Acorbat Revista de Tecnología y Ciencia

Bacterias nativas antagonistas de *Ralstonia solanacearum* raza 2 agente causal del Moko en banano

Nancy Chaves Méndez[1], Gabriel Bogantes León[1], Rafael Segura Mena[1]
[1]Dirección de Investigaciones, Corporación Bananera Nacional (CORBANA)

***Autor de correspondencia:**
Nancy Chaves Méndez
nchaves@corbana.co.cr

Contribución:
Artículo Científico

Sección:
Fitosanidad

Recibido:
15 diciembre, 2025
Publicado:
30 abril, 2026

Cita:
Chaves Méndez N, Bogantes León G, Segura Mena R. 2026 Bacterias nativas antagonistas de *Ralstonia solanacearum* raza 2 agente causal del Moko en banano. *Acorbat Revista de Tecnología y Ciencia* 3(1): 123 https://doi.org/10.62498/ARTC.26123

RESUMEN

La marchitez bacteriana del banano causada por *Ralstonia solanacearum* raza 2, conocida como enfermedad del Moko, representa una de las principales limitaciones fitosanitarias en la producción bananera tropical debido a la persistencia del patógeno en el suelo y a la limitada disponibilidad de cultivares resistentes. En este contexto, el uso de microorganismos benéficos ha sido propuesto como una estrategia sostenible para el manejo de patógenos del suelo. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antagonista *in vitro* de bacterias aisladas de suelos de plantaciones de banano con historial de la enfermedad del Moko en la región Caribe de Costa Rica contra *R. solanacearum*. Se obtuvieron 60 aislamientos bacterianos que fueron evaluados mediante ensayos de confrontación directa para determinar su potencial antagonista. De estos, 26 aislamientos mostraron actividad inhibitoria frente al patógeno, con porcentajes de inhibición que oscilaron entre 3.8 % y 55.0 %. Los aislamientos COR-CB-022, PDAC4 y BQ42 presentaron los mayores niveles de inhibición (55.0 %, 46.3 % y 39.4 %, respectivamente), produciendo halos de inhibición estables. La caracterización morfológica y molecular basada en el análisis del gen 16S rRNA indicó que los aislamientos más promisorios pertenecen al género *Bacillus*. Estos resultados evidencian que los suelos bananeros del Caribe costarricense albergan comunidades bacterianas con potencial de biocontrol, proporcionando una base científica para el desarrollo de estrategias de manejo integrado orientadas a reducir la presión de inóculo del patógeno.

Palabras clave: Control biológico, *Bacillus*, Microbiota, Musáceas

ABSTRACT

Bacterial wilt of banana caused by *Ralstonia solanacearum* race 2, known as Moko disease, represents one of the primary phytosanitary constraints in tropical banana production due to the persistence of the pathogen in soil and the lack of resistant cultivars. In this context, the use of beneficial microorganisms has been proposed as a sustainable strategy for the management of soil-borne pathogens. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* antagonistic activity of bacteria isolated from the soils of banana plantations with a history of Moko disease in the Caribbean region of Costa Rica against *R. solanacearum*. A total of 60 bacterial isolates were obtained and evaluated using direct confrontation assays to determine their antagonistic potential. Among them, 26 isolates showed inhibitory activity against the pathogen, with inhibition percentages ranging from 3.8% to 55.0%. The isolates COR-CB-022, PDAC4, and BQ42 exhibited the highest levels of inhibition (55.0%, 46.3%, and 39.4%, respectively), producing stable inhibition halos. Morphological and molecular characterization based on 16S rRNA gene analysis indicated that the most promising isolates belong to the genus *Bacillus*. These results demonstrate that banana plantation soils in the Caribbean region

Copyright: © 2026 por los autores. Licencia Acorbat Internacional. Este artículo es de acceso libre y distribuido bajo los términos de Acorbat Internacional

of Costa Rica harbor bacterial communities with biocontrol potential, providing a scientific basis for the development of integrated management strategies aimed at reducing the pathogen's inoculum pressure.

Keywords: Biological control, *Bacillus*, Microbiota, Musaceae

INTRODUCCIÓN

El Moko del banano, causado por *Ralstonia solanacearum* raza 2, constituye una de las enfermedades más destructivas del cultivo en regiones tropicales y subtropicales (Belalcázar, 2004; Valencia, 2014). Su manejo resulta particularmente complejo debido a la persistencia del patógeno en el suelo, su amplio rango de hospederos, la elevada variabilidad genética del complejo de especies y la ausencia de variedades comerciales con resistencia comprobada (Castañeda & Espinosa, 2005). En Costa Rica, la enfermedad ha mostrado un incremento sostenido en los últimos años, generando pérdidas económicas significativas y evidenciando la necesidad de estrategias de manejo más sostenibles y ajustadas a las condiciones edafoclimáticas locales (Chaves *et al*., 2025).

Históricamente, las estrategias de manejo de Moko se han basado principalmente en la erradicación de plantas enfermas, la desinfección de herramientas, control de vectores y la aplicación de medidas de exclusión sanitaria, complementadas con rotaciones de cultivo y largos períodos de barbecho (Ojeda, 2023). Sin embargo, estas prácticas suelen ser insuficientes para reducir la presión de inóculo a niveles seguros, especialmente en suelos con alta carga microbiana y condiciones favorables para la sobrevivencia del patógeno. Ante estas limitaciones, el control biológico surge como una alternativa prometedora dentro de los programas de manejo integrado del Moko, al ofrecer un enfoque ambientalmente seguro y compatible con sistemas de producción convencional y orgánica (Hasinu *et al*., 2021).

Diversos estudios han documentado el potencial de bacterias del género *Bacillus* y de hongos como *Trichoderma* spp. para suprimir *R. solanacearum* mediante distintos mecanismos de acción, entre ellos la producción de antibióticos, sideróforos y enzimas líticas, así como por competencia por espacio y nutrientes (Molinari & Quintana, 2025). De manera complementaria, la fagoterapia agrícola basada en el uso de bacteriófagos líticos específicos ha demostrado resultados alentadores en condiciones de laboratorio e invernadero, logrando reducir significativamente la incidencia de la enfermedad mediante el uso de cócteles de fagos activos contra cepas nativas del patógeno (Ramírez *et al*., 2020; Laprea & Saltos, 2025). En conjunto, estas estrategias biológicas, integradas con prácticas de manejo del suelo y bioenmiendas orgánicas,

representan un enfoque integral orientado no solo a disminuir la incidencia del Moko, sino también a restaurar la salud microbiana y funcionalidad del agroecosistema.

En este contexto, la presente investigación busca contribuir al desarrollo de alternativas biológicas sostenibles para el manejo del Moko del banano en sistemas tropicales, mediante la evaluación *in vitro* de microorganismos bacterianos nativos con actividad antagonista frente a *Ralstonia solanacearum*, aislados de suelos rizosféricos y de suelos con historial de Moko.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y procedencia de los aislamientos

El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Control Biológico y Biología Molecular de la Corporación Bananera Nacional (CORBANA), empleando microorganismos nativos previamente aislados de suelos bananeros del Caribe de Costa Rica, provenientes de fincas con historial confirmado de Moko (*R. solanacearum* raza 2).

Las muestras de suelo se recolectaron en la zona rizosférica de plantas aparentemente, así como en áreas aledañas a sitios donde se realizó la erradicación de plantas afectadas por Moko. El muestreo se realizó a una profundidad de 0–20 cm utilizando herramientas previamente desinfectadas. Las muestras fueron almacenadas en bolsas estériles, conservadas a 4 °C y procesadas en el laboratorio en un período máximo de 48 horas posteriores a su recolección.

Aislamiento, purificación y selección de microorganismos nativos

Los aislamientos bacterianos se obtuvieron a partir de muestras de suelo mediante diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-5}) y siembra en medios de cultivo generales y selectivos, incluyendo Agar nutritivo y King's B, este último para bacterias fluorescentes. Tras la incubación, se seleccionaron un total de 60 colonias con morfologías contrastantes, las cuales fueron purificadas mediante estría sucesiva hasta obtener cultivos axénicos. Las cepas purificadas fueron caracterizadas preliminarmente con base en criterios fenotípicos, incluyendo morfología colonial, tinción de Gram y producción de pigmentación. Posteriormente, los aislamientos seleccionados se conservaron en glicerol al 20 % y almacenados a –80 °C para su evaluación posterior en los ensayos de antagonismos *in vitro* (Hasinu *et al*., 2021; Molinari & Quintana, 2025).

Cepa del patógeno y condiciones de cultivo

La cepa de *Ralstonia solanacearum* raza 2 utilizada en el estudio fue aislada a partir de plantas de banano con síntomas de Moko y confirmada molecularmente como

perteneciente al filotipo II, sequevar 3/4/6. La identificación se realizó mediante la amplificación gel gen 16S rRNA y la comparación de las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia utilizando la herramienta BLAST (Ramírez *et al*., 2020). El patógeno se mantuvo en medio TTC (cloruro de trifeniltetrazolio) e incubado a 28 °C durante 48 horas. La viabilidad y virulencia de la cepa se verificaron mediante la observación de colonias fluidas de color blanquecino, características de cepas virulentas de *R. solanacearum* (Belalcázar, 2004).

Ensayos de antagonismo *in vitro*

La capacidad inhibitoria de los aislamientos bacterianos nativos frente a *R. solanacearum* se evaluó mediante dos metodologías complementarias de antagonismo *in vitro*. En el ensayo de difusión en papel filtro, se utilizaron discos estériles de 6 mm de diámetro (Whatman No. 1), los cuales fueron impregnados con 20 µl de una suspensión bacteriana ajustada a una concentración de 10^8 UFC ml^{-1}. Los discos se colocaron sobre placas previamente inoculadas con el patógeno en fase de crecimiento logarítmico.

De manera paralela, se realizó un ensayo de enfrentamiento directo, en el cual los aislamientos antagonistas se inocularon en medio Agar nutritivo (NA) a una distancia aproximada de 2 cm del crecimiento inicial del patógeno. En ambos casos, las placas se incubaron a 28 °C y la inhibición del crecimiento de *R. solanacearum* se evaluó a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la incubación.

El efecto antagonista se expresó como porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno (I %), el cual se calculó mediante la siguiente formula:

$$I(\%) = \frac{(D_c - D_t)}{D_c} \times 100$$

donde D_c corresponde al diámetro de crecimiento del patógeno en el control y D_t al diámetro de crecimiento observado en presencia del asilamiento antagonista (Ojeda, 2023).

Caracterización molecular de cepas destacadas

Las cepas que presentaron un porcentaje de inhibición igual o superior al 30 % fueron seleccionadas para su identificación molecular mediante la amplificación del gen 16S rRNA, utilizando los cebadores universales 27F y 1492R. Las secuencias obtenidas fueron analizadas mediante comparación con bases de datos de referencia empleando la herramienta BLAST del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y las cepas fueron clasificadas a nivel taxonómico con base en el porcentaje de identidad de secuencia.

Análisis estadístico

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento. Los datos correspondientes al porcentaje de inhibición fueron sometidos a transferidos a una transformación de raíz cuadrada ($\sqrt{x} + 1$) previa al análisis estadístico. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. Todos los análisis se llevaron a utilizando el software R versión 4.3. y los resultados se expresaron como medias ± desviación estándar.

RESULTADOS

De los 60 aislamientos bacterianos nativos evaluados, 34 no mostraron un efecto inhibitorio detectable sobre el crecimiento de *R. solanacearum* y fueron descartados (Figura 1). Estos se caracterizaron por la ausencia de halos de inhibición, permitiendo un crecimiento del patógeno comparable al control.

A partir de este primer filtrado, se seleccionaron 26 aislamientos que presentaron algún grado de actividad antagonista frente al patógeno, los cuales fueron sometidos a evaluación cuantitativa. Los valores de inhibición del crecimiento radial oscilaron entre 3.8 % y 55.0 %, lo que evidencia una amplia variabilidad en la respuesta de los microorganismos evaluados (Figura 2). Entre estos, los aislamientos COR-CB-022, PDAC4 y BQ42 destacaron con los niveles de inhibición más elevados, alcanzando promedios de 55.0 %, 46.3 % y 39.4 %, respectivamente. Por su parte, los aislamientos ANP31, PDA2 y ANP11 presentaron niveles de inhibición intermedios, mientras que el resto de las cepas mostró efectos menores, aunque consistentes, sobre el crecimiento del patógeno.

La caracterización fenotípica indicó que los aislamientos con mayor actividad antagonista presentaron una morfología de bacilos Gram positivos. El análisis molecular basado en la amplificación y secuenciación del gen 16S rRNA confirmó que los aislamientos COR-CB-022, PDAC4 y BQ42 pertenecen al género *Bacillus*, mostrando altos niveles de similitud con especies reportadas dentro de este grupo.

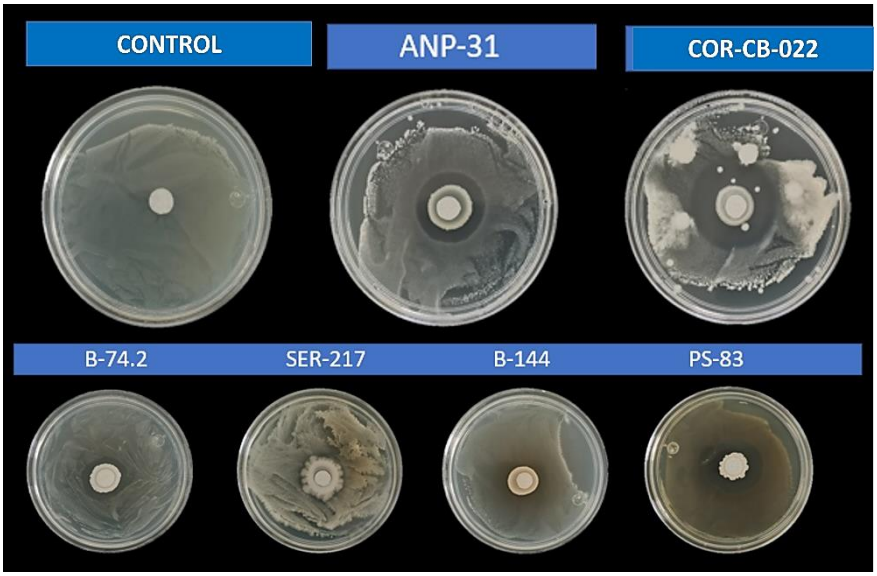


Figura 1. Evaluación *in vitro* de la actividad antagónica de aislamientos bacterianos nativos frente a *Ralstonia solanacearum*. En la fila superior se observa el Control (crecimiento total del patógeno sin inhibición) y los aislamientos con mayor actividad, destacando COR-CB-022 por la formación de un halo de inhibición claro y definido. En la fila inferior se presentan aislamientos con diferentes grados de antagonismo (B-74.2, SER-217, B-144 y PS-83), donde se evidencia la competencia por espacio y la supresión del crecimiento radial de la bacteria fitopatógena en comparación con el testigo.

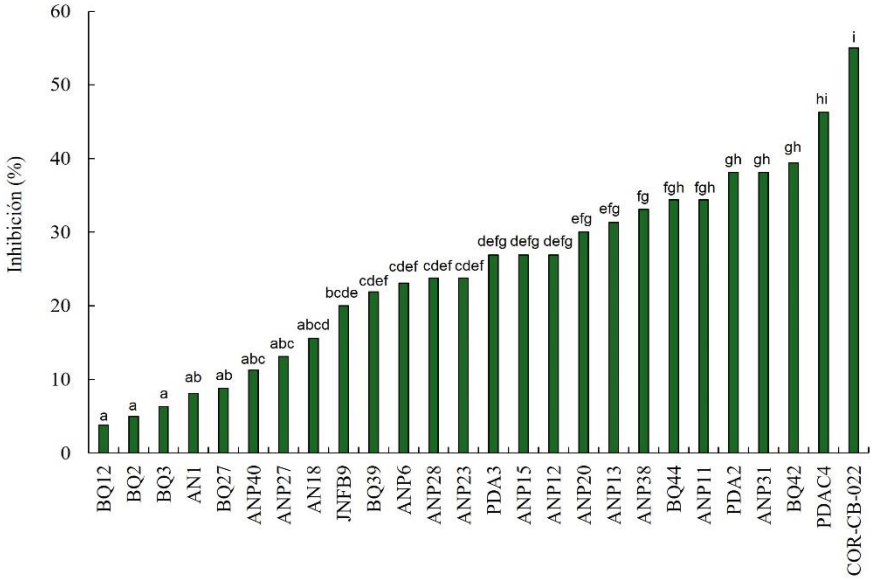


Figura 2. Porcentaje de inhibición *in vitro* del crecimiento radial de *Ralstonia solanacearum* por aislamientos bacterianos nativos. Las barras representan el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0{,}05$).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos evidencian que, si bien los suelos bananeros del Caribe costarricense albergan una alta diversidad microbiana, solo una fracción de los aislamientos bacterianos evaluados presenta actividad antagonista frente a *Ralstonia solanacearum*. La exclusión inicial de aislamientos sin efecto inhibitorio resalta la necesidad de procesos de selección rigurosos en estudios de bioprospección, ya que la sola procedencia rizosférica o de suelos con historial de Moko no garantiza actividad biocontroladora.

La amplia variabilidad observada en los porcentajes de inhibición, que oscilaron entre valores bajos y efectos superiores al 50 %, sugiere diferencias funcionales marcadas entre los aislamientos, posiblemente asociadas a la producción diferencial de metabolitos antimicrobianos, competencia por nutrientes o mecanismos de exclusión espacial. Este patrón coincide con reportes previos en sistemas tropicales, donde únicamente un subconjunto reducido de la microbiota del suelo exhibe un antagonismo efectivo frente a patógenos de importancia económica (Hasinu *et al*., 2021; Molinari & Quintana, 2025).

Los aislamientos con mayor actividad antagonista, particularmente COR-CB-022, PDAC4 y BQ42, generaron halos de inhibición amplios y estables, lo que sugiere un efecto antibiótico sostenido. La posterior identificación molecular de las cepas destacadas como pertenecientes al género *Bacillus* concuerda con la literatura, que reconoce a este grupo como uno de los principales agentes bacterianos utilizados en el control biológico de marchiteces bacterianas, debido a su capacidad para producir lipopéptidos antimicrobianos, sideróforos y enzimas hidrolíticas, así como por su elevada persistencia en el suelo y la rizósfera (Hasinu *et al*., 2021).

La predominancia de *Bacillus* spp. entre los aislamientos más efectivos puede atribuirse a su alta adaptabilidad a condiciones de humedad elevada y variabilidad edáfica, características propias de las zonas bananeras del Caribe costarricense. Estas propiedades favorecen su establecimiento y supervivencia en el suelo, lo que representa una ventaja clave para su eventual aplicación en condiciones de campo.

En conjunto, los resultados obtenidos respaldan la importancia de enfoques escalonados de selección *in vitro* como etapa preliminar en el desarrollo de estrategias de control biológico del Moko del banano. La validación de los aislamientos más promisorios bajo condiciones de campo, así como su integración con prácticas de manejo del suelo y enmiendas orgánicas, permitiría avanzar hacia esquemas de manejo integrado más sostenibles, orientados a la reducción de la presión de inóculo y a la restauración de la funcionalidad microbiana del agroecosistema bananero.

CONCLUSIONES

Los suelos bananeros del Caribe costarricense constituyen una fuente importante de microorganismos bacterianos nativos con potencial para el control biológico de *Ralstonia solanacearum*, agente causal del Moko del banano. Si bien una proporción significativa de los aislamientos evaluados no presentó actividad antagonista, el proceso de selección permitió identificar un grupo reducido de cepas con efectos inhibitorios consistentes *in vitro*, destacándose COR-CB-022, PDAC4 y BQ42 por presentar los mayores porcentajes de inhibición. La identificación de estas cepas como pertenecientes al género *Bacillus* respalda su potencial aplicación en estrategias de manejo integrado del Moko, debido a su reconocida capacidad antagonista y adaptabilidad a condiciones tropicales. Se requieren estudios adicionales para la caracterización genómica profunda y para confirmar su eficacia en condiciones de planta y suelo, tanto de forma individual como en consorcios microbianos, con el fin de desarrollar alternativas biotecnológicas sostenibles para la industria bananera nacional.

REFERENCIAS

Belalcázar S. 2004. El Moko del banano y plátano: epidemiología y estrategias de manejo. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Colombia.

Castañeda D and Espinosa J. 2005. Manejo integrado del Moko del banano (*Ralstonia solanacearum* raza 2). Revista Fitopatología Colombiana 29(2), 45–52.

Chaves M, Rodríguez L and Vargas J. 2025. Situación actual del Moko del banano en Costa Rica y desafíos para su manejo sostenible. Revista de Ciencias Agrícolas 42(1), 15–27.

Hasinu J, Kannan V and Subramanian P. 2021. Biological control of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* using native *Bacillus* spp. Biological Control 158, 104602. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104602

Laprea J and Saltos M. 2025. Bacteriophages as biocontrol agents against *Ralstonia solanacearum* in tropical crops. Phytopathology 115(3), 345–356.

Molinari A and Quintana F. 2025. Antagonistic activity of soil microorganisms against bacterial and fungal pathogens in banana cropping systems. Journal of Applied Microbiology 128(4), 1120–1132.

Ojeda L. 2023. Evaluación de microorganismos nativos para el control biológico del Moko del banano (*Ralstonia solanacearum* raza 2). Tesis de maestría, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Ramírez P, González R and Herrera M. 2020. Antagonistic bacteria and bacteriophages for the control of *Ralstonia solanacearum* in tropical crops. Plant Disease 104(6), 1645–1653. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-19-1734-RE

Valencia J. 2014. Enfermedades bacterianas del banano y plátano en América Latina. Editorial Universidad Nacional de Colombia.

Ramírez M, Neuman B and Ramírez CA. 2020. Bacteriophages as promising agents for the biological control of Moko disease (*Ralstonia solanacearum*) of banana. Biological Control 104238.

Valencia M. 2014. Epidemiología y control de *Ralstonia solanacearum* raza 2 en musáceas. ICA, Colombia.