mi mayor inspiración y la fuerza que ha sostenido cada uno de mis pasos. Gracias por su amor inmenso, por cada sacrificio silencioso y por creer en mí incluso en los días en que yo misma dudaba. Todo lo que soy y todo lo que he logrado nace de ustedes, de su ejemplo, de su entrega y de ese cariño que nunca ha faltado. Este triunfo es también suyo, porque ustedes han sido mi hogar, mi refugio y mi motivo para seguir adelante.

A mi hermano, que ha sido luz en mis momentos más oscuros y alegría en los más cansados. Gracias por acompañarme con paciencia, por escucharme sin juicio, por hacerme reír cuando más lo necesitaba y por recordarme siempre que no estoy sola. Tu apoyo ha sido un impulso que me ha llevado más lejos de lo que imaginé.

A mis amigos, esa familia que la vida me permitió elegir. Gracias por su compañía, por su fe en mí, por hacer este camino más ligero y por estar presentes en cada etapa, incluso en las más difíciles. Su apoyo y cariño hicieron de este proceso una experiencia más humana y llevadera.

Al Centro de Investigación Científica del Ecuador (CIBE), agradezco profundamente por abrirme las puertas y permitirme crecer en un entorno lleno de aprendizaje, retos y oportunidades que marcaron mi formación profesional y personal.

Al Dr. Freddy Arturo Magdama Tobar, gracias por su confianza, por orientarme con paciencia y por brindarme la oportunidad de formar parte de este espacio que contribuyó tanto a mi desarrollo.

A la Dra. Ilse Alejandra Huerta Arredondo, por sus consejos, su dedicación y su apoyo constante, que enriquecieron este trabajo de manera invaluable.

Y a todos mis asesores, gracias por impulsarme a mejorar, por su guía, exigencia y por creer en mi potencial. Cada aporte suyo ha sido clave en este camino.

A todos ustedes, gracias por dejar huella en mi vida y por ayudarme a llegar hasta aquí. Este logro está construido con el amor, la fuerza y la presencia de cada uno.

Dedicatoria

A mis padres

y a mi hermano:

por ser el principio de todo.

A la doctora Ilse Alejandra Huerta Arredondo

y al doctor Freddy Arturo Magdama Tobar

por guiarme con ciencia y con cariño.

Al final somos una mezcla de todas las personas que han sido parte de nuestro camino.

Me alegra saber que algunas de ellas son parte esencial de lo que soy hoy.

Con todo mi amor y gratitud eterna.

Esta tesis es suya tanto como mía.

Resumen

El moko del banano, causado por *Ralstonia solanacearum* filotipo II raza 2 (cepa C8), genera pérdidas de hasta el 100 % en plantaciones de banano (*Musa* spp. L.) en América Latina. Como parte de los protocolos de erradicación se inyectan las plantas con herbicida antes de proceder a la erradicación. Poco se conoce sobre el efecto del glifosato sobre el patógeno. Este estudio evaluó el efecto bacteriostático y bactericida del glifosato Glifopac® (480 g/L) sobre la bacteria mediante ensayos *in vitro*. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) utilizando placas de microtitulación (96 pocillos) con medio CPG y lectura de espectrofotometría (OD600). Las concentraciones evaluadas fueron de 1 562 ppm a 100 000 ppm, mediante diluciones seriadas. Los resultados permitieron conocer que sí existe algún efecto controlador del herbicida sobre el crecimiento bacteriano. Por lo tanto, se determinó que la CMI del glifosato fue de 3 125 ppm, mientras que la CMB se estableció en 12 500 ppm.

ÍNDICE

Resumen	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
Capítulo I.....	8
1. Introducción	8
1.1 Antecedentes	9
1.2 Justificación	11
1.3 Objetivo	12
1.3.1 Objetivos Específicos.....	12
1.4 Hipótesis	12
Capítulo 2	13
2. Materiales y métodos.....	13
2.1 Materiales	13
2.1.1 Reactivos y medios de cultivo	13
2.1.2 Equipos y material de laboratorio	14
2.1 Reactivación de <i>R. solanacearum</i>.....	14
2.3 Identificación molecular de <i>R. solanacearum</i>	14
2.5 Tratamientos.....	16
2.6 Determinación de CMI y evaluación del crecimiento bacteriano.....	17
3. Resultados.....	19
3.1 Confirmación molecular de <i>R. solanacearum</i> mediante amplificación de fragmentos específicos.	19
3.2 Determinación de la CMI y efecto bacteriostático	20
3.3 Determinación de la CMB	21
Capítulo 4	24
4. Discusiones	24
Conclusiones.....	27
Referencias	29
Anexos.....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos y concentraciones de glifosato.....	17
Tabla 2. Crecimiento de <i>R. solanacearum</i> luego de 48 horas de incubación a diferentes concentraciones de glifosato.	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de los tratamientos en microplaca de 96 pozos. Creado en Biorender.	16
Figura 2. Electroforesis de productos de PCR para confirmación molecular de <i>R. solanacearum</i>	19
Figura 3. Efecto del glifosato sobre <i>R. solanacearum</i> filotipo II (OD600 nm, 48 h)	20

Capítulo I

1. Introducción

El banano (*Musa* spp. L.) representa uno de los cultivos con mayor importancia a nivel global, tanto por la relevancia económica como por su gran contribución a la seguridad alimentaria en las regiones tropicales. Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2023), la producción mundial del banano supera los 120 millones de toneladas anuales, siendo América Latina el principal exportador con países como Ecuador, Colombia y Costa Rica que generan ingresos muy significativos derivados de la exportación de este fruto (Blomme et al., 2017). Sin embargo, la sostenibilidad de la industria se encuentra amenazada por enfermedades fitosanitarias de alto impacto, entre las que se destaca la Fusariosis del banano causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical (FocR4T). Este hongo provoca amarillamiento progresivo de hojas basales, colapso vascular y muerte de la planta. En países con la enfermedad se han reportado pérdidas económicas estimadas en US\$500 a 150 millones afectando más de 1000 - 1500 hectáreas en América Latina entre 2020 y 2024 (Suzuki et al., 2020). Su dispersión se da a través de cormos contaminados, suelo, agua de riego, herramientas, maquinarias, entre otros. Sin ningún método de control efectivo más allá de la erradicación y cuarentena, por ello la búsqueda de resistencia en la variedad Cavendish es el único camino sostenible (García- Bastidas et al., 2020).

A estas enfermedades se suman más amenazas virales y bacterianas emergentes, que, aunque no están presentes en el continente, su incursión representaría una seria amenaza para la industria bananera. Por ejemplo, el virus del cogollo racimo del banano (*Banana Bunchy Top Virus*- BBTV), que es transmitido de forma persistente por el áfido *Pentalonia nigronervosa*, induce hojas cortas, cloróticas y racimos deformes con apariencia de “escoba de bruja”, causando pérdidas del 70 al 100% y obligando a erradicar por completo la plantación (Hooks et al., 2022). El principal método de control está basado en plantas libres de virus.

La marchitez por *Xanthomonas* (BXW) causada por *Xanthomonas vasicola* pv. *musacearum*, otro patógeno de importancia que produce amarillamiento, marchitez rápida, pudrición de frutos y muerte rápida, con pérdidas superiores al 80% y con un gran impacto sobre su dispersión, por herramientas, insectos y flores. Se maneja mediante desinfección y remoción de flores masculinas (Nakato et al., 2018).

Sin embargo, una de las principales enfermedades es Moko bacteriano, causado por *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) filotipo II, que provoca marchitez bacteriana y pérdidas de hasta 100% en plantaciones (Delgado et al., 2014; Ramírez et al., 2020). Esta patología, que también es conocida como enfermedad de la marchitez bacteriana del banano, se caracteriza por la invasión del xilema por parte de la bacteria, causando un bloqueo del flujo de agua y nutrientes, resultando en un colapso foliar, necrosis vascular, inclusive del fruto, y muerte prematura de la planta (Mansfield et al., 2012).

Ralstonia solanacearum pertenece al complejo de especies *Ralstonia solanacearum* (RSSC), un grupo altamente diverso de bacterias Gram negativas, aerobias y móviles, que tienen un amplio rango de hospederos que incluyen más de 200 especies vegetales en 50 familias botánicas (Prior et al., 2016). Específicamente en el caso del banano, las cepas de la raza 2 (filotipo II) son las responsables del Moko afectando cultivos a temperaturas tropicales (27-30°C). Este patógeno se disemina a través de herramientas de poda contaminadas, insectos que son vectores como lo es el escarabajo de la broca del banano (*Cosmopolites sordidus*) y el agua de riego contaminada (Cellier et al., 2015). La bacteria produce exopolisacáridos que llegan a obstruir los vasos conductores, induce respuestas de hipersensibilidad en el hospedero y suprime mecanismos de defensa vegetal mediante efectores secretados por su sistema de secreción tipo III (SSIII), lo que facilita una rápida colonización sistemática (Peeters et al., 2013).

1.1 Antecedentes

Históricamente, el Moko se reporta principalmente en América Latina y el Caribe (LAC) desde finales del siglo XIX, con el primer registro documentado en Trinidad en la década de 1890 (Rorer, 1911). Desde entonces se ha expandido a través de LAC y en menor medida en Asia, teniendo afectaciones en variedades comerciales como Cavendish (AAA) y plátano (AAB), con impactos económicos estimados en millones de dólares anuales debido a la erradicación obligatoria de las plantas infectadas y la interrupción que se tiene para su exportación (Blomme et al., 2017).

En Colombia se estiman pérdidas del 20% debido al Moko bacteriano en plantaciones de plátano, intensificadas por la variabilidad genética de las cepas locales, que pertenecen a al menos tres grupos filogenéticos distintos (Ramírez et al., 2020). A pesar de que existen avances en la comprensión molecular de la patogénesis, el control del Moko sigue teniendo sus desafíos

debido a la ausencia de variedades comerciales resistentes y una limitada eficacia del uso adecuado de medidas culturales, como lo es el uso de plantas libres de enfermedad o la desinfección de las herramientas en las plantaciones (Blomme et al., 2017). Por lo anterior, la exploración del uso de compuestos químicos con potencial inhibitorio directo sobre la bacteria representa una alternativa prometedora, principalmente en entornos *in vitro* que permiten evaluar mecanismos de acción sin tener interferencia ambiental.

En Ecuador, la bacteria *Ralstonia solanacearum* filotipo II, representa una amenaza creciente para el impacto económico que amenaza la sostenibilidad de la industria que genera miles de empleos y exportaciones anuales (Delgado et al., 2014). El primer reporte confirmado de la enfermedad fue en 2013, en plantaciones de plátano en El Carmen, Manabí, probablemente introducida vía material de propagación desde Colombia, donde ha sido endémica desde los años 1960; desde entonces se ha propagado a provincias costeras como Los Ríos, Esmeraldas y Santo Domingo de los Tsáchilas, afectando principalmente plátanos locales y progresando hacia el banano de exportación (Delgado et al., 2014). La dispersión ocurre principalmente por herramientas contaminadas, insectos vectores y suelo infectado, generando pérdidas del 20 a 100% en predios que no son manejados. Lo cual impulsa a estrategias de manejo, enfocadas en cuarentenas, desinfección y monitoreo, sin embargo, persisten desafíos en la adopción de medidas de bioseguridad por pequeños productores (Agrocalidad, 2011). Esta situación ha motivado la exploración de alternativas como el control biológico, cultural y químico, como el uso del glifosato en formulaciones para erradicación selectiva de las plantas infectadas, integrando un manejo sostenible que minimice impactos ambientales y resistencias (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021).

El glifosato es un herbicida sistémico no selectivo ampliamente utilizado en la agricultura. Actúa inhibiendo la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) en la vía del shikimato, esencial para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en plantas y microorganismos (Duke et al., 2012). A pesar de que su principal toxicidad va dirigida a plantas, estudios recientes han demostrado efectos antimicrobianos sobre bacterias fitopatógenas, incluyendo inhibición del crecimiento bacteriano a concentraciones micromolares mediante la interrupción de la síntesis proteica y la acumulación de metabolitos que modulan la respuesta al estrés (Nielsen et al., 2018).

Ensayos preliminares en plátano (AAB) genotipo triploide con dos copias de *Musa acuminata* y una de *M. balbisiana*, común en consumo local muestran reducción del 85% en incidencia de Moko con inyección de glifosato a 500 ppm sin daño visible del hospedero (Vallejo et al., 2024)

En Ecuador, como parte de los protocolos oficiales de erradicación de *R. solanacearum* filotipo II en sitios de producción de musáceas, se recomienda la inyección de glifosato al 20% en plantas sintomáticas y asintomáticas dentro de la zona roja de delimitación, con dosis de 60 mL para plantas adultas y 30 a 50 mL para colinos, con el fin de promover la descomposición completa del tejido vegetal y limitar la supervivencia del patógeno en los residuos (Agrocalidad, 2025). Sin embargo, aunque se han reportado resultados excelentes al eliminar plantas infectadas cuando se controla el brote, se sabe poco sobre la eficacia real del glifosato como agente bactericida contra *R. solanacearum* filotipo II. Esto se debe a que su principal función es herbicida y no se conocen estudios específicos que evalúen si se puede matar la bacteria de manera directa.

1.2 Justificación

Esta investigación emerge de la necesidad de desarrollar estrategias de control accesibles y eficaces contra el Moko, dado su impacto devastador en la producción de banano en regiones endémicas como lo es LAC. El Moko no solo reduce la productividad en hasta un 80 a 100% en las plantaciones afectadas, sino que también impone costos muy elevados por las medidas de contención, como la remoción de plantas infectadas y la rotación de cultivos, lo que afecta considerablemente la economía de los pequeños y medianos productores (Yuliar et al., 2015). Este proyecto es vital porque el Moko continúa extendiéndose, causando estragos en las fincas bananeras de Ecuador. Su realización es crucial ya que ofrece soluciones a una amenaza que podría desestabilizar la economía, aumentar la pobreza en las zonas rurales, y reducir significativamente la actividad agrícola del banano, que en 2018 generó ingresos de \$3,000 millones, representando el 30% del PIB Agrícola. Además, el sector bananero proporciona empleo directo e indirecto a 2.5 millones de personas, lo que equivale al 13.8% de la población del país (Asociación de Exportadores de Banano del Ecuador, 2019; Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018).

Evaluar el efecto inhibitorio del glifosato sobre *R. solanacearum* mediante ensayos *in vitro* es un enfoque novedoso que sienta las bases para el desarrollo de estrategias de manejo integrado de la enfermedad del Moko. Este estudio busca contribuir a la generación de datos que servirán

de respaldo para el uso racional y optimizado del glifosato en el campo agrícola, minimizando los altos costos asociados al manejo del Moko, y favoreciendo una producción más eficiente de banano en las regiones endémicas. Los ensayos *in vitro* permitirán tener una evaluación controlada y reproducible de la eficacia del glifosato que proporcione información clave sobre su potencial como una herramienta fitosanitaria antes de ser comprobado bajo condiciones de campo.

1.3 Objetivo

Evaluar el efecto inhibitorio y bactericida del glifosato sobre *Ralstonia solanacearum* filotipo II mediante ensayos *in vitro*.

1.3.1 Objetivos Específicos

- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del glifosato contra *R. solanacearum* mediante ensayos de sensibilidad mediante microtitulaciones y lecturas de espectrofotometría.
- Determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del glifosato contra *R. solanacearum* mediante ensayos de sensibilidad mediante microtitulaciones e incubación en placa.

1.4 Hipótesis

El glifosato ejerce un efecto inhibitorio dosis-dependiente y bactericida sobre *R. solanacearum* (filotipo II) a concentraciones $\geq 10,000$ ppm.

Capítulo 2

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

Para evaluar el efecto del glifosato sobre la bacteria *R. solanacearum* filotipo II, se realizó un experimento *in vitro*, utilizando placas de microtitulación y placas Petri con medio de cultivo CPG (ácido casamino-peptona-glucosa-agar). Asimismo, se evaluó el crecimiento bacteriano mediante el uso de espectrofotometría empleando un Lector de placas de 96 pocillos BioTeck Epoch.

Se empleó la cepa (C8) de *R. solanacearum* filotipo II previamente aislada de tejido de banano (*Musa* spp.) que presentaba síntomas de marchitez bacteriana. La cepa se identificó mediante la observación de sus características morfológicas y pruebas bioquímicas, y posteriormente se mantuvo criopreservada a -80°C hasta la reactivación para los ensayos experimentales.

2.1.1 Reactivos y medios de cultivo

- Medio CPG sólido y líquido
 - Medio CPG líquido

El medio CPG líquido se preparó para un volumen final de 100 mL, utilizando las siguientes proporciones:

- Ácido casamino: 0.1 g
- Peptona: 1.0 g
- Glucosa: 0.5 g
- Agua destilada: completar a 100 mL.

- Medio CPG sólido

Para la preparación de 400 mL de medio CPG sólido, se emplearon las siguientes cantidades:

- Ácido casamino: 0.4 g
- Peptona: 4.0 g
- Glucosa: 2.0 g
- Agar bacteriológico: 6.0 g
- Agua destilada: completar a 400 mL
- Solución comercial de glifosato (Glifopac® 480 g/L)
- Agua destilada estéril

- Etanol al 70% para desinfección
- Solución salina al 0.85% de NaCl

2.1.2 Equipos y material de laboratorio

- Cabina de flujo laminar
- Incubadora (28°C)
- Micropipetas
- Puntas estériles para micropipetas
- Tubos cónicos de 15 y 50 mL
- Placas Petri estériles
- Placas de microtitulación (ELISA) de 96 pocillos
- Espectrofotómetro (OD₆₀₀)

2.1 Reactivación de *R. solanacearum*

Las bacterias crioconservadas en -80°C fueron reactivadas inoculando en medio líquido CPG, el cual se incubó a 28°C durante 48 horas. Posterior a ello, se realizó una siembra por estría en medio CPG sólido con el fin de tener colonias aisladas.

2.3 Identificación molecular de *R. solanacearum*

Con el fin de confirmar la identidad de la cepa reactivada se usó PCR tiempo final, empleando los marcadores 759-760 específicos para la especie y Nmult para filotipo (Fegan et al., 2005). Se revelaron los resultados de la PCR mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%. Para la detección de *R. solanacearum* mediante PCR se utilizan los primers (Opina et al., 1997):

Para especie *R. solanacearum*:

759 (5' GTC GCC GTC AAC TCA CTT TCC 3') y

760 (5' GTC GCC GTC AGC AAT GCG GAA TCG 3')

Componente	Concentración inicial	Concentración final	Volumen µl
GoTaq <i>Master Mix</i> (Promega)	2x	1x	7.5
<i>Primer Forward</i>	10 µl	0.4 µM	0.6
<i>Primer Reverse</i>	10 µl	0.4 µM	0.6
H ₂ O ultrapura	-	-	5.3
ADN	-	-	1.0

Programa PCR 759-760:

Temperatura	Tiempo	Ciclos
95°C	5 minutos	1
95°C	30 segundos	35
60°C	30 segundos	
72°C	45 segundos	
72°C	5 minutos	
		1

Para filotipo II:

Nmult.21:1F: 5'-CGTTGATGAGGCGCGCAATTT-3;

Nmult: 21:2F: 5'-AAGTTATGGACGGTGGGAAGTC-3', → P' filotipo II

Nmult:22: InF: 5'-ATTGCCAAGACGAGAGAAGTA-3;

Nmult:23:AF: 5'-ATTACGAGAGCAATCGAAAGATT-3'

Nmult:22: RR: 5'-TCGCTTGACCCTATAACGAGTA-3'

Componente	Concentración inicial	Concentración final	Volumen µl
GoTaq Master Mix	2x	1x	10
Primer F1	10 µM	0.4 µM	0.6
Primer F2	10 µM	0.4 µM	0.6
Primer F3	10 µM	0.4 µM	0.6
Primer F4	10 µM	0.4 µM	0.6
Primer Reverse	10 µM	0.4 µM	1.0
H ₂ O ultrapura	-	-	5.6
ADN	-	-	1.0

Programa PCR multiplex:

Temperatura	Tiempo	Ciclos
96°C	5 minutos	1
94°C	15 segundos	35
55°C	30 segundos	
72°C	30 segundos	
72°C	10 minutos	
		1

Para observar si hay amplificación se realizó un gel de Agarosa (al 2%) usando un voltaje de 140 durante 50 minutos.

El producto de glifosato utilizado en el ensayo será Glifopac®, que tiene una concentración comercial de 480 g/L, que es equivalente a 480 000 ppm. Partiendo de esta concentración, se realizó una dilución madre a una concentración de 100 000 ppm, concentración recomendada por el fabricante. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas con un factor de dilución 1:2, obteniendo diluciones de 100 000, 50 000, 25 000, 12 500, 6 250, 3 125 y 1 562 ppm, generando un rango comprendido entre 100 000 ppm y 1 562 ppm.

2.5 Tratamientos

El experimento evaluó el efecto de diferentes concentraciones de glifosato frente al crecimiento de *R. solanacearum* filotipo II bajo condiciones *in vitro*. Las pruebas se llevaron a cabo en placas de microtitulación de 96 pocillos donde se dividieron en dos secciones: la columna 1 a 5 corresponden al control negativo, la columna 6 se dejará un espacio de separación, y las columnas 7 a 11 se destinarán al control positivo (Figura 1). En cada uno de los pocillos se adicionaron 190 µl de medio CPG líquido y con sus respectivas diluciones de glifosato según la concentración asignada.

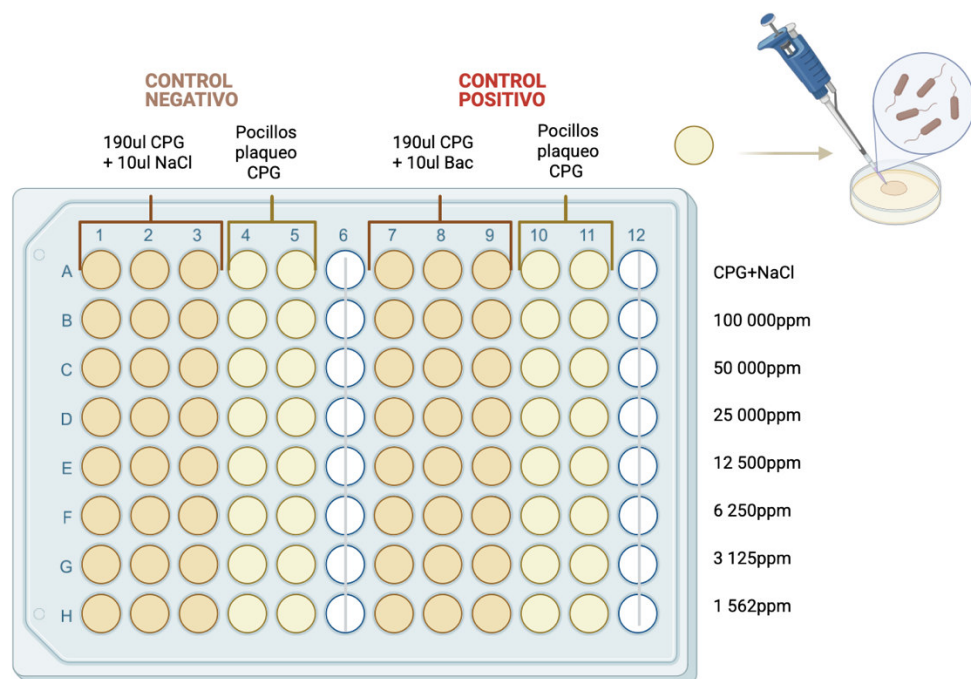


Figura 1. Distribución de los tratamientos en microplaca de 96 pozos. Creado en Biorender.

La Tabla 1 presenta el esquema del diseño experimental, incluyendo los tratamientos que se evaluaron y los volúmenes que se utilizaron en cada caso. Las condiciones de incubación

fueron de 28°C durante 48 h. Se midió la densidad óptica a 600 nm (OD₆₀₀) de la placa de microtitulación mediante el uso de espectrofotometría.

Para los controles se establecieron las siguientes condiciones experimentales:

- **Control negativo:** 190 µl de medio CPG + concentración de glifosato + 10 µl de solución salina al 0.85% NaCl, sin bacteria.
- **Control positivo:** 190 µl de medio CPG + la concentración de glifosato correspondiente + 10 µl de suspensión bacteriana de *R. solanacearum* ajustada a 1.5×10^7 UFC/mL en solución salina al 0.85% NaCl.

Tabla 1. Tratamientos y concentraciones de glifosato

	Tratamientos (Pocillos)	Concentraciones de glifosato (ppm)	Volumen de medio CPG (µL) con glifosato	Suspensión bacteriana (µL)
Control negativo (sin bacteria)	A1-A5	0	190	10 (solución salina)
	B1-B5	100 000		
	C1-C5	50 000		
	D1-D5	25 000		
	E1-E5	12 500		
	F1-F5	6 250		
	G1-G5	3 125		
	H1-H5	1 562		
Control positivo (con bacteria)	A10-A11	0	190	10 (1.5×10^7 UFC/mL)
	B10-B11	100 000		
	C10-C11	50 000		
	D10-D11	25 000		
	E10-E11	12 500		
	F10-F11	6 250		
	G10-G11	3 125		
	H10-H11	1 562		

Nota: Cada tratamiento se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

2.6 Determinación de CMI y evaluación del crecimiento bacteriano.

Después de preparar las microplacas con cada respectivo tratamiento, fueron incubadas a 28°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se procedió con la lectura del crecimiento bacteriano mediante el uso de espectrofotometría midiendo la densidad óptica a 600 nm (OD₆₀₀) para determinar la CMI del glifosato frente a *R. solanacearum* filotipo II.

La CMI se definió como la menor concentración de glifosato que es capaz de inhibir el 90% del crecimiento bacteriano, expresado en unidades de absorbancia, en comparación con los controles negativos.

Además, se seleccionó el control negativo (medio CPG con las mismas concentraciones de glifosato, pero sin bacteria) y el control positivo (bacteria con cada una de las concentraciones de glifosato). La placa con medio CPG se dividió en dos secciones, y en cada sección se depositaron 50µl de las muestras seleccionadas. Posteriormente, las placas se incubaron a 28 °C durante 48 horas para evaluar la viabilidad bacteriana y corroborar los resultados obtenidos con ayuda del espectrofotómetro. (*Anexo 1. Distribución de concentraciones de glifosato y bacteria en la microplaca de 96 pozos.*)

Capítulo 3

3. Resultados

3.1 Confirmación molecular de *R. solanacearum* mediante amplificación de fragmentos específicos.

Los productos obtenidos en la amplificación por PCR fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con el objetivo de confirmar la identidad y filotipo de la cepa evaluada. En el primer análisis, correspondiente a los indicadores 759/760, se observó una banda nítida de aproximadamente 280 pb en el carril donde se depositó el ADN de la muestra (Figura 2). Esta banda coincide con el tamaño esperado para la especie *R. solanacearum* (Opina et al., 1997), corroborando la presencia del fragmento específico y, por lo tanto, la identidad molecular de la cepa.

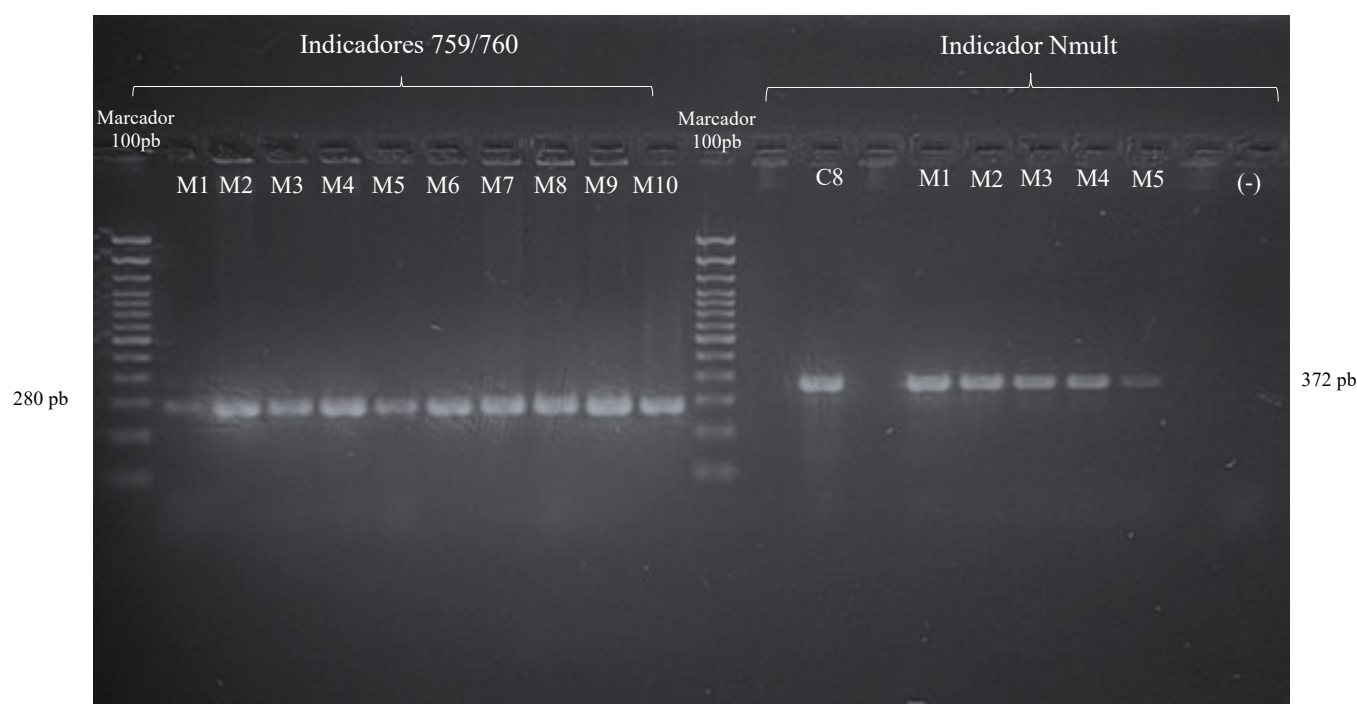


Figura 2. Electroforesis de productos de PCR para confirmación molecular de *R. solanacearum*

Por otro lado, los resultados obtenidos con los indicadores Nmult revelaron bandas claramente definidas de 372 pb (Figura 2). Este tamaño corresponde al filotipo II, que es característico de cepas presentes en América Lantina y asociado a diversas infecciones vasculares en cultivos

tropicales y subtropicales. La amplificación del fragmento específico confirmó la asignación de la cepa al filotipo II y valida la clasificación filogenética preliminar realizada en laboratorio. En conjunto, la presencia de ambos productos amplificados, 280 pb para los indicadores 759/760 y 372 pb para los indicadores Nmult, confirmando de manera robusta la identidad de la cepa *Ralstonia solanacearum* filotipo II.

3.2 Determinación de la CMI y efecto bacteriostático

Se evaluó el efecto inhibitorio del glifosato comercial (Glifopac® 480 g/L de ingrediente activo) sobre el crecimiento de *Ralstonia solanacearum* en medio líquido CPG mediante la técnica de microdilución en placas de 96 pocillos.

En la figura 3 se observa el comportamiento de *R. solanacearum* filotipo II después de 48 horas de exposición a diferentes concentraciones de glifosato. El control positivo presentó la absorbancia elevada ($OD\ 0.2 \pm 0.01$), lo cual confirma el crecimiento de la bacteria bajo condiciones sin herbicida.

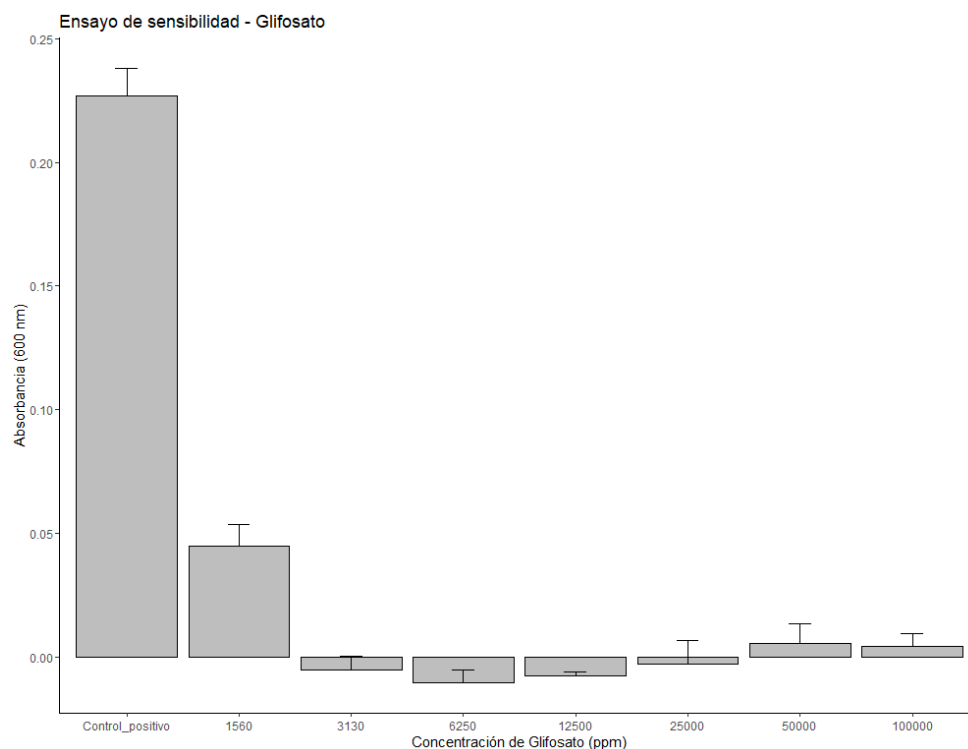


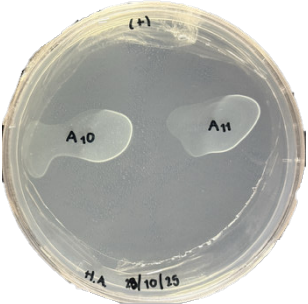
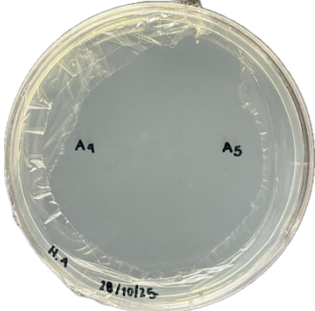
Figura 3. Efecto del glifosato sobre *R. solanacearum* filotipo II ($OD_{600\text{ nm}}$, 48 h)

La absorbancia se redujo de manera consistente desde la concentración de 1562 ppm hasta valores cercanos a cero en las concentraciones siguientes y con baja variabilidad entre réplicas. Este comportamiento indica que el glifosato ejerce un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano. En las concentraciones 3 125, 6 250, 12 500, 25 000, 50 000 y 100 000 ppm la absorbancia fue cero, lo que confirma una inhibición completa de *R. solanacearum*. Por lo tanto, se determinó la CMI en 3 125 ppm. Este umbral corresponde al efecto bacteriostático del glifosato, es decir, la capacidad del compuesto para detener el crecimiento y la multiplicación de la bacteria.

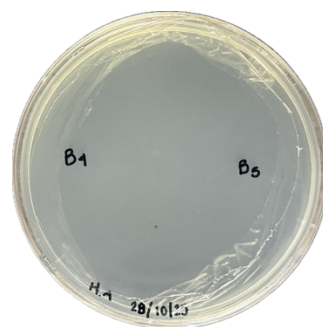
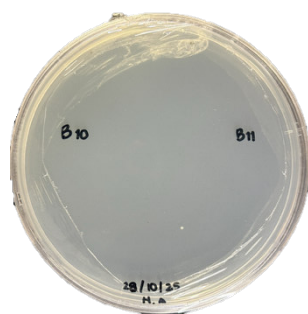
3.3 Determinación de la CMB

Luego de 48 horas de incubación, no se registró crecimiento de *R. solanacearum* en las concentraciones de 12 500, 25 000, 50 000 y 100 000 ppm, indicando actividad bactericida del glifosato. Por lo tanto, la CMB del glifosato se estableció en 12 500 ppm, por ser la mínima concentración en la que *R. solanacearum* no mostró crecimiento tras la exposición con el herbicida.

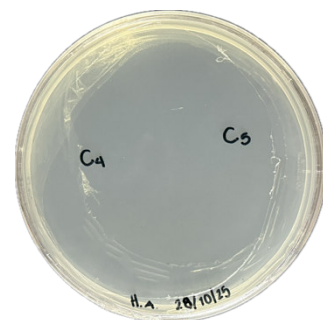
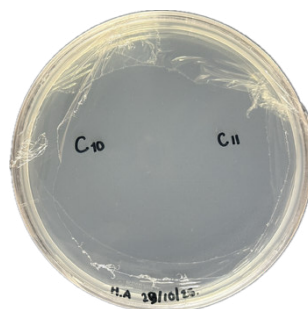
Tabla 2. Crecimiento de *R. solanacearum* luego de 48 horas de incubación a diferentes concentraciones de glifosato.

Concentraciones	<i>R. Solanacearum</i> con Glifosato (agar CPG) (+)	Glifosato (agar CPG) (-)
Control positivo		

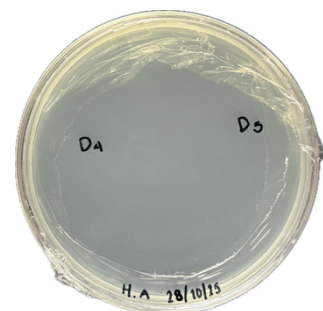
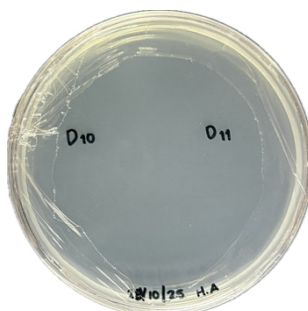
100 000 ppm



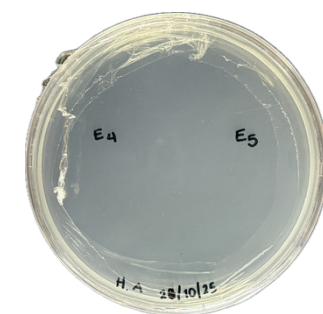
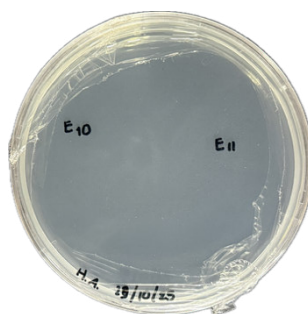
50 000 ppm



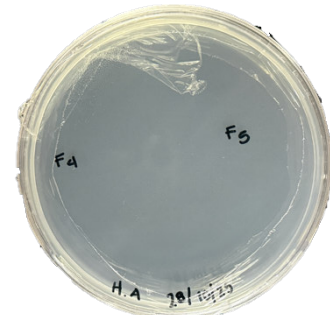
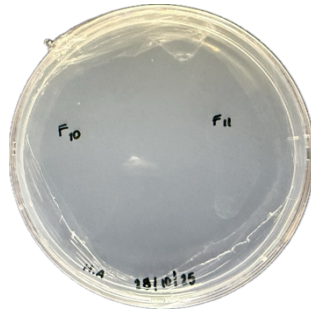
25 000 ppm



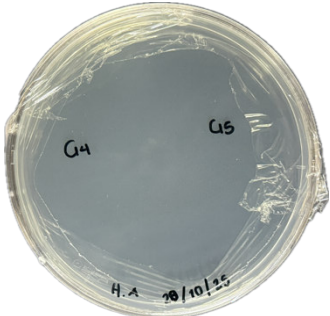
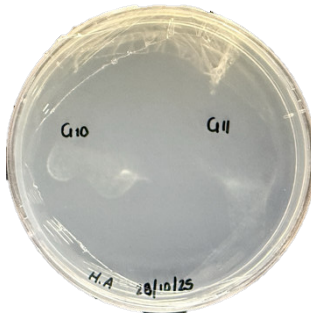
12 500 ppm



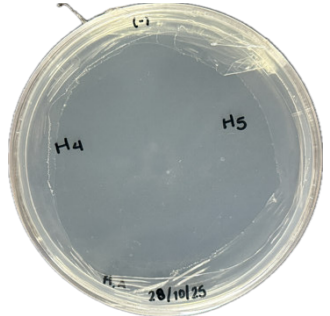
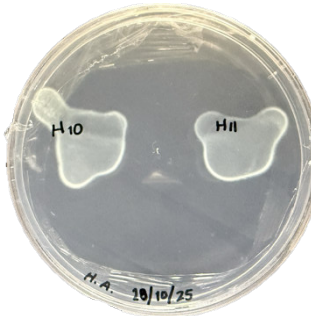
6 250 ppm



3 125 ppm



1 562 ppm



Nota: Las imágenes corresponden a las placas de agar CPG incubación con las muestras obtenidas de la microtitulación después de 48 horas de incubación a 28 °C. Las diferencias observadas en la formación de colonias reflejan el efecto bactericida del glifosato sobre *R. solanacearum* filotipo II, siendo 12 500 ppm la CMB.

Capítulo 4

4. Discusiones

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que el glifosato ejerce un efecto inhibitorio sobre la bacteria patógena *R. solanacearum* filotipo II, determinando una CMI de 3 125 ppm, indicando que a partir de esta concentración el herbicida es capaz de detener el crecimiento bacteriano en condiciones *in vitro*. Por otro lado, la CMB se estableció en 12 500 ppm, lo que evidencia que a esta concentración el glifosato elimina la viabilidad celular tras 48 horas de exposición. Este hallazgo es de relevancia, ya que evidencia que el glifosato presenta actividad antimicrobiana directa sobre un patógeno de importancia cuarentenaria en Ecuador como lo es *R. solanacearum* filotipo II, responsable del moko del banano.

4.1 Comparación con estudios previos

En el caso de *R. solanacearum* filotipo II, la literatura disponible sobre el efecto directo del glifosato es limitada. Sin embargo, existe evidencia indirecta en campo, particularmente en el manejo del moko, donde la inyección del glifosato en plantas infectadas hace que acelere el proceso de descomposición del tejido vegetal, lo que reduce la supervivencia del patógeno (Agrocalidad, 2025). Estos protocolos se enfocan en la destrucción del hospedero y no en la acción directa sobre la bacteria. El presente estudio aporta evidencia experimental bajo condiciones *in vitro*, que sugiere que el glifosato sí puede ejercer una acción directa inhibiendo el crecimiento bacteriano, lo cual no había sido documentado e investigado de manera explícita para la raza 2 del patógeno.

Los valores obtenidos en este estudio muestran que *R. solanacearum* presenta una alta sensibilidad *in vitro* al glifosato, con una CMI de 3 125 ppm y una CMB de 12 500 ppm. Estos resultados se encuentran dentro del rango reportado por investigaciones previas, aunque la magnitud exacta de la sensibilidad varía entre autores, filotipos y condiciones experimentales. Kishore y Shah (1988) revisaron que diversas bacterias sensibles al glifosato presentan inhibición del crecimiento en un rango de 10 000 a 20 000 ppm, lo que indica que las concentraciones necesarias para detener la proliferación bacteriana tienden a ubicarse en un intervalo relativamente alto. En comparación, la CMI encontrada en este estudio (3 125 ppm) es considerablemente menor (aproximadamente 3 a 6 veces más baja), lo que sugiere que *R. solanacearum* podría ser más susceptible en condiciones *in vitro* que otras especies analizadas.

por estos autores, o que la formulación utilizada (Glifopac® 480 g/L) presenta una actividad inhibitoria más marcada.

De forma más específica, Sharma et al. (2022) evaluaron la diversidad genética de filotipos del complejo RSSC, demostrando que la sensibilidad a compuestos inhibidores como el glifosato varía entre grupos genéticos, con inhibición parcial alrededor de 5 000 ppm y supresión completa a concentraciones superiores a 15 000 ppm en cepas similares. Los valores obtenidos en esta investigación se alinean con esta tendencia, ya que la concentración bactericida total (12 500 ppm) se encuentra dentro del rango señalado por Sharma et al., mientras que la inhibición parcial observada en su estudio coincide con el comportamiento de crecimiento reducido registrado en este ensayo a concentraciones cercanas a la CMI. Esta coincidencia sugiere que *R. solanacearum* puede presentar patrones de sensibilidad que dependen del filotipo y que las diferencias entre estudios pueden responder tanto a factores genéticos como metodológicos (tipo de medio, formulación de glifosato, tamaño del inóculo, etc.).

La sensibilidad al glifosato también ha sido documentada en otros fitopatógenos bacterianos. Shukla et al. (2020) reportaron que *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* muestra una reducción significativa del crecimiento en un rango de 5 000 a 15 000 ppm, valores que son comparables con los umbrales de inhibición observados en *R. solanacearum* para la CMB en este estudio (12 500 ppm). Asimismo, *Pseudomonas syringae* mostró una inhibición marcada alrededor de 10 000 ppm, lo que refuerza la idea de que distintas bacterias fitopatógenas presentan niveles de sensibilidad similares frente al glifosato, ubicándose típicamente entre 5 000 y 15 000 ppm (Newcombe & Kinkel, 2002). Esta convergencia sugiere que la vía del shikimato y la acción del inhibidor pueden generar respuestas fisiológicas comparables entre patógenos vegetales con metabolismo similar.

En conjunto, estas comparaciones muestran que los valores obtenidos en este estudio no solo se encuentran dentro del rango reportado por la literatura, sino que ofrecen evidencia de que *R. solanacearum* es particularmente sensible en condiciones *in vitro*. La CMI más baja observada respecto a otros estudios puede atribuirse a factores como el filotipo específico, la formulación comercial empleada o la composición del medio de cultivo, mientras que la CMB de 12 500 ppm coincide estrechamente con reportes previos para otros fitopatógenos. Estos hallazgos posicionan al glifosato como un compuesto con capacidad real de inhibición y acción bactericida frente a *R. solanacearum* bajo condiciones controladas, aunque las diferencias metodológicas entre estudios obligan a interpretar los valores dentro de su contexto experimental.

4.1.1 Relación con la fisiología y patogénesis de *R. solanacearum*

La necesidad de aplicar concentraciones elevadas ($\geq 12\ 500$ ppm) puede estar asociada a la estructura especializada de *R. solanacearum*, la cual incluye una cápsula rica en expolisacáridos, que funciona como una barrera frente a compuestos tóxicos. (Peeters et al., 2013). Además de su rápido crecimiento en medios ricos como el CPG puede requerir cantidades mayores de inhibidor para impactar de manera significativa su metabolismo primario (Peyraud et al., 2016)

Asimismo, al ser una bacteria vascular adaptada a ambientes complejos, puede poseer mecanismos de detoxificación que reducen la sensibilidad a herbicidas en comparación con bacterias que no son fitopatógenas. Este tipo de comportamientos también han sido evaluados en otras especies de *Ralstonia*, particularmente en patógenos de tomate, donde la inhibición metabólica requiere tiempos de exposición mayores a concentraciones elevadas (Mansfield et al., 2012).

4.1.2 Relevancia para el manejo del moko en campo

Aunque los ensayos se realizaron bajo condiciones *in vitro*, los valores obtenidos tienen claras implicaciones prácticas para el manejo integrado del moko en campo. Las concentraciones efectivas identificadas se encuentran dentro del rango que se alcanza en el xilema de plantas de musáceas cuando se aplican las dosis oficiales de erradicación mediante inyección de glifosato al 20 % (Agrocalidad, 2025). Este hecho sugiere que parte del éxito observado en la eliminación de focos de la enfermedad no se debe únicamente a la destrucción del tejido vegetal, sino también a un efecto bactericida directo sobre *Ralstonia solanacearum* filotipo II.

Sin embargo, debe destacarse que el uso de las condiciones *in vitro* no reproduce completamente el tejido vegetal, donde la movilidad del herbicida, la interacción con compuestos del xilema y la estructura anatómica podrían modificar su concentración efectiva. Por ello, estos resultados funcionan como punto de partida para futuras investigaciones y ensayos en condiciones de invernadero o campo.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que el glifosato ejerce un efecto inhibitorio directo sobre *Ralstonia solanacearum* filotipo II (cepa 8) bajo condiciones *in vitro*, evidenciando que este herbicida, además de su función primaria como agente fitotóxico, presenta actividad antimicrobiana frente a este patógeno de importancia cuarentenaria.

Se determinó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del glifosato frente a *R. solanacearum* ocurre a 3 125 ppm, punto en el cual el crecimiento bacteriano se ve detenido en medio líquido, aunque la bacteria conserva viabilidad y es capaz de recuperarse cuando es sembrada en placas CPG. Esto demuestra que, a concentraciones bajas, el glifosato ejerce un efecto bacteriostático, limitando la multiplicación bacteriana, pero sin provocar la muerte celular.

En contraste, la concentración mínima bactericida (CMB) se identificó en 12 500 ppm, ya que a este nivel no se observó crecimiento en las siembras en placa tras 48 horas. Esto indica que la bacteria pierde completamente su viabilidad, lo que confirma un efecto bactericida. Las concentraciones inferiores, incluyendo 1 562 y 6 250 ppm, permitieron el desarrollo de colonias en CPG, evidenciando que *R. solanacearum* mantiene una tolerancia fisiológica importante en presencia de dosis del herbicida.

El hecho de que la CMB sea cuatro veces mayor que la CMI muestra que existe un rango claro entre la inhibición del crecimiento y la muerte celular. Una vez superado este umbral crítico, el glifosato no solo detiene la replicación bacteriana, sino que también induce un colapso metabólico irreversible. Este fenómeno es consistente con el mecanismo de acción del herbicida, basado en la inhibición de la vía del shikimato, esencial para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos. La interrupción sostenida de esta ruta conduce a una falla metabólica que compromete de forma definitiva la viabilidad de la célula bacteriana.

En conjunto, estos resultados sugieren que el glifosato tiene un efecto dual sobre *R. solanacearum*: bacteriostático a 3 125 ppm y bactericida a partir de 12 500 ppm. Dado que la concentración bactericida identificada se aproxima a las concentraciones que pueden alcanzarse en aplicaciones agrícolas, es posible que su uso contribuya a reducir la carga bacteriana en tejidos vegetales afectados por el moko, complementando las estrategias de erradicación actualmente recomendadas.

Este estudio representa un primer acercamiento experimental al efecto directo del glifosato sobre *R. solanacearum* filotipo II raza 2 y establece una base científica para investigaciones futuras que podrán evaluar la dinámica temporal del efecto bactericida, la respuesta en diferentes filotipos o cepas, las posibles sinergias con agentes de biocontrol como *Trichoderma spp.* o bacteriófagos, y la validación de los resultados en condiciones de invernadero y campo. En conjunto, los resultados obtenidos permiten sugerir que bajo condiciones adecuadas y dentro de un enfoque de manejo integrado, el glifosato podría considerarse como una herramienta complementaria para el control del moko del banano, siempre bajo regulaciones y supervisión técnica que garanticen su uso responsable.

Referencias

- Agrocalidad. (2011). Plan de acción para el control de *Ralstonia solanacearum* raza 2, plaga cuarentenaria para Ecuador (Resolución No. 011). Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario.
- Agrocalidad. (2025). Plan de acción para el control de *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Edición No. 1). https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2025/08/PLAN_ACCION_CONTROL_Ralstonia_solanacearum_Raza_2_ok_2025.pdf
- Blomme, G., Ocimati, W., Pè, M. E., Stelinski, L., & Kallow, S. (2017). Bacterial diseases of bananas and enset: Current state of knowledge and integrated approaches toward sustainable management. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1290.
- Cellier, G., Prior, P., & Allen, C. (2015). A duplex PCR assay for the detection of *Ralstonia solanacearum* phylotype II strains in *Musa* spp. *PLoS ONE*, 10(3), e0122182.
- Churchill A. C. (2011). *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular plant pathology*, 12(4), 307–328
- Duke, S. O., Rimando, A. M., Pace, P. F., Reddy, K. N., & Smeda, R. J. (2012). Glyphosate effects on shikimate pathway products in leaves and roots of glyphosate-resistant and susceptible crops. *Pest Management Science*, 68(5), 705-713.
- Delgado, R., Morillo, E., Buitrón, J., Bustamante, A., & Sotomayor, I. (2014). First report of Moko disease caused by *Ralstonia solanacearum* race 2 in plantain (*Musa AAB*) in Ecuador. *New Disease Reports*, 30, 23. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.030.023>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). FAOSTAT: Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

- Fischer, R. S., Gaffney, T., & Ransom, R. (2019). Glyphosate inhibits growth of plant pathogenic bacteria by disrupting aromatic amino acid biosynthesis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 157, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.012>
- Fegan, M., Prior, P., 2005. How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”. In: Allen, C., Prior, P., Hayward, A.C. (Eds.), *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum* species complex. APS Press, Madison, pp. 449–462.
- García-Bastidas, F. A., Ordóñez, N., Konkol, J., Al-Qasim, M., Naser, Z., Abdel-Mawgood, A., ... & Kagel, G. H. J. (2020). Panama disease in bananas: Current status of the Tropical Race 4 pandemic. *Phytopathology*, 110(4), 756–766.
- Hooks, C. R. R., Manandhar, R., & Wright, M. G. (2022). Banana bunchy top virus: Biology, transmission, and global distribution. *Viruses.*, 14(5), 987.
- Hertel, C. B., et al. (2021). Molecular mechanisms underlying glyphosate resistance in bacteria. *Environmental Microbiology*, 23(7), 4015–4033. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15534>
- James, C., Krattiger, A., & Brookes, G. (2022). Global status of commercialized biotech/GM crops in 2021. *GM Crops & Food*, 13(1), 1–25. <https://doi.org/10.1080/21645698.2022.2038045>
- Kishore, G. M., & Shah, D. M. (1988). Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. *Annual Review of Biochemistry*, 57, 627–663. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.57.070188.003211>
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Veri, M., et al. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(6), 614–629. Q1 (Plant Sciences).

- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2021, junio 7). Agricultores de Ahuano aprenden a enfrentar al Moko del Plátano. <https://www.agricultura.gob.ec/agricultores-de-ahuano-aprenden-a-enfrentar-al-moko-del-platano/>
- Nielsen, M. N., Isbensen, A., van Overbeek, L., & van Elsas, J. D. (2018). Indirect reduction of *Ralstonia solanacearum* via pathogen helper inhibition. *The ISME Journal*, 15(12), 3567-3578. Q1 (Microbiology).
- Nakato, G. V., Christelová, P., Were, E., Nyine, M., Coutinho, T. A., & Swennen, R. (2018). Xanthomonas wilt of banana: Current knowledge and research challenges. *Plant Pathology*, 67(5), 987–1001.
- Newcombe, G., & Kinkel, L. (2002). Antibacterial activity of the herbicide glufosinate on *Pseudomonas syringae* pathovar *glycinea*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74(1), 46–55. [https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(02\)92556-8](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(02)92556-8).
- Peeters, N., Carrère, S., An, J., Abbate, C., et al. (2013). *Ralstonia solanacearum*—A widespread bacterial plant pathogen in the post-genomic era. *Molecular Plant Pathology*, 14(7), 651-662.
- Prior, P., Ailloud, F., Cellier, G., Rincón-Flórez, V. A., et al. (2016). Genomic and proteomic evidence for the speciation of the *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC). *Frontiers in Plant Science*, 7, 1430.
- Poveda, J., Baptista, P., & González-Andrés, F. (2021). Trichoderma as a sustainable biocontrol agent for crop diseases: Recent advances. *Frontiers in Plant Science*, 12, 728443. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.728443>
- Peyraud, R., Cottret, L., Marmiesse, L., Gouzy, J., & Genin, S. (2016). A resource allocation trade-off between virulence and proliferation drives metabolic versatility in the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *PLoS Pathogens*, 12(10), Article e1005939. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005939>
- Rorer, J.B. (1911). A bacterial disease of bananas. *Phytopathology* 1(2):45–48. (*Confirma Trinidad, ~1890–1895*

- Ramírez, M., Neuman, B. W., & Ramírez, C. A. (2020). Bacteriophages as promising agents for the biological control of Moko disease (*Ralstonia solanacearum*) of banana. *Biological Control*, 149, 104238.
- Ramírez, C. A., Rendón, J. A., & Posada, M. A. (2020). Phylogenetic and pathogenic variability of strains of *Ralstonia solanacearum* causing moko disease in Colombia. *Plant Pathology*, 69(5), 865-874.
- Suzuki, N., et al. (2020). Ex ante assessment of returns on research investments to address the impacts of Fusarium Tropical Race 4. *Frontiers in Plant Science*, 11, 844. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00844>
- Sharma, P., Johnson, M. A., Mazloom, R., Allen, C., Heath, L. S., & Lowe, T. M. (2022). Meta-analysis of the *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC) based on comparative evolutionary genomics and reverse ecology. *Microbial Genomics*, 8(3), 000791. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000791>
- Shukla, A. K., et al. (2020). Mechanistic insights into host adaptation, virulence and epidemiology of the phytopathogen *Xanthomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(1), 1–32. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz038>
- Vallejo, J. A., et al. (2024). Physiological response induced by biostimulants on plantain plants (Musa AAB) under *Ralstonia solanacearum* race 2 stress. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 56(1), 1-12.
- Yuliar, N., Nion, Y. A., & Toyota, K. (2015). Recent updates on the bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum*. *Microbes and Environments*, 30(1), 1–11. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14144>

Anexos

Anexo 1. Distribución de concentraciones de glifosato y bacteria en la microplaca de 96 pozos

En la siguiente tabla se representa la organización de los tratamientos utilizados en la microplaca de 96 pozos, indicando concentraciones de glifosato, control positivo (Bacteria + glifosato), y el control negativo (medio sin bacteria).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CPG + NaCl	CPG + NaCl	CPG + NaCl	CPG + NaCl	CPG + NaCl		CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	
B	100,000ppm+ NaCl	100,000ppm +NaCl	100,000ppm +NaCl	100,000ppm +NaCl	100,000ppm +NaCl		100,000ppm + Bac	100,000ppm + Bac	100,000ppm + Bac	100,000ppm + Bac	100,000ppm+ Bac	
C	50,000ppm + NaCl	50,000ppm + NaCl	50,000ppm + NaCl	50,000ppm + NaCl	50,000ppm + NaCl		50,000ppm + Bac	50,000ppm + Bac	50,000ppm + Bac	50,000ppm + Bac	50,000ppm + Bac	
D	25,000ppm + NaCl	25,000ppm + NaCl	25,000ppm + NaCl	25,000ppm + NaCl	25,000ppm + NaCl		25,000ppm + Bac	25,000ppm + Bac	25,000ppm + Bac	25,000ppm + Bac	25,000ppm + Bac	
E	12,500ppm + NaCl	12,500ppm + NaCl	12,500ppm + NaCl	12,500ppm + NaCl	12,500ppm + NaCl		12,500ppm + Bac	12,500ppm + Bac	12,500ppm + Bac	12,500ppm + Bac	12,500ppm + Bac	
F	6,250ppm +NaCl	6,250ppm + NaCl	6,250ppm + NaCl	6,250ppm. + NaCl	6,250ppm + NaCl		6,250ppm. + Bac	6,250ppm + Bac	6,250ppm + Bac	6,250ppm + Bac	6,250ppm + Bac	
G	3,125ppm + NaCl	3,125ppm + NaCl	3,125ppm + NaCl	3,125ppm + NaCl	3,125ppm + NaCl		3,125ppm + Bac	3,125ppm + Bac	3,125ppm + Bac	3,125ppm + Bac	3,125ppm + Bac	
H	1,562ppm + NaCl	1,562ppm + NaCl	1,562ppm + NaCl	1,562ppm + NaCl	1,562ppm + NaCl		1,562ppm +Bac	1,562ppm +Bac	1,562ppm +Bac	1,562ppm +Bac	1,562ppm +Bac	
Inocular						Inocular						

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CPG + NaCl	CPG + NaCl	CPG + NaCl	CPG + NaCl	CPG + NaCl		CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	CPG + NaCl+Bac	
B	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl		190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	
C	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl		190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	
D	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl		190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	
E	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl		190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	
F	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl		190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	
G	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl		190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	
H	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl	190 + 10 NaCl		190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	190 + (10 uL Bac)	
Inocular						Inocular						