

RELACIÓN ENTRE LA DESFLORA EN EL CAMPO DEL RACIMO DE BANANO (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) Y LA PUDRICIÓN BACTERIANA SUAVE DEL DEDO

Mauricio Guzmán¹, Ricardo Villalta¹ e Igor D. Martínez²

1/Dirección de Investigaciones, CORBANA S.A., Apdo. 390-7210, Guápiles, Costa Rica. 2/Agronegocios Suplidora Verde, Apdo. 992-7050, Cartago, Costa Rica.

ABSTRACT

Relation between field deflowering of banana bunch (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) and bacterial finger soft rot. The aim of the study was to determine the relationship between the deflowering of banana bunch in the field and the bacterial finger soft rot. In addition, the role of the worker in the dispersion of the bacteria, disinfection as a preventive measure and the molecular identification of the causal agent was also studied. Five experiments were conducted between March and August 2004, in two banana plantations (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) with high occurrence of the disease. The deflowering in the field of bunches of two weeks of age increased the incidence of the disease, due to the wounds that occur when floral parts are eliminated, that facilitate the penetration of the bacteria, probably transmitted by the hands of the worker. The disinfection of the hands of the worker, prior to the deflowering, was more effective in reducing the incidence of the disease than the spraying of the tip of the fingers with disinfectants immediately after deflowering. The quaternary ammonium and the citrus seed extract were more effective as disinfectants for the hands of the worker than alcohol and iodine. The presence of diseased fingers was observed in similar proportions, in both, the internal and external finger series of each hand, as well as between the apical and basal hands of the bunch. Do not perform the practice of bunch deflowering in the field is the best way to reduce the incidence of the disease. However, if such a practice is necessary, for aspects of management or combat of other pests, the disinfection of the hands of the worker constitutes a viable alternative. This is the first report which shows the relationship between the practice of deflowering in the field and the bacterial finger soft rot of banana, with causal agent was identified as *Dickeya dadantii*.

Key words: bacterial diseases, disease transmission, disinfection, fruit diseases.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la relación entre la desflora del racimo de banano en el campo con la pudrición bacteriana suave del dedo. Además, se estudió el papel del desflorador en la dispersión de la bacteria, la desinfección como medida de prevención y la identificación molecular del agente causal. Cinco experimentos se realizaron entre marzo y agosto de 2004 en dos plantaciones de banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) con alta incidencia de la enfermedad. La desflora en el campo aumentó la incidencia de la enfermedad, debido a las heridas que se producen al eliminar las partes florales y que facilitan la penetración de la bacteria que es posiblemente transmitida por las manos del desflorador. La desinfección de las manos del desflorador, previo a la desflora, fue más efectiva para reducir la incidencia de la enfermedad que la aspersión del extremo de los frutos con desinfectantes, inmediatamente después de la desflora. El amonio cuaternario y el extracto de semillas de cítricos fueron más efectivos como desinfectantes para las manos del desflorador que el alcohol y el yodo. La presencia de dedos enfermos se observó en proporciones similares tanto en la

serie interna como externa de cada mano, así como entre las manos basales y apicales del racimo. No realizar la práctica de desflora en el campo constituye la mejor forma de reducir la incidencia de la enfermedad. Sin embargo, si dicha práctica fuese necesaria, por aspectos de manejo o combate de otras plagas, la desinfección de las manos del trabajador constituye una alternativa viable. Este documento constituye el primer informe donde se demuestra la relación entre la práctica de desflora en el campo y la pudrición bacteriana suave del dedo de banano, cuyo agente causal fue identificado como *Dickeya dadantii*.

Palabras clave: desinfección, enfermedades bacterianas, enfermedades del fruto, transmisión de enfermedades.

INTRODUCCIÓN

La práctica de desflora en el campo consiste en eliminar manualmente el perianto, los estambres y el estilo terminal, que persisten adheridos al fruto de banano, durante los primeros 15 días de haber emergido el racimo por el boquete floral (Vargas 2014). Esta práctica ayuda a disminuir la incidencia de lesiones en el racimo a causa del crecimiento de los frutos, enfermedades fungosas y daños causados por el insecto *Anatrachyntis rileyi* (Gusano basurero) (Cubillo y Guzmán 2003). Se ha demostrado que la desflora en el campo no afecta el peso del racimo, ni el grosor y largo de los frutos (Vargas *et al.* 2003 y Vargas 2013).

La pudrición suave del dedo fue inicialmente descrita como una enfermedad del fruto de banano en Trinidad y Tobago (Wardlaw 1961), Honduras y Nicaragua (Stover 1972). En este último país, según el último autor, se observó hasta un 20 % de incidencia, pero no obstante desapareció en pocos meses. También fue descrita en Panamá (Changuinola) y Filipinas (Mindanao) por Stover y Simmonds (1987) y por Guzmán y Wang (1998) en Costa Rica.

Stover (1972) fue el primero en investigar sobre esta enfermedad y describió dos tipos de bacterias aisladas de tejido proveniente

de Honduras, una de las cuales produjo dextrinas en cultivo. Ambos tipos de bacterias (productoras y no productoras de dextrinas) causaron los síntomas característicos de la enfermedad al inocularse en frutos sanos. Posteriormente, Stover y Simmonds (1987) identificaron la bacteria *Erwinia chrysanthemi* (sin. *Dickeya chrysanthemi*, Samson *et al.* 2005) como causante de pudrición en rizoma y frutos de banano en Panamá. Choi *et al.* (1988), encontraron las bacterias *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (sin. *Pectobacterium carotovorum* Hauben *et al.* 1998, Charkowski 2007) y *Pseudomonas cichorii* asociadas con la enfermedad en Korea. Guzmán y Wang (1998), quienes realizaron un estudio detallado de la enfermedad en Costa Rica, describieron la bacteria *Erwinia carotovora* (sin. *Pectobacterium carotovorum*) como principal agente causante de la pudrición suave del dedo en bananos del subgrupo Cavendish (*Musa* AAA) en plantaciones del Caribe.

El patógeno infecta el fruto en las primeras semanas de su desarrollo por heridas o fracturas que se producen en las estructuras florales y se mantiene latente en la punta del mismo hasta que se aproxima el momento de la cosecha, que es cuando se manifiestan los síntomas de la enfermedad (Guzmán y

Wang 1998). La bacteria es un habitante normal de las plantaciones bananeras y se reproduce en los tejidos en descomposición con un alto contenido de humedad, como los pseudopetiolos que quedan unidos al pseudotallo de la planta y los pseudotallos en pie de las plantas cosechadas. También, se encuentra en los estigmas de las flores, hasta donde puede ser llevada por los aerosoles producto de las lluvias, sistemas de irrigación y por insectos (Guzmán y Wang 1998). La dispersión de este tipo de bacterias por los medios antes descritos ha sido demostrado en diferentes estudios (Graham y Harrison 1975, Harrison y Brewer 1980, Perombelon y

Kelman 1980, Fitt *et al.* 1983, Silva de Jaczko *et al.* 1983, Fucikovsky y Villarreal 1991).

Los síntomas iniciales de la enfermedad se manifiestan como pequeñas manchas acuosas por debajo de la epidermis del fruto. Posteriormente, el tejido desarrolla una necrosis y se desnaturaliza (Figura 1). La enfermedad progresa rápidamente y puede destruir por completo el fruto en un período de cinco días (Guzmán y Wang 1998). El desarrollo de esta enfermedad se debe a la acción de enzimas extracelulares producidas por estas especies como pectato liasas, poligalacturonasa, celulasa y proteasa, que degradan los componentes



Fig 1. Síntomas avanzados de la pudrición suave del dedo (*Dickeya dadantii*) en un racimo de banano (*Musa* AAA cv., Grande Naine) próximo a la cosecha en una finca del Pacífico Central de Costa Rica.

de la pared celular de las plantas, lo cual conlleva a la maceración de los tejidos y la liberación de nutrientes para el crecimiento bacteriano (Franco y Stefanova 2008). Para su manejo se recomienda establecer en el campo un estricto programa de eliminación de los sitios de reproducción de la bacteria, para así mantener bajos los niveles de inóculo (Stover 1972, Guzmán y Wang 1998).

A partir de 1994, esta enfermedad cobró relevancia en las plantaciones comerciales del Caribe de Costa Rica, especialmente en áreas de renovación, en siembras nuevas con altas densidades de población y cuando se realiza la práctica de desflora en el campo (Guzmán y Wang 1998). Se ha sospechado que la bacteria puede ser transmitida por el desflorador, al realizar la práctica en el campo, pero esto no había sido demostrado.

El objetivo de esta investigación fue determinar la relación entre la práctica de desflora en el campo con la incidencia de la pudrición suave del dedo; así como evaluar la posibilidad de prevenir la transmisión de la bacteria con el uso de desinfectantes e identificar el agente causal de la enfermedad por técnicas moleculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en dos fincas comerciales de banano, una ubicada en el Pacífico Central (Frutas Selectas del Trópico) y otra en el Caribe de Costa Rica (finca Pénjamo). El estudio se efectuó de marzo a agosto de 2004, en áreas de primer ciclo de cultivo (Pacífico Central) y plantación establecida (Caribe) sembradas con el cultivar Grande Naine (*Musa* AAA).

Los suelos del Pacífico Central se han formado a partir del arrastre de partículas provenientes de depósitos marinos y clásticos finos y localmente calizas (Dondoli *et al.* 1968). Se consideran de alta fertilidad debido al material parental. Los suelos del Caribe (zona oeste), se caracterizan por haberse formado mayormente de coladas de lava y rocas piroclásticas. Debido al tipo de material parental se consideran como de baja fertilidad. El Pacífico Central muestra una distribución de lluvia muy diferente a la de otras zonas bananeras de Costa Rica, con un período seco entre los meses de diciembre y abril lo que hace necesario aplicar riego para la obtención de mayores producciones. En dicha zona el brillo solar es mayor que el existente en las zonas bananeras del Caribe, aspecto ventajoso para la productividad (Lopez y Solís 1991).

Se realizaron cinco experimentos, así como la identificación y caracterización molecular del organismo causal de la enfermedad, en áreas de alta incidencia de pudre de dedo. La descripción de los tratamientos en los experimentos del uno al tres se muestra en el Cuadro 1. En estos tres experimentos para la desinfección de las manos de los desfloradores, así como para la aspersión de frutos, se utilizó una bomba manual de un litro de capacidad. La composición y fabricante de los desinfectantes se muestra en el Cuadro 2. En el experimento cuatro se evaluó la incidencia de la pudrición suave en racimos de ingreso a la planta empacadora, en dos épocas diferentes y provenientes de distintas secciones o “cables” de una finca comercial (Pacífico Central) sin y con la práctica de desflora en el campo. En el experimento cinco se cuantificó en las

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos en los tres experimentos desarrollados.

T ¹	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
1	Sin desflora en el campo (SD).	CD, asperjando inmediatamente después las puntas de los dedos del fruto con agua.	Con desflora en el campo.
2	Con desflora en el campo (CD).	CD, asperjando inmediatamente después las puntas de los dedos del fruto con Bromorex [®] (5 ml L ⁻¹).	Sin desflora en el campo.
3	CD, con una desinfección previa de las manos del desflorador, cada 5 racimos, con alcohol 96 % diluido al 50 %.	CD, asperjando inmediatamente después las puntas de los dedos del fruto con Kilol [®] L DF-100 11 SL (10 ml L ⁻¹).	CD, con desinfección previa de las manos del desflorador, cada 2 racimos, con BR-10 H [®] al 2 %.
4	CD, con una desinfección previa de las manos del desflorador, cada 5 racimos, con Kilol [®] L DF-100 11 SL (10 ml L ⁻¹ de agua).	CD, asperjando inmediatamente después las puntas de los dedos del fruto con una solución de ácido acético al 3 %.	CD, con desinfección previa de las manos del desflorador, cada 2 racimos, con Vanodine [®] al 2 %.
5	CD, asperjando inmediatamente después las puntas de los dedos del fruto con Kilol [®] L DF-100 11 SL (10 ml L ⁻¹ de agua).	CD, asperjando inmediatamente después las puntas de los dedos del fruto con una solución de ácido cítrico al 3 %.	
6	CD, asperjando inmediatamente después las puntas de los dedos del fruto con cloro (250 mg L ⁻¹).	CD, con desinfección previa de las manos del desflorador, cada 5 racimos, con Kilol [®] L DF-100 11 SL (10 ml L ⁻¹).	

1/ Tratamientos.

Cuadro 2. Desinfectantes utilizados en los diferentes experimentos.

Producto	Composición	Casa comercial o Fabricante
Kilol® L DF-100 11 SL	Extracto de semillas de cítricos 11 %	Citrobio
Alcohol	Alcohol 96° G.L.	Pharmed Group
Cloro	Hipoclorito de sodio 3,5 %	Los Conejos
Bromorex®	Extractos de chile, ajo y mostaza 1,5 %	Agroambiente de C R
Ácido acético	Ácido acético glacial 99,9 % pureza	J.T. Baker Cemical Co.
Ácido cítrico	Ácido cítrico anhidro 99,8 % pureza	J.T. Baker Cemical Co.
BR-10 H®	Mezcla de aminas poliméricas 42 %	Quimusa
Vanodine®	Yodo 2,5 %; H ₂ PO ₃ 12,5 % y H ₂ SO ₄ 8 %	Pfizer

dos fincas comerciales (Pacífico Central y Caribe) la proporción de frutos enfermos en la serie externa e interna de cada mano del racimo y la proporción de manos enfermas en la parte basal y apical del racimo.

En la totalidad de experimentos, los diferentes tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar, en el que cada racimo en edad de desflora fue una repetición. La desflora en el campo consistió en eliminar manualmente el perianto, los estambres y el estilo terminal, que persisten adheridos al fruto del banano. Esta labor se realizó en dos etapas, durante los primeros quince días de haber emergido el racimo por el boquete floral. El número de repeticiones fue: de 21 a 25 (racimos) y 110 a 134 (manos) en el experimento 1, de 13 a 18 (racimos) y 85 a 110 (manos) en el experimento 2, de 35 a 40 (racimos) y 247 a 287 (manos) en el experimento 3, de 58 a 106 (racimos) y 379 a 581 (manos) en el experimento 4 y de 23 a 83 (racimos, Pacífico Central) y 45 (racimos, Caribe) en el experimento 5.

Las variables medidas (a la cosecha) en los experimentos del 1 al 3 fueron: grosor del fruto (treintaidosavos de pulgada) de la fila externa de: 1- segunda y 2- cuarta mano, 3- racimos infectados (%), 4- manos infectadas (%), 5- frutos infectados (%). En estos tres experimentos se registró la expresión de eventuales efectos fitotóxicos u otras alteraciones que podrían ser causadas por los desinfectantes.

En el experimento 4 las variables evaluadas fueron: 1- manos infectadas (%) y 2- racimos infectados (%); mientras que en el experimento 5 consistieron en frutos infectados (%) en la línea 1- externa y 2- interna de cada uno de las manos del racimo y la ubicación de las manos infectadas 3- basales y 4- apicales. En la finca del Pacífico Central se consideraron manos superiores las primeras tres en posición basal y las restantes como inferiores. En la finca del Caribe, por tratarse de racimos de mayor tamaño, se consideraron manos basales las primeras cuatro y las restantes como apicales.

Para la identificación del agente causal se tomaron muestras de frutos con síntomas de la enfermedad procedentes de la finca comercial ubicada en Pacífico Central que no presentaran rupturas en la cáscara y con menos del 50 % del tejido necrosado. Los frutos se depositaron en bolsas plásticas transparentes y fueron colocados en un contenedor de poliestireno expandido (EPS) con bolsas de gel refrigerante (Goldfresh®) para su preservación durante el transporte. Las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Fitopatología de CORBANA donde los frutos fueron lavados en agua desionizada estéril y desinfectados externamente con una toalla humedecida con alcohol 95 % dentro de una cámara de flujo laminar. Posteriormente, entre la zona limítrofe del tejido necrosado y verde del fruto, con un bisturí estéril, se tomaron pequeñas porciones del tejido enfermo de la pulpa y se colocaron sobre medios de cultivo de papa-dextrosa-agar (PDA, Difco Laboratories®) en platos de Petri de 100 x 15 mm (Fisher Brand®).

Los platos Petri se colocaron en una incubadora (Precision Scientific® Mod. 818) a 26 °C y a la oscuridad por 5 días. Los microorganismos presentes fueron paulatinamente separados y purificados en un medio de PDA para su posterior caracterización en el laboratorio de Biología Molecular de CORBANA. El aislamiento del material genético se realizó siguiendo la metodología descrita por Brandfass y Karlovski (2008) y modificada por CORBANA. El procedimiento se basó en la amplificación por PCR de tres regiones: ADN ribosomal (16S), subunidad gama de ADN polimerasa III (dnaX) y recombinasa A (recA). Las regiones se amplificaron

por PCR convencional y los productos de amplificación fueron enviados a secuenciar (Macrogen Laboratories, Corea del Sur, 2017) mediante la metodología descrita por Zhang *et al.* (2014). Una vez obtenidas las secuencias para cada uno de los aislamientos se identificaron mediante la herramienta “Blast” de la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

El grosor del fruto central de la segunda y última mano se analizó mediante ANDEVA utilizando modelos lineales generales y contrastes ortogonales. La incidencia de la enfermedad se analizó con modelos lineales generalizados, usando el Proc Genmod de SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, Version 9.1) y contrastes ortogonales. El porcentaje de racimos con presencia de algún fruto enfermo se analizó con regresión logística, pues sus datos son binomiales. Las restantes variables: número de manos con algún fruto enfermo, número total de frutos enfermos por racimo, número de dedos enfermos en la serie interna y externa de cada mano y en las manos basales y apicales del racimo son de tipo Poisson y se analizaron con modelos Log-lineales. El número de manos por racimo y el número total de dedos enfermos por racimo se emplearon como covariables en el análisis del número de manos afectadas y el número de dedos afectados, respectivamente.

RESULTADOS

Experimento 1

El grosor del fruto central de la segunda y última mano no difirió ($P \geq 0,1414$), entre racimos sin (T1) y con (T2)

Cuadro 3. Incidencia de la pudrición suave del dedo (*Dickeya dadantii*) en racimos de banana sin y con desflora en el campo y efecto de diferentes tratamientos desinfectantes para prevenir la transmisión e infección por la bacteria. Experimento 1.

Tratamiento ¹	n ²		Grosor ³		Infección (%)		
	Racimos	Manos	2da	Última	Racimos	Manos	Frutos
T1= SD (Sin desflora)	22	116	44,5	42,8	9,1	3,4	4
T2= CD (Con desflora)	22	112	43,9	41,9	36,4	16,1	22
T3= CD + DM con alcohol 50 %	22	119	44,4	42,1	27,3	6,7	8
T4= CD + DM con Kilol 10 %	25	134	43,7	41,9	16,0	3,7	6
T5= CD + AD con Kilol 10 %	21	110	44,7	42,5	42,9	15,5	26
T6= CD + AD con cloro (250 mg L ⁻¹)	24	129	44,8	42,8	29,2	7,8	11
Contraste				P≥F			
SD (T1) vs CD (T2)			0,2828	0,1414	0,0266	0,0018	0,0004
CD (T2) vs CD + DM con alcohol (T3)			0,3704	0,7050	0,5169	0,0520	0,0196
CD (T2) vs CD + DM con Kilol (T4)			0,7899	0,9539	0,1084	0,0021	0,0018
CD + DM con alcohol (T3) vs CD + DM con Kilol (T4)			0,2347	0,7394	0,3458	0,2791	0,4586
CD (T2) vs CD + AD con Kilol (T5)			0,1740	0,3132	0,6633	0,9381	0,4646
CD (T2) vs CD + AD con cloro (T6)			0,1451	0,1432	0,6030	0,0292	0,0166
CD + AD con Kilol (T5) vs CD + AD con cloro (T6)			0,9584	0,6744	0,3383	0,0373	0,0015
CD + DM (T3 y T4) vs CD + AD (T5 y T6)			0,1186	0,1454	0,1226	0,0671	0,0176

1/ SD= sin desflora en el campo, CD= con desflora en el campo, DM= desinfección de manos del desflorador, AD= aspersión del extremo del fruto. 2/Número de racimos o manos medidas. 3/ Medido en treintaidosavos de pulgada. n: número de observaciones.

desflora. Tampoco hubo diferencias ($P \geq 0,1186$) en estas variables entre racimos con desflora (T2) y los distintos tratamientos de desinfección (T3 a T6). Los tratamientos con desflora presentaron un mayor porcentaje de infección ($P \leq 0,0266$) de la pudrición suave del dedo en racimos, manos y frutos que aquellos sin desflora (Cuadro 3).

La desinfección de manos del trabajador, previo a la labor de desflora, con alcohol (T3) o con Kilol® (T4), no tuvo efecto sobre el porcentaje de racimos afectados ($P \geq 0,1084$), pero sí se redujo con ambos desinfectantes ($P \leq 0,0520$) la cantidad de manos y frutos afectados, sin diferir entre ellos en estas dos variables ($P \geq 0,2791$, Cuadro 3).

En racimos con desflora la aspersión del extremo de los frutos con Kilol® (T5) no disminuyó ($P \geq 0,4646$) la presencia de la enfermedad. Por el contrario, las aspersión con cloro (T6) la redujo ($P \leq 0,0292$) en manos y frutos. Entre ambos desinfectantes, el cloro fue más eficiente ($P \leq 0,0373$) que el Kilol® en la reducción de pudre de dedo en manos y frutos.

La desinfección de las manos del desflorador con alcohol o Kilol®, previo a la desflora, fue más efectivo que la aspersión del extremo de los frutos con los mismos desinfectantes luego de la desflora, aunque las diferencias solo alcanzaron a ser significativas para el porcentaje de frutos infectados ($P = 0,0176$), (Cuadro 3).

Cuadro 4. Incidencia de la pudrición suave del dedo (*Dickeya dadantii*) en racimos de banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) con desflora en el campo y diferentes tratamientos desinfectantes. Experimento 2.

Tratamiento ¹	n ²		Grosor ³		Infección (%)		
	Racimos	Manos	2da	Última	Racimos	Manos	Frutos
T1= CD + AD con agua	18	110	46,1	43,4	56,0	14,5	17
T2= CD + AD con Bromorex [®] 5 %	16	95	45,8	43,1	62,5	21,1	21
T3= CD + AD con Kilol [®] 10 %	13	85	47,2	43,9	31,0	7,1	13
T4= CD + AD con ácido acético 3 %	14	87	45,4	43,3	35,7	9,2	11
T5= CD + AD con ácido cítrico 3 %	17	109	46,7	43,8	47,1	13,8	23
T6= CD + DM con Kilol [®] 10 %	15	93	45,7	43,3	46,7	8,6	11
Contraste	P≥F						
CD + DM con Kilol [®] (T6) vs CD + AD con agua (T1)			0,6325	0,8481	0,6107	0,2339	0,5238
CD + DM con Kilol [®] (T6) vs CD + AD con Kilol [®] (T3)			0,0538	0,3435	0,3882	0,8278	0,3474
CD + AD con desinfectantes (T2, T3, T4 y T5) vs CD + AD con agua (T1)			0,7195	0,7823	0,3832	0,5542	0,5232
CD + AD con desinfectantes y agua (entre trats. T1, T2, T3, T4 y T5)			0,0531	0,5890	0,3079	0,1072	0,4506

1/ CD= con desflora en el campo, DM= desinfección de manos del desflorador, AD= aspersión del extremo de los dedos de la fruta. 2/Número de racimos o manos medidas. 3/ Medido en treintaidosavos de pulgada. n: número de observaciones.

Experimento 2

En racimos con desflora (Cuadro 4), el grosor del fruto central de la fila externa de la segunda y última mano no fue afectado ($P \geq 0,0531$) por los tratamientos de desinfección. Tampoco hubo diferencias ($P \geq 0,1072$) en la incidencia de pudre de dedo, tanto en el racimo como en manos y frutos, entre los desinfectantes asperjados en el extremo de los mismos: Bromorex[®] (T2), Kilol[®] (T3), ácido acético (T4) y ácido cítrico (T5) o aquel usado (Kilol[®]) como desinfectante de las manos del trabajador (T6).

Experimento 3

No hubo diferencias ($P \geq 0,3327$) en el grosor del fruto central de la fila externa entre racimos sin (T1) y con (T2) desflora. Tampoco hubo diferencias

($P \geq 0,1865$) en estas variables entre los racimos sin y con desflora asociados con diferentes tratamientos de desinfección. Los racimos sin desflora presentaron un menor porcentaje ($P \leq 0,0361$) de racimos, manos y frutos afectados por la enfermedad (Cuadro 5). La comparación entre racimos sin (T1) y con desflora, más la desinfección de las manos del desflorador con BR-10H[®] (T3) o Vanodine[®] (T4) no determinó diferencias ($P \geq 0,2138$) entre ellos en el porcentaje de racimos, manos y frutos afectados por la enfermedad.

La comparación de racimos con desflora (T2), diferencialmente tratados con BR-10H[®] (T3) o Vanodine[®] (T4), redujo ($P \leq 0,0029$) en el caso del primer desinfectante el porcentaje de racimos, manos y frutos afectados por la enfermedad, aspecto que no ocurrió ($P \geq 0,1584$) para el segundo de ellos. El BR-10H[®] ($P \leq 0,0376$) fue superior

al Vanodine® en la reducción de la infección en manos y frutos (Cuadro 5).

comparación al tratamiento donde no se desfloró (Cuadro 6).

Experimento 4

Los racimos con desflora presentaron mayor número de manos ($P \leq 0,0001$) y racimos ($P \leq 0,0025$) enfermos en

Experimento 5

Tanto en la finca del Pacífico Central como en la del Caribe (Cuadro 7), la enfermedad se observó en proporciones similares en la serie interna y externa de los frutos de cada

Cuadro 5. Incidencia de la pudrición suave del dedo (*Dickeya dadantii*) en racimos de banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) sin y con desflora en el campo y en los que se desinfectó previamente las manos del desflorador con BR-10 H o Vanodine. Experimento 3.

Tratamiento ¹	Evaluaciones ²		Grosor ³		Infección (%)		
	Racimos	Manos	2da	Última	Racimos	Manos	Frutos
T1= SD (Sin desflora)	40	272	46,1	42,6	17,5	3,8	11
T2= CD (Con desflora)	39	287	46,0	43,0	38,5	8,3	23
T3= CD + DM con BR-10 H al 2 %	39	261	45,7	42,7	10,3	2,0	6
T4= CD + DM con Vanodine al 2 %	35	247	46,1	42,5	25,7	5,1	14
Contraste			$P \geq F$				
Sin desflora (T1) vs con desflora (T2)			0,9546	0,3327	0,0361	0,0155	0,0184
Sin desflora (T1) vs CD + DM con BR-10 H (T3)			0,4381	0,3659	0,3496	0,2138	0,2700
Sin desflora (T1) vs CD + DM con Vanodine (T4)			0,8509	0,1865	0,3866	0,3606	0,2657
Con desflora (T2) vs CD + DM con BR-10 H (T3)			0,4083	0,9487	0,0029	0,0004	0,0008
Con desflora (T2) vs CD + DM con Vanodine (T4)			0,8951	0,7046	0,2401	0,1584	0,2461
CD + DM con BR-10 H (T3) vs CD + DM con Vanodine (T4)			0,3495	0,6587	0,0788	0,0376	0,0322

1/SD= sin desflora en el campo, CD= con desflora en el campo, DM= desinfección de manos del desflorador. 2/ Número de racimos o manos evaluadas. 3/ Medido en treintaidosavos de pulgada.

Cuadro 6. Incidencia de la pudrición suave del dedo (*Dickeya dadantii*) en racimos de banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) sin y con desflora en el campo. Pacífico Central. Experimento 4.

Tratamiento	Racimos evaluados (Nº)	Manos evaluadas (Nº)	Promedio		Racimos infecta- dos (%)
			Manos/racimo	Manos infectadas	
Mayo 2004					
Sin desflora	65	379	5,83	0,35	27,7
Con desflora	106	581	5,48	1,50	73,6
			P> χ^2	0,0001	< 0,0001
Junio 2004					
Sin desflora	58	412	7,10	0,71	36,2
Con desflora	69	467	6,77	1,40	63,8
			P> χ^2	< 0,0001	0,0025

Cuadro 7. Ubicación de la pudrición suave del dedo (*Dickeya dadantii*) en manos y racimos de banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) en fincas sin y con desflora (Pacífico Central) y con desflora (Caribe). Experimento 5.

Tratamiento	Ubicación del daño (%)					
	Serie de frutos de la mano			Ubicación de la mano ^{&}		
	Externa	Interna	P ≥ F	Basal	Apical	P > χ^2
Pacífico Central						
Sin desflora	57,5	42,5	0,0831	30,0	70,0	0,0785
Con desflora	52,3	47,7	0,6556	54,5	45,5	0,5462
Caribe						
Sin desflora	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Con desflora	ND	ND	ND	56,3	43,7	0,3167

1/ En el Pacífico Central, como manos basales se consideró las primeras tres manos del racimo y como manos apicales las restantes (mano 4 a mano 9). Número de observaciones: con desflora= 23, sin desflora= 83. En el Caribe se consideró como manos basales las primeras cuatro manos del racimo y como manos apicales las restantes (mano 5 a mano 11). Número de observaciones: con desflora= 45.

mano ($P \geq 0,0831$); así como en las manos basales y apicales del racimo ($P \geq 0,0785$).

Identificación del agente causal

De acuerdo con la caracterización molecular realizada a las bacterias aisladas de las muestras de frutos infectados que fueron recolectadas en la finca del Pacífico Central, se determinó que la bacteria *Dickeya dadantii* (sin. *Erwinia* sp. y *Pectobacterium* sp.) es el organismo causal de la pudrición suave del dedo en banano (*Musa* AAA). La patogenicidad de la bacteria se corroboró al inyectar una suspensión de esta en frutos de banano de 12 semanas de edad, obteniéndose la reproducción de los síntomas.

DISCUSIÓN

Cabe destacar, que al igual a lo indicado por Vargas *et al.* (2003), el grosor del fruto

central de la segunda y última mano no varió entre realizar o no la desflora de los frutos en el campo. Los resultados demuestran que la desflora en el campo aumenta la incidencia de la pudrición suave del dedo en los racimos de banano y que el desflorador puede desempeñar un rol importante en la diseminación del patógeno. La eliminación temprana y manual de los estigmas florales por el desflorador, durante las dos primeras semanas de desarrollo del racimo, causa una serie de heridas, que facilitan la penetración de la bacteria, misma que podría estar siendo transportada en sus manos. Estudios realizados por Guzmán y Wang (1998) demostraron que la bacteria se encuentra con frecuencia en los estigmas florales, hasta donde podría ser llevada, desde las fuentes de inóculo primario (pseudopetiolos de las hojas eliminadas que quedan unidos al pseudotallo de la planta

y los pseudotallos de plantas cosechadas) hacia los estigmas florales por medio de los aerosoles producto de las lluvias y por los insectos.

En la finca ubicada en el Pacífico Central, donde se llevó a cabo la mayor parte del estudio, la alta incidencia de la pudrición suave del dedo se relacionó con la existencia de abundantes fuentes de inóculo, principalmente porciones de pseudopeciolos en descomposición unidos al pseudotallo, producto de un criterio de deshoja inadecuado. A lo anterior se le debe adicionar la alta humedad y sombrío, propio de una plantación nueva con alta población de plantas, donde se crea un ambiente favorable para la supervivencia y desarrollo del patógeno. En condiciones de baja humedad y altas temperaturas, este género de bacterias (*Dickeya*) podrían no sobrevivir por mucho tiempo (Perombelon y Kelman 1980, Stommel *et al.* 1996).

Además, en la finca antes mencionada se utiliza un sistema de riego subfoliar que podría estar contribuyendo en la dispersión de la bacteria, ya que las gotas de la aspersión impactan los pseudopeciolos que quedan unidos al pseudotallo de la planta, así como los pseudotallos deteriorados donde se reproduce la bacteria (Guzmán y Wang 1998) y desde donde sería dispersada hasta los racimos por el salpique y los aerosoles. Estudios realizados por Fitt *et al.* (1983), en el cultivo de la papa, demostraron el potencial de la lluvia y de la irrigación de agua en la dispersión de *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. Normalmente, la colocación de la funda de polietileno al racimo para su protección, se realiza en la primera semana de su emergencia del boquete floral. Posteriormente, se

realiza una limpieza gradual de las brácteas desprendidas y en estas operaciones ocurre el desprendimiento de flores o parte de estas, por cuyas heridas se facilitaría la entrada del patógeno. Esta unión de factores podría explicar el por qué en el tratamiento sin desflora siempre hubo un significativo porcentaje de racimos afectados.

La desinfección de las manos del desflorador, previo a la labor, fue una medida efectiva para reducir la incidencia de la pudrición suave del dedo. Esto corrobora el papel que puede desempeñar el trabajador como vector del patógeno, así como la eficiencia en la prevención dada por el amonio cuaternario y el extracto de semillas de cítricos. Los productos a base de amonio cuaternario son desinfectantes muy activos ya que son efectivos contra hongos y bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Contra las bacterias actúan directamente sobre la membrana celular, la cual hacen más permeable y desnaturalizan sus proteínas. Desde el punto de vista ambiental y de seguridad ocupacional, sus componentes son rápidamente biodegradables y presentan baja toxicidad para el ser humano, por lo que se pueden emplear como desinfectantes y antisépticos de la piel a concentraciones muy bajas (Davé 1987, McBain *et al.* 2004, Nel *et al.* 2007).

El extracto de semillas de cítricos, es una formulación sin aditivos químicos que es usada en agricultura convencional y fue aprobado por OMRI (Organic Materials Review Institute) para su uso en agricultura orgánica. Este producto actúa sobre el dióxido de carbono de la célula microbiana, daña el citoplasma y la pared celular y es considerado un producto sistémico de amplio espectro, que controla varios

géneros de bacterias (Molina 2001, Gruber y López 2004). Con ambos desinfectantes, no se observaron efectos fitotóxicos en el fruto, ni tampoco alergias o irritaciones en las manos del desflorador. Celar *et al.* (2007) mencionan que, entre las características ideales de un desinfectante, están las de esterilizar rápidamente la superficie en la cual se impregna, debe ser inocuo para las personas, no fitotóxico ni corrosivo y de bajo costo para el consumidor.

Contrario a lo observado con la desinfección de las manos del desflorador, la aspersión del extremo de los dedos con los desinfectantes, luego de la desflora, no brindó resultados satisfactorios. Esto ocurre posiblemente debido a que el látex que secreta el extremo del fruto, al desprender la flor, remueve o inactiva el producto.

Basados en los resultados de esta investigación y en las observaciones realizadas por los autores en diferentes fincas con alta incidencia de esta enfermedad, se recomienda para el manejo del problema, eliminar como primera medida los sitios de reproducción de la bacteria según lo descrito por Guzmán y Wang (1998). La anterior medida, en conjunto con la eliminación de la práctica de la desflora en el campo, se consideraría la mejor opción para el manejo de la enfermedad. De acuerdo con Vargas *et al.* (2003), la supresión de la desflora en el campo, en fincas con historial de alta incidencia de pudre de dedo, podría ser una estrategia de manejo de la enfermedad.

Sin embargo, si fuese necesario mantener dicha práctica en la finca, por aspectos de manejo o de otras plagas como trips y el gusano basurero (Cubillo y Guzmán 2003, Vargas *et al.* 2003), la desinfección de las manos del desflorador con productos como los evaluados en el presente estudio

sería una alternativa. En este caso es recomendable instruir apropiadamente al trabajador sobre la importancia de la labor y supervisar muy bien la ejecución de la misma en el campo. Otras labores complementarias que pueden coadyuvar al manejo de la enfermedad son: asperjar los racimos en el patio de la empacadora con una solución de 200 mg L⁻¹ de hipoclorito de sodio, así como la recolección y eliminación de los frutos enfermos que llegan a la empacadora.

Este documento constituye el primer informe donde se demuestra la relación de la desflora en el campo con la pudrición bacteriana suave del dedo y la influencia del desflorador como vector o facilitador de la infección. Además, constituye el primer informe donde se describe a *Dickeya dadantii* como el agente causal.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer el apoyo brindado en esta investigación a la MSc. Claudiana Carr (Laboratorio de Fitopatología, CORBANA) y la MSc. Ana María Conejo (Laboratorio de Biología Molecular, CORBANA) por realizar el aislamiento e identificación de la bacteria.

Literatura citada

- Brandfass, C; Karlovsky, P. 2008.** Upscaled CTAB-Based DNA Extraction and Real-Time PCR Assays for *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* DNA in Plant Material with Reduced Sampling Error. J. Mol. Sci. 9, 2306-2321.
- Celar, F; Valic, N; Kosmelj, K; Gril, T. 2007.** Evaluating the efficacy, corrosivity and phytotoxicity of some disinfectants against *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.* using a new statistical

- measure. Journal of Plant Diseases and Protection 114(2): 49-53.
- Charkowski, AO. 2007.** The soft rot *Erwinia*. Pags. 423-504. In Gnanamarickan, SS. ed. Plant-Associated Bacteria. Springer, NL.
- Choi, J; Park, E; Kang, HW. 1988.** Bacterial soft rot of banana fruit caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Pseudomonas cichorii*. Korean Journal of Plant Pathology 4(3):2002-206.
- Cubillo, D; Guzmán, M. 2003.** Fluctuación de la población de larvas y pupas del gusano basurero (*Pyroderces rileyi*, Lepidoptera: Cosmopterygidae) en los racimos de banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine). CORBANA 29(56):83-90.
- Davé, BA. 1987.** Biological basis for postharvest uses of formulated quaternary ammonium compounds (Quats). Proc. Fla. State Hort. Soc. 100:18-19.
- Fitt, B.DL; Lapwoop, DH; Dance, SJ. 1983.** Dispersal of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in splash droplets. Potato Res. 26:123-131.
- Franco, YC; Stefanova, MN. 2008.** Determinación de actividades enzimáticas implicadas en la virulencia de cepas de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* y *Dickeya chrysanthemi* aisladas de papa. AGRO SUR 36 (3): 130-136.
- Fucikovsky, Z; Villarreal, G. 1991.** Presencia y dispersión en el ambiente de dos subespecies de *Erwinias*. Agrociencia Serie Protección Vegetal 2(1): 99-105.
- Grahan, DC; Harrison, MD. 1975.** Potencial spread of *Erwinia* spp. as aerosols. Phytopathology 65:739-741.
- Gruber, K; López, A. 2004.** Control biológico de insectos mediante extractos botánicos. Pags. 137-160. In Control biológico de plagas agrícolas. Serie técnica, Manual técnico/CATIE; No 53. Managua, Nicaragua.
- Guzmán, M; Wang, A. 1998.** Descripción de los síntomas, identificación del agente causal y determinación de la fuente de inóculo de la pudrición suave del dedo en banano (*Musa* AAA). CORBANA 23(50):109-124.
- Hauben, L; Moore, E; Vauterin, L; Steenackers, M; Mergaert, J; Verdonck, L; Swings, J. 1998.** Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. Syst. Appl. Microbiol. 21:384-397.
- Harrison, MD; Brewer, JW. 1980.** Field dispersal of soft rot bacteria. In Phytopathogenic Prokaryotes V.2. Academic Press. 485 p.
- López, A; Solís, P. 1991.** Contenidos e interacciones de los nutrimentos en tres zonas bananeras de Costa Rica. CORBANA 15(36):25-32.
- McBain, AJ; Ledder, RG; Moore, LE; Catrenich, CE; Gilbert, P. 2004.** Effects of quaternary-ammonium-based formulations on bacterial community dynamics and antimicrobial susceptibility. Applied and Environmental Microbiology 70(6):3449-3456.
- Molina, N. 2001.** Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. Manejo Integrado de Plagas 59:76-77.
- Nel, B; Steinberg, C; Labuschagne, N; Viljoen, A. 2007.** Evaluation of fungicides and sterilants for potencial application in the management of *Fusarium* wilt of banana. Crop Protection 26:697-705.
- Perombelon, MCW; Kelman, A. 1980.** Ecology of the soft rot *erwinias*. Ann. Rev. Phytopathology 18:361-387.
- Samson, R; Legendre, JB; Christen, R; Fischer-Le Saux, M; Achouak, W; Garden, L. 2005.** Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder *et al.* 1953) Brenner *et al.* 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp nov., *Dickeya*

- dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zae* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 55:1415-1427.
- Silva de Jaczko, T; Brewer, JW; Harrison, MD. 1983.** The presence and location of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey *et al.* in the gut of adult *Drosophila melanogaster* (Meigen). American Potato Journal 60:853-860.
- Stommel, JR; Goth, R; Haynes, KG; Kim, SH. 1996.** Pepper (*Capsicum annuum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. Plant Dis. 80:1109-1112.
- Stover, RH. 1972.** Banana, Plantain and Abaca Diseases. Commonwealth Agricultural Bureaux, London. 316 p.
- Stover, RH; Simmonds, NW. 1987.** Bananas. 3rd edition. Longman Scientific & technical, London. 468 p.
- Vargas, A. 2013.** Evaluación de prácticas asociadas con la remoción de flores, frutos laterales o centrales y/o de la primer mano basal en el racimo de banano. Agronomía Costarricense 37(1): 71-90.
- Vargas, A. 2014.** Manejo precosecha del racimo de banano (*Musa* AAA) y plátano (*Musa* AAB). 1 edición, San José, Costa Rica. Corporación Bananera Nacional (CORBANA). 154 p.
- Vargas, A; Cubillo, D; Mora, E. 2003.** Evaluación de la desflora en el campo y de fundas impregnadas con bifentrina o clorpirifos sobre el desarrollo del racimo de banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine) y la incidencia de plagas del fruto. CORBANA 29(56): 39-52.
- Wardlaw, CW. 1961.** Banana diseases. Including Plantain and Abaca. Longmans, Green, London. 648 p.
- Zhang, J; Shen, H; Lin, B; Hu, J. 2014.** Identification of *Dickeya zae* as a causal agent of bacterial soft rot in banana in China. Plant Disease 98(4): 436-442