

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*).

Mauricio Guzmán¹ y Amy Wang²

¹. Dirección de Investigaciones, CORBANA, Apdo. 390-7210, Guápiles Costa Rica. ². Laboratorio de Fitopatología, Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos (CIPROC), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
Rec.: 02/02/98 Acep.: 07/05/98

ABSTRACT

SYMPTOMS DESCRIPTION, IDENTIFICATION OF CAUSAL AGENT AND INOCULUM SOURCE DETERMINATION OF THE FINGER SOFT ROT IN BANANA (*Musa AAA*). For the last four years, a soft rot disease has been observed as an increasing pre-harvest problem on banana fruit in commercially established areas. A detailed description of the symptoms, identification of the causal agent and source of inoculum was determined in this study. The initial symptoms are small water soaked spots underneath the epidermis. Later, the tissue becomes necrotic and five days later, the fruit is completely rotten. A gram negative *Erwinia*-like bacteria was consistently isolated from the diseased tissue. Koch's postulates were performed and the same symptoms were observed. The bacterium was isolated from the remaining tissue of the pseudo-petioles that in decomposition and still attached to the pseudo-stem, as well as from the pseudo-stem of the harvested plants. The pathogen was also found in the stigma of the flowers, probably disseminated by rain and insects.

Key words: *Erwinia*, finger soft rot, inoculum source, *Musa AAA*, symptoms.

RESUMEN

La pudrición suave del dedo es una enfermedad del fruto del banano en precosecha, que ha tomado importancia en las plantaciones comerciales de Costa Rica en los últimos cuatro años. Hasta el momento, no se había realizado una adecuada descripción de la enfermedad ni una caracterización del patógeno. Los síntomas iniciales de la enfermedad se manifiestan como pequeñas manchas acuosas debajo de la epidermis del fruto, posteriormente el tejido se necrosa y desnaturaliza. La enfermedad progresa rápidamente destruyendo por completo el fruto en un período de cinco días. Una bacteria Gram negativa del género *Erwinia* fue identificada como el agente causal de esta enfermedad. Se determinó que la bacteria sobrevive principalmente en los restos de los pseudopetiolos en descomposición, que quedan unidos al pseudotallo de la planta después de realizar la labor de deshoja, así como en los pseudotallos en pie de las plantas cosechadas. La bacteria también fue aislada de los estigmas de las flores a donde se supone que pudo ser llevada por los aerosoles producto de las lluvias y por insectos.

Palabras clave: *Erwinia*, fuente de inóculo, *Musa AAA*, pudrición suave del dedo, síntomas.

INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de microorganismos patogénicos se encuentran asociados a las plantas de banano. Prácticamente,

ningún órgano de la planta está exento del ataque de los mismos y extensas revisiones han sido hechas en el pasado (Wardlaw, 1961; Simmonds, 1966; Stover, 1972).

Las enfermedades que afectan al fruto no son tan devastadoras como las que pueden afectar otros órganos de la planta como las raíces, el cormo y el follaje. Sin embargo, a las enfermedades del fruto se les presta mucha atención, dado que ésta es la parte comercializable y sobre la cual recaen actualmente grandes exigencias de calidad.

Generalmente, el efecto de la mayoría de las enfermedades del fruto es estético, limitándose a la cáscara, lo que afecta su apariencia y calidad. En algunos casos, un cierto nivel de daño es tolerado y en otros, la fruta debe ser desechada.

En los últimos cuatro años, una enfermedad del fruto ha cobrado importancia en las plantaciones comerciales de banano de la vertiente del Caribe de Costa Rica. Esta enfermedad se conoce como la "pudrición suave del dedo", haciendo alusión a los síntomas que produce.

Durante 1995 y 1996, algunas fincas de la zona de Matina y Pococí perdieron considerables cantidades de frutas debido a ésta enfermedad. Hasta la fecha, aún cuando la incidencia a disminuido, la pudrición del dedo sigue siendo una causa de rechazo de la fruta en las plantas empacadoras. No obstante, existe evidencia de la presencia de la enfermedad mucho antes de los años citados. Frutos con pudrición suave fueron observados en el año 1991 en plantaciones aledañas a la provincia de Limón, aunque en muy baja incidencia (Guzmán, M., sin publicar). Wardlaw (1961) y Stover (1972) hacen referencia a una enfermedad similar en Trinidad, Nicaragua y Honduras, la cual desapareció en término de pocos meses.

Poco es lo que se conoce de esta enfermedad y por su potencial de daño es muy necesaria la generación de información. Este estudio se realizó con el objetivo de describir los síntomas característicos de la pudrición suave del dedo, identificar el agente causal y determinar la fuente de inóculo del patógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

Las observaciones y estudios de campo fueron realizados en una finca comercial de banano, localizada en el cantón de Siquirres, provincia de Limón, en la zona bananera de la vertiente del Caribe de Costa Rica.

La finca está sembrada con el clon 'Gran enano' (*Musa AAA*) de aproximadamente diez años de edad. El manejo de la finca, en cuanto a labores agrícolas y uso de insumos, se ajusta a lo recomendado en el país para explotaciones comerciales de banano, de alto rendimiento y con fines de exportación.

Los suelos son de origen aluvial sedimentario, altos en calcio y magnesio, de buena aptitud para el cultivo del banano, predominando los taxa Fluvaquentic Eutropep y Fluventic Eutropep (Serrano, E., Com. Pers.). La finca en particular, ha presentado incidencia de la pudrición suave del dedo en los últimos cuatro años y por esta razón fue escogida como sitio de estudio.

El período experimental abarcó de octubre de 1997 a octubre de 1998.

Los trabajos de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Fitopatología de CORBANA, ubicado en el Centro de Investigación Agrícola La Rita, cantón de Pococí, provincia de Limón.

Descripción de los síntomas de la enfermedad

Para detectar la presencia de dedos enfermos con diferentes grados de desarrollo de la enfermedad y describir sus síntomas, se realizaron inspecciones en racimos recién cosechados (11-12 semanas de edad) en la planta empacadora de la finca. Del mismo modo, se efectuaron inspecciones de campo para observar la posible manifestación de síntomas más tempranos en frutas más jóvenes, previo a la cosecha.

Los dedos con algún síntoma de la enfermedad (Figs. 1 y 2), fueron minuciosamente observados externa e internamente, a simple vista y con la ayuda de un microscopio estereoscópico (Olympus®, mod. SZH), para detallar en su sintomatología.

Aislamiento del agente causal

En los racimos con presencia de la enfermedad, se seleccionaron solo aquellos dedos que no mostraban aún rupturas en la cáscara, ya que esto podría reducir las posibilidades de contaminación.

En total 15 dedos enfermos fueron colectados de 15 diferentes racimos y se trasladaron al laboratorio, individualmente, en bolsas plásticas transparentes de 26 cm x 13 cm, para el posterior aislamiento

del patógeno. Una vez en el laboratorio, se hizo una segunda selección y se tomaron los diez dedos que presentaban mejores condiciones para la realización de los aislamientos (sin rupturas en la cáscara y con menos del 50 % necrosado por la enfermedad).

Los dedos fueron lavados con agua desionizada estéril y desinfectados externamente con una toalla humedecida con alcohol 95% dentro de una cámara de flujo laminar (ENVIRCO®). Posteriormente, se realizó una incisión rectangular en la cáscara, en sentido longitudinal, de aproximadamente 1 x 2 cm en la zona limítrofe del tejido necrosado y verde, con un bisturí estéril hasta exponer la pulpa del fruto.

Con una aguja de disección estéril, se tomaron pequeñas porciones de 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®). Por cada dedo se extrajeron ocho trozos de tejido, que fueron colocados en 2 diferentes platos de Petri (4 por plato distribuidos en cuadro).

Los platos de Petri se colocaron en una incubadora (Precision Scientific®, Mod. 818) a 25 °C y a la oscuridad. Cada 24 horas se observó el crecimiento de microorganismos en los aislamientos, con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

Los microorganismos presentes fueron paulatinamente separados y purificados en medio de PDA para su posterior identificación. La separación se hizo con base en diferencias en crecimiento, morfología y coloración de las colonias.

Con las bacterias, una vez purificadas, se realizó una prueba de tinción de Gram para separar las Gram positivas de las Gram negativas. Esta es una técnica muy útil en fitopatología, ya que casi todos los géneros de bacterias fitopatogénicas, excepto *Corynebacterium* y *Nocardia*, son bacilos Gram negativos (Brathwaite, 1985).

Pruebas de patogenicidad

Con los aislamientos de las bacterias que fueron identificadas como Gram negativas, se realizaron pruebas de patogenicidad procediendo como se describe a continuación:

a. Manos de la parte media de racimos de banano de doce semanas de edad fisiológica se obtuvieron de una plantación comercial en la zona de Guápiles, sin historial de la enfermedad y se trasladaron al laboratorio.

b. En el laboratorio fueron lavadas cuidadosamente con agua desionizada y separados individualmente con el uso de un bisturí, el cual se desinfectó previamente y entre cada corte con alcohol de 95°. Posteriormente, en una cámara de flujo laminar, se realizó una desinfección superficial del dedo, por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2% durante dos minutos, luego se lavaron con agua destilada estéril por 30 segundos, se colocaron sobre una toalla estéril y se dejaron secar.

c. Se preparó una suspensión de bacterias (inóculo) en agua destilada estéril de aproximadamente $1,0 \times 10^8 \text{ ml}^{-1}$ unidades formadoras de colonias (UFC), según la metodología propuesta por McFarland

(American Society for Microbiology, 1980). El inóculo fue obtenido de cultivos puros de seis días de edad desarrollados sobre el medio de cultivo PDA y que provenían de una suspensión bacteriana preservada en agua de lluvia a $22 \pm 2^\circ \text{C}$ por cuatro meses.

d. Utilizando una jeringa hipodérmica estéril de 1,0 ml (B-D plastipak® 29 x 13 mm), se inyectaron 0,1 ml de la suspensión bacteriana en la parte interna de la punta del dedo, entre la cáscara y la pulpa. La zona de inyección, así como el pedúnculo del dedo fueron cubiertos con Parafilm® M (American National Can.). En total, diez dedos fueron inoculados con la bacteria.

Como testigo, diez dedos fueron inyectados con agua desionizada estéril, a los cuales se les brindó el mismo manejo que a los inoculados con la bacteria.

e. Una vez inoculados, los dedos fueron colocados en una cámara húmeda dentro de recipientes plásticos transparentes, a una temperatura de aproximadamente $26 \pm 2^\circ \text{C}$ y 100 % de humedad relativa. Diariamente, fueron inspeccionados para determinar la aparición de los síntomas característicos de la enfermedad (Figs. 1 y 2).

f. En los frutos que manifestaron síntomas, se aisló el patógeno y se procedió a compararlo con el inoculado inicialmente, según los Postulados de Koch (Agrios, 1996).

Medición del progreso de la enfermedad

Se cuantificó el número de días necesarios para la aparición de los primeros síntomas y una vez detectados los mismos,

se midió diariamente el progreso de la enfermedad, por medio de una estimación visual del porcentaje del fruto afectado.

Identificación del agente causal

La identificación de la bacteria se llevó hasta nivel de género y se hizo siguiendo los procedimientos recomendados para las mismas como está descrito en Brathwaite (1985) y Schaad (1990).

Determinación de la fuente de inóculo

De una área de la finca de aproximadamente 4,5 ha, con un historial de alta incidencia de la enfermedad, se seleccionaron 30 plantas recién florecidas (9 - 12 días). De estas plantas se colectó tejido de diferentes partes para determinar si la bacteria estaba presente en ellos:

1. Estigmas florales. 2. Tejido del pseudopetiole de las hojas, remanente en el pseudotallo producto de la práctica de deshoja. 3. Pseudotallos en descomposición que estaban erectos y formaban parte de una unidad de producción cercana a la planta con racimo ("caballos"). 4. Tejido de la lámina de las hojas más próximas al racimo. 5. Pseudotallos en descomposición en el suelo en los alrededores del racimo, producto de la labor de cosecha (Fig. 3).

Las porciones de tejido se colectaron manualmente utilizando guantes y con la ayuda de un bisturí. Para la selección de cada muestra, tanto los guantes como el bisturí, fueron desinfectados con

alcohol de 95° y lavados con agua desionizada estéril.

Las porciones de tejido seleccionadas se colocaron inmediatamente en tubos de ensayo de 50 ml (Pyrex® No. 98'25) que contenían 20 ml de agua desionizada estéril. Se colectaron aproximadamente 10 ml de cada uno de los tejidos (medido por desplazamiento de volumen). Una vez colectadas las muestras, los tubos de ensayo, debidamente identificados, se colocaron en una gradilla plástica dentro de una "hiele-ra" a una temperatura de aproximadamente 18 °C hasta su traslado al laboratorio.

Así mismo, se colectó suelo y humus de la superficie, en el área debajo de la dirección de crecimiento del racimo en un radio de aproximadamente 50 cm (Fig. 3). Este suelo y humus fue mezclado y homogeneizado en el mismo sitio, para posteriormente transferir 1,5 ml al tubo de ensayo que contenía 20 ml de agua desionizada estéril. El manejo posterior de estas muestras de suelo fue el mismo que para las muestras de tejido.

El muestreo descrito anteriormente fue realizado en un período de baja precipitación, pues para efectos del estudio era muy importante determinar los sitios de supervivencia de la bacteria, que funcionarían como fuente de inóculo primario. Esto, asumiendo que en estos períodos secos el desarrollo de la bacteria se desfavorece, pues se ha notado que en períodos de baja precipitación la incidencia de la enfermedad declina.

Una vez en el laboratorio, los tubos de ensayo con las muestras de tejido y suelo se incubaron por 20 horas en un agitador recíproco (Ogawa Seiki®, OSK Culture

Bath-Shaker) a 100 rpm y a una temperatura de 24 ± 2 °C. Lo anterior, con el objetivo de facilitar la salida de los microorganismos en los tejidos al agua y favorecer además su multiplicación.

Transcurrido este período, las muestras de tejido se llevaron a una cámara de flujo laminar y mediante el uso de un agitador de vórtice (Thermolyne® Mod. Maxi Mix II) se homogeneizaron y de inmediato se filtraron a través de cuatro capas de gasa estéril (Migasa®), para separar las partes de tejido de la suspensión acuosa.

La suspensión acuosa de cada muestra de tejido y suelo fue almacenada en tubos de ensayo, debidamente identificados, en una cámara de enfriamiento a 10 °C por un período máximo de 30 horas.

Posteriormente, los tubos se sacaron de la cámara de enfriamiento y se dejaron reposar en una cámara de flujo laminar por 30 minutos, para que tomaran la temperatura ambiente. Dentro de la cámara, cada muestra (suspensión) fue homogeneizada con el agitador de vórtice, para luego introducir un asa circular estéril en la suspensión y tomar una pequeña alícuota que con la misma asa se distribuyó (rayó) sobre medio de PDA contenidos en platos de Petri de poliestireno estériles (100 x 15 mm, Fisher Brand®).

De cada muestra, se tomaron cuatro alícuotas que se rayaron en dos platos de Petri con el medio PDA. Los platos se colocaron en una incubadora (Precisión Scientific®, Mod. 818) a 25 °C y en la oscuridad.

Los platos fueron observados a las 48 y 96 horas de incubación con la ayuda de un contador de colonias de campo oscuro

(Quebec®) y así evaluar la presencia de colonias bacterianas similares a las aisladas de los frutos. Las colonias con características similares a las aisladas de los frutos se marcaron, se purificaron y se les probó su patogenicidad tal y como se describió previamente.

Con las muestras de suelo se realizó una dilución serial de la muestra original hasta 10^{-5} , de la cual se tomaron alícuotas y se rayaron sobre medio de PDA. Posteriormente, se incubaron y observaron como se describió con las muestras de tejido vegetal.

RESULTADOS

Descripción de los síntomas

La primera evidencia externa de que un dedo está infectado con la pudrición suave, es una pequeña área (3-4 mm de radio) de la cáscara con apariencia húmeda o grasosa, generalmente cercana a la punta del dedo. Paulatinamente, esta área aumenta en tamaño y en término de 24 horas aparece una necrosis evidente del tejido de la cáscara.

Para este momento, la infección interna (en la pulpa) puede estar abarcando hasta una tercera parte del dedo, la pulpa se torna de un color cremoso y blanda. En general, la consistencia de la fruta es suave. La enfermedad progresa muy rápidamente, el tejido de la cáscara que aun no está necrosado, puede mostrar maduración prematura, agrietamientos y posteriormente se necrosa por completo (Figs. 1 y 2).

En las etapas más avanzadas, el dedo se agrieta y emergen de la parte interna, exudados de color ámbar que chorean por los costados del dedo y manchan dedos de manos inferiores. El tejido de la pulpa se desnaturaliza por completo y puede presentar mal olor. El dedo se torna totalmente blando y se puede desprender de la mano en la unión con el pedúnculo, desintegrándose casi por completo al caer al suelo o sobre manos inferiores. La infección no alcanza la corona de la mano.

Generalmente, aparecen uno o dos dedos enfermos en una o dos manos del racimo separados entre sí, aunque en algunas épocas la incidencia puede ser mayor.

Aislamiento del agente causal, prueba de la patogenicidad y medición del progreso de la enfermedad

De los diez dedos que se utilizaron para los aislamientos se obtuvo, consistentemente y con mucha pureza, el crecimiento de un tipo de colonia bacteriana muy característica.

El crecimiento de las bacterias fue rápido y se pudieron observar colonias a las 24 horas de incubación. Las colonias, una vez purificadas en medio de PDA, presentaban una forma irregular, con bordes típicamente aserrados, de apariencia poco fluida, creciendo muy unida

a la superficie del medio formando una capa fina y de coloración café claro muy característica (Fig. 4).

La bacteria dio reacción negativa a la tinción de Gram y cuando se inoculó artificialmente en los frutos, en todos los casos de desarrolló la enfermedad, reproduciéndose los síntomas característicos.

A las 24 horas después de la inoculación, se pudieron observar síntomas muy iniciales (pequeñas manchas de apariencia húmeda de menos de cinco mm de diámetro debajo de la epidermis del dedo) en las cercanías del punto donde se realizó la inoculación. En la figura 5 se pueden observar los síntomas de la enfermedad en frutas inoculadas artificialmente en el laboratorio, 48 horas después de la misma.

La enfermedad progresó muy rápidamente, en promedio dos días después de la inoculación un 14 % del dedo estaba necrosado, a los tres días un 37,0 % necrosado con agrietamiento de la cáscara y exudados, a los 4 días un 72,0 % y a los cinco días casi todo el dedo estaba necrosado (96,5 %) con abundante producción de exudados y en proceso de desintegración (Fig. 6).

Cultivos puros de la bacteria inoculada inicialmente fueron obtenidos al hacer reaislamientos de los dedos inoculados. En los frutos inoculados con agua estéril no se desarrolló ninguna enfermedad y maduraron normalmente.



Fig. 1. Síntomas típicos de la pudrición suave del dedo en un racimo de banano (*Musa* AAA cv., 'Gran enano') recién cosechado. Nótese la secreción de exudados que se depositan en los dedos de posiciones inferiores en el racimo.



Fig. 2. Síntomas avanzados de la pudrición suave del dedo en un racimo de banano (*Musa* AAA cv., 'Gran enano') recién cosechado. Nótese la maduración prematura del fruto, el agrietamiento de la cáscara y la exposición del tejido de la pulpa.

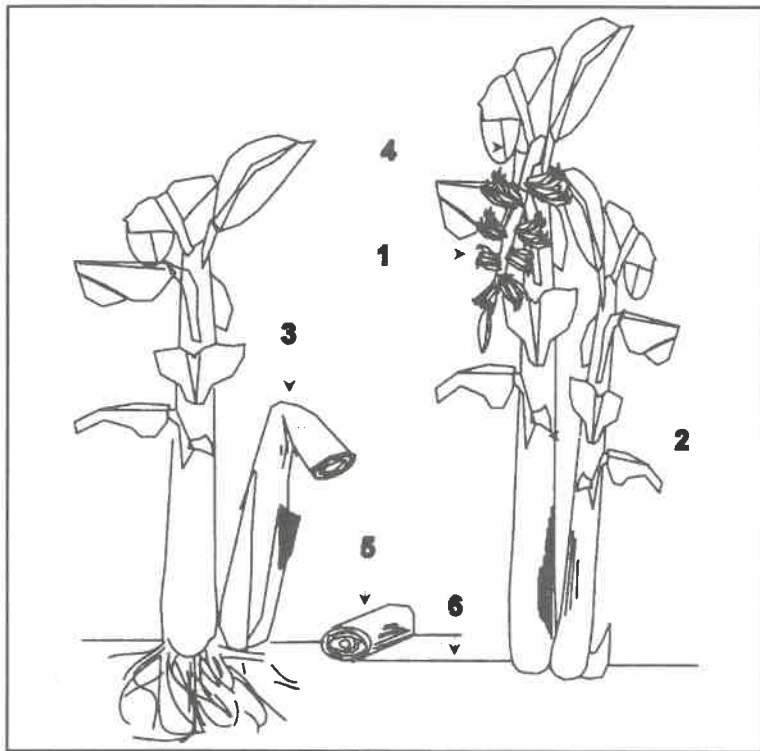


Fig. 3. Ubicación de los puntos de muestreo para la determinación de la fuente de inóculo de la pudrición suave del dedo en banano (*Musa AAA*). 1. Estigmas florales. 2. Tejido del pseudopetiole de las hojas, remanente en el pseudotallo producto de la labor de deshoja. 3. Pseudotallos en descomposición en pie de plantas cosechadas (caballos). 4. Tejido de la lámina de las hojas próximas al racimo. 5. Pseudotallos en descomposición en el suelo en los alrededores del racimo, producto de la labor de cosecha. 6. Suelo y humus de la base de la planta, en la dirección de crecimiento del racimo.

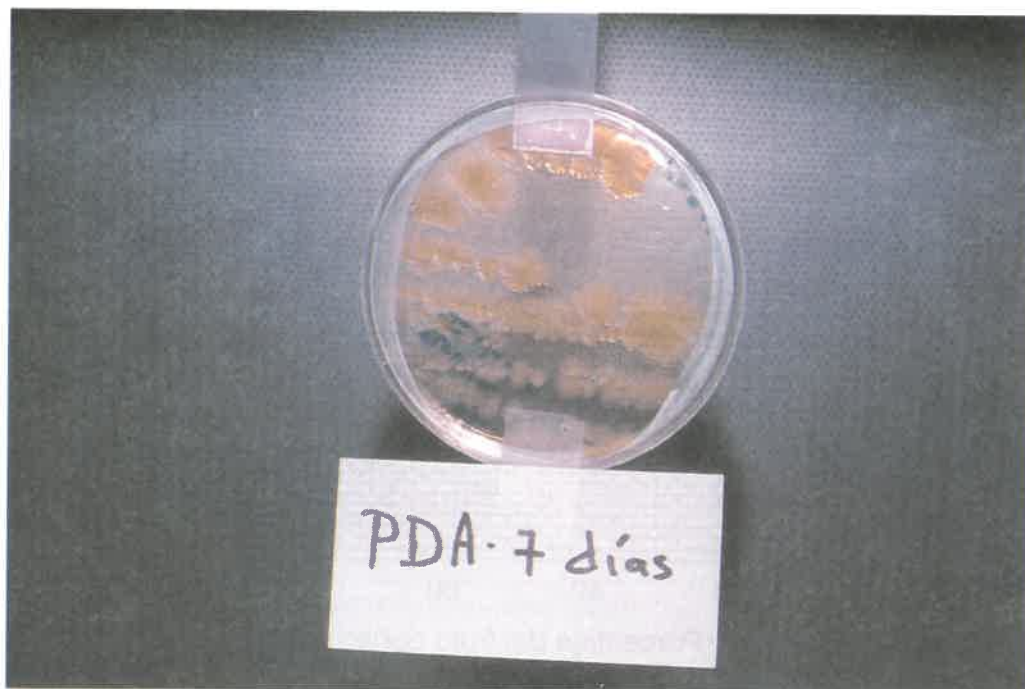


Fig. 4. Colonias típicas de la bacteria causante de la pudrición suave del dedo en banano (*Musa AAA*), creciendo en un medio papa-dextrosa-agar (PDA), después de siete días de cultivo a 26 °C en la oscuridad.



Fig. 5. Síntomas de la pudrición suave del dedo en frutos de banano (*Musa* AAA cv., 'Gran enano') 48 horas después de una inoculación artificial de la bacteria *Erwinia carotovora* aislada de frutos enfermos en el campo. La flecha blanca indica el punto de inyección de la bacteria. El dedo de la derecha (testigo) fue inyectado con agua destilada estéril.

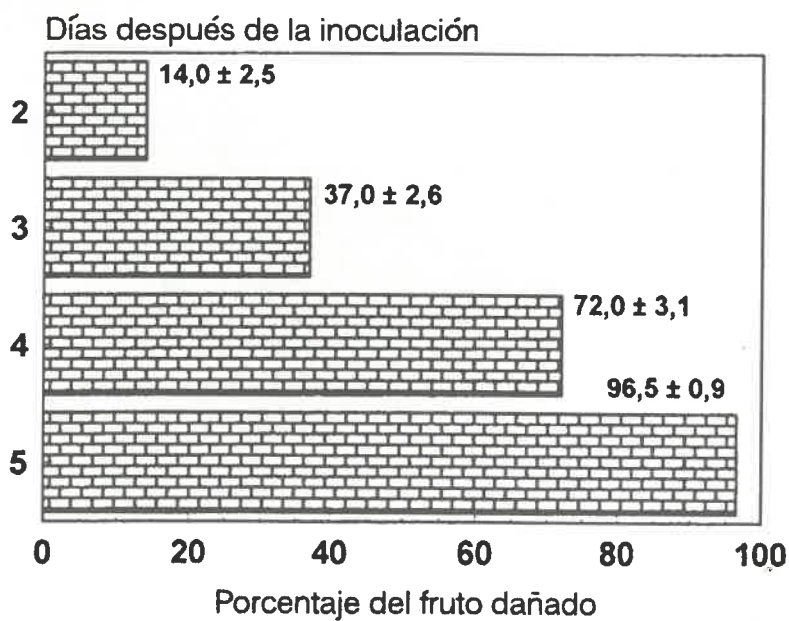


Fig. 6. Progreso de la pudrición suave del dedo en frutos de banano (*Musa* AAA cv., 'Gran enano') inoculados artificialmente. Cada valor corresponde al promedio ± el error estándar de diez dedos evaluados.

Identificación del agente causal

Las pruebas realizadas para la identificación de la bacteria hasta nivel de género se resumen en el cuadro 1. Basados en los resultados de estas pruebas se concluyó que la bacteria pertenece al género *Erwinia* de las que producen pudrición suave (pectolíticas).

Determinación de la fuente de inóculo

Con la excepción del suelo y humus, colonias características de la bacteria causante de la pudrición suave del dedo fueron aisladas, con diferente frecuencia, de todos los diferentes puntos muestreados (Cuadro 2). La mayor frecuencia de aparición (33,0

Cuadro 1. Identificación de la bacteria causante de la pudrición suave del dedo en banano, mediante diferentes pruebas.

Prueba realizada	Resultado
Crecimiento en medio PDA	+
Tinción de Gram	Gram negativa
Color de las colonias en medio YDC	- (colonias color crema)
Pigmentos fluorescentes en KB agar (medio de King's)	- (sin pigmentos fluorescentes)
Rayado en papa	+ (desnaturaliza tejido)
Crecimiento sobre medio CVP.	+ (hundimiento)

La composición de los medios indicados se detalla en Schaad, 1990.

Cuadro 2. Identificación de los sitios de supervivencia de la bacteria causante de la pudrición suave del dedo en banano.

Tejido o parte muestreada	Numero de muestras analizadas	Muestras en las que se encontró la bacteria (%)
Estigmas florales (1)*	30	20,0
Restos de pseudopeciolos unidos al pseudotallo (2)	30	33,0
Pseudotallos en pie de plantas cosechadas (3)	30	20,0
Lámina foliar (4)	30	13,3
Restos de pseudotallos en el suelo (5)	30	10,0
Suelo y humus (6)	30	0,0

*Ver figura 3 para una mejor ubicación del tejido o parte muestreada.

% de las muestras) fue en el tejido de los restos de pseudopetiolos en descomposición, unidos al pseudotallo de la planta y producto de la labor de deshoja.

La misma frecuencia de aparición (20 %) fue observada en los estigmas florales y en los pseudotallos en pie de plantas cosechadas ('caballos'). La menor frecuencia de aparición de la bacteria, después del suelo y humus, fue en la lámina foliar y los pseudotallos en descomposición a nivel del suelo.

Las pruebas de patogenicidad realizadas con cultivos purificados de las bacterias aisladas de los diferentes tejidos dieron resultados positivos en más del 90 % de los casos.

Junto con la bacteria causante de la pudrición suave del dedo, se presentó siempre el crecimiento de otros tipos de bacterias con características diferentes. En todas las muestras analizadas, incluyendo suelo y humus, se presentó siempre el crecimiento de algún otro tipo de bacteria, las cuales no fueron identificadas.

DISCUSIÓN

Una bacteria Gram negativa del género *Erwinia* fue encontrada como la causante de la pudrición suave del dedo en banano (*Musa AAA*).

La desintegración y licuefacción del tejido del fruto, producto del ataque de la bacteria, evidencia la producción de enzimas líticas por parte del patógeno que destruyen las paredes celulares. La producción de enzimas pectolíticas, que generan las pudriciones blandas en órganos vegetales,

es una característica de las bacterias del género *Erwinia* del grupo "*carotovora*" (Schaad, 1990; Agrios, 1996).

Una enfermedad similar a esta fue descrita por Wardlaw (1961, citado por Stover, 1972) y por Stover (1972) causando daño en plantaciones de Trinidad, Honduras y Nicaragua. Stover (1972) hace referencia a dos bacterias Gram negativas aisladas de frutos afectados en Honduras, una de las cuales produjo dextrinas en cultivo. Sin embargo, la identificación del género de estas bacterias no fue realizada.

Las inoculaciones en el laboratorio en fruta de edad de cosecha evidenciaron que la bacteria es muy agresiva y que en término de cinco días destruye por completo un dedo. Lo anterior, hace pensar que en el campo la enfermedad podría estar iniciando su desarrollo poco antes de la cosecha de la fruta, ya que en la mayoría de los casos las frutas llegan a la empacadora con dedos entre un estado intermedio a avanzado de la enfermedad, sin haberse desintegrado todavía.

Al parecer, algún cambio fisiológico en la fruta podría estar promoviendo el desarrollo de la enfermedad. Este cambio fisiológico podría estar relacionado con el inicio de la maduración, probablemente con la aparición de los primeros azúcares, que servirían como fuente de energía para la reproducción de la bacteria. Lo anterior, se refuerza con el hecho de que inoculaciones en el laboratorio sobre frutas jóvenes (6 – 8 semanas) no culminaron con el desarrollo de la enfermedad. La inoculación de frutas de esta misma edad en racimos colgando en el campo evidenció la presencia

de la enfermedad 4–6 semanas después, cuando el racimo estaba próximo a cosecharse (Guzmán, M. y Wang A., datos sin publicar).

De acuerdo con los resultados de este estudio, los principales sitios de supervivencia y probable fuente de inóculo primario, están en los restos de pseudopociolos en descomposición remanentes en el pseudotallo producto de la labor de deshoja y en los “caballos” en pie que están en proceso de descomposición.

La bacteria fue también encontrada con alta frecuencia en los estigmas florales. No obstante, su presencia en éstos probablemente es solo transitoria, producto de los agentes de dispersión y no sea este un sitio de supervivencia, ya que este tejido, es muy joven y rápidamente se seca y muere, lo que podría disminuir las posibilidades de supervivencia del patógeno.

Por otro lado, se evidencia la posibilidad de una infección temprana de la fruta, ya que la bacteria podría estar ingresando por el conducto estigmático y permanecer latente en la parte interna del extremo del dedo, para desarrollar la infección en etapas posteriores.

Una hipótesis similar fue sugerida por Wardlaw (1961), para una enfermedad parecida a la descrita en este estudio ocurrida en Trinidad, Honduras y Nicaragua. Este autor sugirió que la infección se origina en el perianto del estilo de frutas muy jóvenes, pasando posteriormente a los espacios abiertos dentro de la pulpa. Sin embargo, se requiere de estudios específicos para probar las anteriores hipótesis.

Respecto a la forma en que la bacteria llega a los estigmas florales, podrían es-

tar jugando un rol importante los aerosoles producto de la lluvia y el rocío. La dispersión de bacterias pectolíticas por los aerosoles ha sido claramente demostrada y documentada (Graham y Harrison, 1975; Harrison y Brewer, 1980; Fucikovsky y Villarreal, 1991).

Paralelamente, los insectos, que son atraídos abundantemente por el néctar de las flores del banano, podrían estar dispersando el patógeno dentro de la plantación. La dispersión por insectos ha sido demostrada para las bacterias pectolíticas *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* y *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* en plantaciones de papa en México (Fucikovsky y Villarreal, 1991). Así mismo, la dispersión por insectos ha sido sugerida para una bacteria de este género que afecta al mango en Costa Rica (Quesada y Wang, 1992).

Otros estudios han asociado directamente la transmisión de Erwinias pectolíticas por insectos y han dado una nueva dimensión a la ecología de estas bacterias (Molina *et al.* 1974; Kloppe *et al.* 1979; Harrison y Brewer, 1980; Perombelon, 1980).

La más baja frecuencia de aparición de la bacteria causante de la pudrición suave del dedo fue en los pseudotallos en descomposición a nivel del suelo y en el suelo y humus propiamente. Al parecer, este tipo de ambiente no es favorable para la supervivencia particular de esta bacteria, lo cual difiere marcadamente de lo encontrado para otros tipos de Erwinias pectolíticas (Graham, 1958; Menzies, 1963; Meneley y Stanghelini, 1976; De Mendonca y Stanghelini, 1979; Fucikovsky y Villarreal, 1991).

Sin embargo, Fernández y López (1970) encontraron que una bacteria del género *Erwinia* que causa pudrición suave del pseudotallo en plátano (*Musa AAA*) en Colombia, tiene una baja capacidad de supervivencia a nivel del suelo. Estos autores concluyeron que se trata de una especie que en el suelo perdió su habilidad competitiva por las fuentes orgánicas de alimento, adquirió requerimientos nutricionales especiales asociados con su hospedero y se adaptó a partes aéreas. Por otro lado, la supervivencia en el suelo de un microorganismo como éste puede ser muy influenciado por otros microorganismos antagonistas. Jiménez y Cordovés (1992) aislaron y caracterizaron bacterias antagonistas (*Pseudomonas fluorescens* y *P. putida*) a *Erwinia chrysanthemi* en la rizosfera del plátano en plantaciones de Cuba. La presencia de estas bacterias en la rizosfera fue directamente relacionada con la sanidad de las plantas.

En el suelo, en residuos orgánicos en descomposición y en el agua, se han encontrado bacteriófagos de *Erwinias* pectolíticas que limitan el desarrollo y supervivencia de estas bacterias (Gross *et al.* 1991; Goto, 1992; Eayre *et al.* 1995).

Se hace evidente la necesidad de estudiar la capacidad de supervivencia en el suelo de la bacteria causante de la pudrición suave del dedo en banano. Así mismo, su relación con prácticas agrícolas, sobre todo las que están dirigidas al manejo pre-cosecha del racimo.

Más estudios son necesarios en epidemiología y ecología de la pudrición suave del dedo en las plantaciones bananeras que ayuden a desarrollar mejores estrategias de manejo de la enfermedad.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el apoyo brindado al presente estudio por los Ings. Randall Vargas, Eduardo Soto y Erick Bolaños, de la Dirección de Investigaciones de CORBANA. A los técnicos Rodolfo Álvarez, Geovanny Madrigal y Albán Gutiérrez de la sección de Fitopatología de CORBANA y muy especialmente a los Srs. Luis Valerio y David Arias por su especial interés y apoyo a esta investigación.

LITERATURA CITADA

- AGRIOS, G.N. 1996. Fitopatología. México, Limusa, 2 ed. en Español. Trad. Por Manuel Guzmán Ortiz. 837 p.
- AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. 1980. Manual of Clinical Microbiology. 3 ed. Lennette, E.H. 1004 p.
- BRATHWAITE, W.D.C. 1985. An Introduction to the Diagnosis of Plant Disease. Ed. por Elizabeth Lewis. San José, Costa Rica, IICA. 39 p.
- De MENDONCA, M.; STANGHELLINI, M.E. 1979. Endemic and soilborne nature of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* a pathogen of mature sugar beets. Phytopathology (E.E.U.U.) 69:1096-1099.
- EAYRE, C.G.; BARTZ, J.A.; CONCELMO, D.E. 1995. Bacteriophages of *Erwinia carotovora* and *Erwinia ananas*

- isolated from fresh water lakes. Plant Disease (E.E.U.U.) 79(8):801-804.
- FERNANDEZ, B.O.; LOPEZ, D.S. 1970. Pudrición acuosa del pseudotallo del plátano (*Musa paradisiaca*) causada por *Erwinia paradisiaca*, n. sp. Cenicafe (Colombia) 21(1):3-44.
- FUCIKOVSKY, Z.; VILLARREAL, G.L.A. 1991. Presencia y dispersión en el ambiente de dos subespecies de Erwinias. Agrociencia serie Protección Vegetal 2(1): 99-105.
- GOTO, M. 1992. Fundamental of Bacterial Plant Pathology. Academic Press, New York.
- GRAHAN, D.C. 1958. Occurrence of soft rot bacteria in Scottish soils. Nature 181(4601):61.
- GRAHAN, D.C.; HARRISON, M.D. 1975. Potential spread of *Erwinia* spp. as aerosols. Phytopathology (E.E.U.U.) 65:739-741.
- GROSS, D.C.; POWELSON, M.L.; REGNER, K.M.; RADAMAKER, G.K. 1991. A bacteriophage-typing system for surveying the diversity and distribution of strains of *Erwinia carotovora* in potato fields. Phytopathology (E.E.U.U.) 81:220-226.
- HARRISON, M.D.; BREWER, J.W. 1980. Field dispersal of soft rot bacteria. In: Phytopathogenic Prokariotes V.2. Academic Press. 485 p.
- JIMENEZ, G.; CORDOVES, M. 1992. Caracterización de las bacterias de la rizosfera de plátano antagonistas a *Erwinia chrysanthemi*. Protección de plantas 2(2):67-75.
- KLOPPER, J.W.; HARRISON, M.D. BREWER, W.D. 1980. The association of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* and *Erwinia carotovora* var. *carotovora* with insects in Colorado. American Potato Journal. (E.E.U.U.) 56: 351-361.
- MENELEY, J.C.; STANGHELINI, M.E. 1976. Isolation of soft rot *Erwinia* spp. from agricultural soils using an enrichment technique. Phytopathology (E.E.U.U.) 66:367-370.
- MENZIES, J.D. 1963. Survival of microbial plant pathogens in soils. Botanical Review 29(1):79-122.
- MOLINA, J.J.; HARRISON, M.D.; BREWER, J.W. 1974. Transmission of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* by *Drosophila melanogaster* Meig. I. Acquisition and transmission of the bacterium. American Potato Journal. (E.E.U.U.) 51: 245-250.
- PEROMBELON, M.C.W. 1980. Ecology of the soft rot erwinias. Ann. Rev. Phytopathology 18:361-387.
- QUESADA, M.; WANG, A. 1992. Insectos portadores de la bacteria causante del "cáncer del mango" (*Mangifera indica*). Agronomía Costarricense (Costa Rica) 16(2):231-236.

- SCHAAD, N.W. 1990. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 2nd ed. St. Paul, Minnesota, The American Phytopathological Society. 72 p.
- SIMMONDS, N.W. 1966. Bananas. 2 ed. Longmans, Green London. 535 p.
- STOVER, R.H. 1972. Banana, Plantain and Abaca Diseases. Commonwealth Agricultural Bureaux, London. 316 p.
- WARDLAW, C.W. 1961. Banana diseases. Including Plantain and Abaca. Longmans, Green, London. 648 p.