

BACTERIAS ASOCIADAS AL CULTIVO DEL PLÁTANO
(*Musa sp.*) Y SU RELACIÓN CON EL ABORTO DEL RACIMO

Por

Judith Rengifo Medina

Tesis sometida en cumplimiento parcial
de los requisitos para el grado de

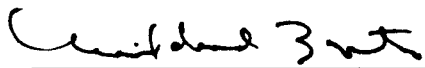
MAESTRO EN CIENCIAS

en

Protección de Cultivos

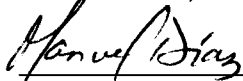
UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2003

Aprobado por:



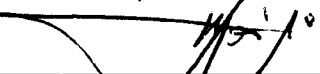
Mildred Zapata, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

16 de octubre 2003
Fecha



Manuel Díaz, MS.
Miembro, Comité Graduado

15 octubre - 03
Fecha



Rafael Inglés, MS.
Miembro, Comité Graduado

16 octubre 2003
Fecha



Carlos A. Muñoz, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

17 octubre 2003
Fecha



Rafael Montalvo, Ph. D.
Representante, Escuela Graduada

16 octubre 2003
Fecha



Nelson Semidey, Ph.D.
Director del Departamento

17 octubre 2003
Fecha

ABSTRACT

Plantain production (*Musa* spp.) in Central, South America and the Caribbean is limited by bacterial diseases. In Puerto Rico, the production of the plantain “Hua Moa” is affected by a disease called bunch abortion or choke neck. Although it is common to observe soft rot tissue suggesting interactions with biotic agents, no research has been conducted to explain the disease in terms of abiotic or biotic agents. This study tried to identify bacteria and their role in relation to the choke neck disease. Bacteria were isolated from pseudostems of “Hua Moa” in three locations in Puerto Rico, using common and semi-selective growth media. Pathogenicity was determined using potato and plantain pseudostem discs in humid chambers under *in vitro* conditions. Under greenhouse conditions the pathogenicity of four bacteria were tested on whole plants on the clones Maricongo, Grand nain, Enano, FHIA-01 and “Hua Moa”. A field experiment was conducted during 10 months on “Hua Moa” plants inoculated with *Pseudomonas aeuriginosa*. A total of 167 strains were isolated from diseased plants from which *Burkholderia gladioli*, *Erwinia chrysanthemi* and *P. aeuriginosa* were determined pathogenic. *E. chrysanthemi* was virulent in all clones tested under greenhouse conditions. Significant differences between treatments were not found under field conditions suggesting that *P. aeuriginosa* have no relation with the disease. At the other hand, *E. chrysanthemi* may be responsible of the soft rots developed on “Hua Moa” plantain once the choke neck disease is initiated.

RESUMEN

Las enfermedades bacterianas son una limitante en la producción del plátano (*Musa spp.*) en países de Centro, Sur América y el Caribe. En Puerto Rico, la producción de plátano tipo “Hua Moa” es afectada por una condición conocida como aborto del racimo o “choke neck”. Aunque es común observar tejido con pudriciones blandas, lo que sugiere interacción con agentes bióticos, no se ha realizado investigación para explicar la condición en términos de agentes abióticos o bióticos. Este estudio trató de identificar las bacterias y su función con relación al aborto del racimo en plátano “Hua Moa”. Se aislaron bacterias de pseudotallos de “Hua Moa” en tres localidades de Puerto Rico usando medios de crecimiento comunes y semiselectivos. La patogenicidad fue determinada usando discos de papa y pseudotallo de plátano en cámaras húmedas bajo condiciones *in vitro*. La patogenicidad de cuatro bacterias fue evaluada bajo condiciones de invernadero en clones de Maricongo, Grand nain, Enano, FHIA-01 y “Hua Moa”. Se realizó un experimento de campo durante 10 meses usando plantas de “Hua Moa” inoculadas con *Pseudomonas aeruginosa*. Se obtuvieron un total de 167 bacterias dentro de las cuales se identificaron a *Burkholderia gladioli*, *Erwinia chrysanthemi* y *P. aeruginosa* como patógenas. *E. chrysanthemi* fue la más virulenta en todos los clones evaluados en condiciones de invernadero. En el ensayo de campo no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, sugiriendo que la bacteria inoculada no tienen relación con la enfermedad. Por otro lado *E. chrysanthemi* puede ser responsable de la pudrición blanda en plátano “Hua Moa” una vez se presenta la condición del aborto del racimo.

DEDICATORIA

A mis padres,
quienes me dieron el más valioso regalo
que pudieron entregarme..
Su gran amor, comprensión y apoyo
para todas las cosas que he realizado
en mi vida.

A Juan Manuel,
por ser mi gran amor y estar siempre
cuando lo he necesitado.

A mis
hermanas y hermano, por que siempre
sé que cuento con ellos en los
momentos buenos y malos.

A todos mis
sobrinos en especial a Claudia y Andrés
por que siempre han logrado hacerme
reír en los momentos más tristes de mi
vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Mildred Zapata por su orientación y apoyo constante en la realización de mis estudios y por la ayuda en el desarrollo de este trabajo. Al agrónomo Manuel Díaz por los consejos tan acertados y oportunos durante la realización de esta investigación. Al Dr. Carlos Muñoz y al agrónomo Rafael Inglés, por sus recomendaciones y sugerencias durante mi maestría.

Al agrónomo Radamés Ronda por su apoyo, comprensión y ayuda incondicional en diferentes etapas de mi maestría. A los señores Félix Irrizarry y Pedro Méndez porque sin su ayuda no hubiese podido lograr las partes que para mí fueron las más difíciles. Quiero darles las gracias también a Rosario, Angeles y Myrna por su ayuda y amistad en el laboratorio de la Finca Alzamora.

A mis amigas Rebecca, Marilyn, Glenda y Eileen por que siempre han estado ahí cuando las he necesitado. A Hugo, Julian, German, Oslec, Roxana y Maricelis por su compañía y apoyo durante estos años en Puerto Rico.

Al Departamento de Protección de Cultivos y a sus profesores, por la formación recibida durante este tiempo. A las Estaciones Experimentales Agrícolas de Corozal, Gurabo, Isabela y a la empresa agrícola comercial MARTEX por su colaboración.

A los proyectos Z-166C (Ecología y epidemiología de la marchitez bacteriana) y HATCH 369 (Enfermedades bacterianas de cultivos alimenticios y ornamentales) los cuales financiaron esta investigación.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE APENDICES.....	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1 Enfermedades bacteriales de tipo vascular	5
3.1.1 Marchitez bacterial o enfermedad del moko.....	5
3.1.2 “Blood disease” o “Penyakit Darah”	7
3.1.3 Otras enfermedades vasculares.....	8
3.2 Enfermedades bacteriales de la fruta	9
3.2.1. “Bugtok”	9
3.3 Pudriciones del corno y el pseudotallo.....	10
3.3.1. Pudrición bacterial del rizoma	11
3.3.2 Pudrición blanda del pseudotallo.....	12
3.4 Aborto del racimo o cierre del cuello “Choke neck”	13
3.5 Control biológico	15
4. MATERIALES Y METODOS	18
4.1 Muestreo, caracterización bioquímica y morfológica de colonias bacterianas y determinación <i>in vitro</i> de su potencial patogénico	18

4.2	Relación de las bacterias patógenas con el aborto del racimo.	25
4.3	Determinación del grado de patogenicidad en otros clones.....	28
4.4	Determinación del potencial antagonista	31
4.5	Cortes histológicos.....	33
5.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	37
5.1	Muestreo, caracterización bioquímica y morfológica de colonias bacterianas y determinación <i>in vitro</i> de su potencial patogénico	37
5.2	Relación de las bacterias patógenas con el aborto del racimo	53
5.3	Determinación del grado de patogenicidad en otros clones.....	58
5.4	Determinación del potencial antagonista	70
5.5	Cortes histológicos.....	73
6.	CONCLUSIONES.....	75
7.	RECOMENDACIONES	76
8.	BIBLIOGRAFIA	77

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Número total de bacterias seleccionadas por respuesta a la prueba de patogenicidad para la identificación mediante la técnica BIOLOG [®]	25
Tabla 2. Número total de bacterias por localidad y respuestas bioquímicas	38
Tabla 3. Bacterias Gram positivas con presencia y ausencia de esporas	41
Tabla 4. Bacterias aisladas de tejido sano en tres localidades de Puerto Rico..	42
Tabla 5. Bacterias aisladas de tejido enfermo en tres localidades de Puerto Rico.	42
Tabla 6. Análisis de varianza para el área necrótica en el tejido de plátano y papa	45
Tabla 7. Comparación de medias de lesiones en plátano inoculadas con bacterias bajo condiciones <i>in vitro</i>	45
Tabla 8. Comparación de medias de lesiones en papa inoculadas con bacterias bajo condiciones <i>in vitro</i>	46
Tabla 9. Identificación de las bacterias patogénicas mediante el sistema de BIOLOG [®] y otras características	49
Tabla 10. Análisis de varianza de las características empleadas en la búsqueda de la relación de las bacterias con el aborto del racimo	53
Tabla 11. Porcentaje de plantas con aborto de racimo en tres localidades de Puerto Rico.....	58
Tabla 12. Efecto de las distintas bacterias sobre las variables daño, altura (cm), diámetro (cm) y pudrición en los clones Grand nain, Enano y FHIA-01.	59
Tabla 13. Efecto de las distintas bacterias sobre las variables daño, altura (cm), diámetro (cm) y pudrición en los clones Maricongo y “Hua Moa”.....	59
Tabla 14. Comparación de medias de las diferentes bacterias evaluadas en invernadero, Mayagüez UPR - RUM	60
Tabla 15. Reacción antagónica de las bacterias aisladas de plátano “Hua Moa” contra las bacterias que mostraron potencial patogénico.....	72
Tabla 16. Análisis de varianza para la reacción de inhibición en bacterias aisladas de plátano.....	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntomas de pudrición del pseudotallo en plátano “Hua Moa”: A y B) Pudrición blanda en la parte interna; C) Necrosis y pudrición en estado avanzado y D) Aborto de racimo con pudrición.	20
Figura 2. Cámara húmeda empleada para la prueba de patogenicidad en discos de plátano marcados con palillos plásticos.	23
Figura 3. Escala utilizada para la evaluación de los diferentes niveles de aborto del racimo en el campo. A) 1-3 Racimo completamente fuera del pseudotallo con un buen desarrollo; B) 4-6 Aborto intermedio donde la última y penúltima mano están dentro del pseudotallo y C) 7-9 Aborto severo donde el racimo queda dentro del pseudotallo.	27
Figura 4. Escala para la evaluación del daño general de los diferentes clones inoculados en invernadero. A) 1-3: Sano; B) 4-6: Hojas superiores cloróticas y C) 7-9: Hojas superiores necróticas).	30
Figura 5. Escala para la evaluación del daño interno en los diferentes clones inoculados en invernadero A) 1-3: Sano; B) 4-6 Necrosis parte media del disco y C) 7-9: Necrosis y pudrición parte interna del disco.	31
Figura 6. Método del disco de papel empleado para determinar antagonismo. Los números 1, 2 y 3 muestra la bacteria antagónica; el 4 muestra el control y el 5 representa la bacteria patógena.	33
Figura 7. Bacterias Gram negativas agrupadas por pruebas bioquímicas aisladas de tres localidades de Puerto Rico.	39
Figura 8. Bacterias Gram positivas agrupadas por pruebas bioquímicas aisladas de tres localidades en Puerto Rico.	39
Figura 9. Forma y color de colonias predominantes en las tres localidades en medio NA: A): Color crema, redonda, borde liso y elevación convexa; B): Color crema, redonda, borde liso y elevación plana y C): Color crema tornasol, borde corrugado y elevación plana.	43
Figura 10. Daño causado por diferentes bacterias en los discos de plátano: A) Control; B) Bacteria 2072, necrosis localizada en la zona de inoculación; C) Bacteria 2399, necrosis en casi el 90% del disco; D) Bacteria 2408, necrosis y pudrición en el 100% del disco.	47
Figura 11. Síntoma del aborto del racimo en plantas control.	55
Figura 12. Distribución de temperatura durante el año 2002 para las localidades de Mayagüez, Corozal y Gurabo (ATMOS CARIB, 2003).	57

Figura 13. Distribución de precipitación durante el año 2002 para las localidades de Mayagüez, Corozal y Gurabo (ATMOS CARIB, 2003).	57
Figura 14. Daño externo (hojas superiores necróticas) producido por la bacteria <i>E. chrysanthemi</i> en los diferentes clones de plátano (Maricongo, Enano y “Hua Moa”) y de Guineo (Grand nain y FHIA- 01).	61
Figura 15. Pudrición interna producida por la bacteria <i>E. chrysanthemi</i> en los diferentes clones de plátano plátano (Maricongo, Enano y “Hua Moa”) y de Guineo (Grand nain y FHIA- 01).	62
Figura 16. Efecto de la bacteria <i>E. chrysantemi</i> (2415) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FHIA-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.	64
Figura 17. Efecto de la bacteria <i>Burkholderia gladioli</i> (2072) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FHIA-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.	64
Figura 18. Efecto de la bacteria <i>Pseudomonas spinosa</i> (2399) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FHIA-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.	65
Figura 19. Efecto de la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2086 - 2162) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FHIA-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.....	66
Figura 20. Necrosis producida por <i>P. aeruginosa</i> en los diferentes clones de plátano (Maricongo, Enano y “Hua Moa”) y guineo (Grand nain y FHIA-01).	69
Figura 21. Inhibición por las bacterias con potencial antagónico donde A: bacteria antagónica, B: bacteria patógena, C: control y la flecha marca la zona de inhibición dada en milímetros.	72
Figura 22. Fotografía del corte realizado en pseudotallo de plátano “Hua Moa” donde se pueden observar cámaras de aire separadas por un septo de tejido vascular.	74

LISTA DE APENDICES

Apéndice 1. Listado de bacterias encontradas en las tres localidades.....	83
Apéndice 2. Bacterias con características morfológicas y bioquímicas comunes en las tres localidades.....	89

1. INTRODUCCIÓN

El plátano (*Musa* spp.) es uno de los cultivos más importantes a escala mundial; sin embargo, ha sido muy poco estudiado en comparación a otras especies de explotación comercial. Es clasificado como alimento básico de millones de personas en los países tropicales en vías de desarrollo, ya que aporta gran parte de los requerimientos nutricionales como carbohidratos, fibras, vitaminas (A, B₆ y C) y minerales (potasio, fósforo y calcio), además de ser una importante fuente de ingresos para los mercados locales e internacionales (Frison y Sharrock, 1998).

En el 2002 se produjeron, a escala mundial 28,819,664 toneladas métricas de plátano, con un rendimiento promedio de 5,903 kg/Ha. De este total en el área del Caribe se produjeron 999,631 toneladas métricas, con un rendimiento promedio de 7,428 kg/Ha (FAO, 2003). Para el caso específico de Puerto Rico, la mayoría de la producción de plátano y guineo se encuentran en zonas montañosas, siendo la segunda cosecha económicamente más importante después del café (Díaz, 2002), reportándose para Puerto Rico 82,000 toneladas métricas de plátano con un rendimiento promedio de 8,632 kg/Ha (FAO, 2003).

La productividad puede ser afectada por varios factores bióticos y abióticos que inciden en el cultivo en la zona tropical y subtropical, entre éstos se encuentran las bacterias fitopatogénicas. Las bacterias más importantes son

Ralstonia solanacearum Smith, agente causal de la enfermedad del moko (Stover, 1972) y *Erwinia carotovora* Jones, agente causal de las pudriciones blandas (Cedeño *et al.*, 1990). Estas producen enfermedades cuyos síntomas son marchitez y pudrición, respectivamente. La enfermedad del moko se ha diseminado por las principales zonas productoras de Centro América y Sur América, sin ser aún reportada en las islas del Caribe, excepto en Trinidad y Granada donde ya está presente (Ploetz *et al.*, 1994). Esta enfermedad se ha convertido en la enfermedad bacteriana más devastadora de este cultivo en toda la zona tropical y subtropical donde se siembra, causando pérdidas de hasta un 100% (Stover, 1972).

La pudrición blanda del pseudotallo es causada por *Erwinia* spp. y se ha reportado su presencia en Costa Rica, Panamá, Venezuela, Colombia y en algunas islas del Caribe como República Dominicana, Haití (Stover, 1972) y Puerto Rico (Díaz, Com. Per. 2000). Esta puede causar pérdidas de hasta un 50% (Stover, 1972).

Otro factor que puede afectar la producción del plátano es un fenómeno que ha sido reportado como estrechez o trauma del cuello (“choke neck”); ésta condición fue observada inicialmente en clones de “Dwarf Cavendish” (Musa AAA) observándose una retención del racimo debido a la compactación de las hojas pecioladas con internudos cortos, lo cual congestiona la salida del racimo, afectando significativamente el rendimiento puesto que reduce

considerablemente la calidad y precio de la fruta (Robinson, 1998). En algunos casos se ha observado necrosis y pudrición del tejido que rodea la zona donde es retenido el racimo. Estos síntomas se presentan en la parte superior del pseudotallo hasta la parte media del mismo (Zapata, Com. Per. 2000). En Puerto Rico, este fenómeno se ha observado en el clon de plátano hawaiano “Hua Moa” (Musa AAB) y ha sido llamado “aborto del racimo” por los agricultores de la zona. Para explicar este fenómeno se sugieren las siguientes causas: las temperaturas frías, estrés de sequía (Stover y Simmonds, 1987; Robinson 1998; Crane y Balerdi, 1998), ataque de nemátodos barrenadores tal como *Radopholus similis* (Robinson, 1998) y bacterias fitopatógenas asociadas al cultivo (Zapata, Com. Per. 2001).

Las bacterias patógenas y el aborto del racimo, son causales de grandes pérdidas económicas en otros países. La introducción de material vegetal en Puerto Rico con el fin de aumentar la productividad y diversidad de genotipos y la importación masiva de material de propagación a la isla, después de los huracanes, favorecen la posibilidad de introducción de patógenos. Por lo tanto, es necesario identificar las bacterias que se relacionan con este cultivo, su rol en diferentes zonas del país y si estas tienen relación con el aborto del racimo o estrechez o trauma del cuello en el cultivo “Hua Moa”.

2. OBJETIVOS

- Aislar, caracterizar e identificar poblaciones bacterianas presentes en pseudotallos del plátano “Hua Moa” en tres localidades de Puerto Rico.
- Determinar el potencial patogénico de las bacterias en otros clones de plátano.
- Determinar la posible relación de las bacterias patógenas con el aborto del racimo.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Enfermedades bacteriales de tipo vascular

3.1.1 Marchitez bacterial o enfermedad del moko

La enfermedad del moko es una de las enfermedades más viejas y mejor conocida en plátanos y guineos. Rorer (1911) fue el primero en describir esta enfermedad y en 1940 Schomburg identificó a una bacteria en la Guyana como el agente causal de esta enfermedad (Cit. en Stover, 1972).

La enfermedad ha sido descrita en Venezuela, Brasil, Perú, Trinidad, Guyana, Costa Rica, Honduras, Panamá, Guatemala, México y dentro de las islas del caribe se ha encontrado solamente en Trinidad y Granada (Ploetz, *et al*, 1994). Se ha reportado también fuera de América en Filipinas e Indonesia. (Robinson, 1998). Dentro de los clones más susceptibles a esta enfermedad se encuentran los de tipo “Cavendish”, mientras que los plátanos de tipo cuerno son raramente afectados (Stover y Simmonds, 1987).

La mayoría de los síntomas característicos de esta enfermedad aparecen en hijuelos jóvenes que han sido cortados una vez (rebrote). Cuando comienza el rebrote, éstos se tornan necróticos y atrofiados (Stover, 1972). Los síntomas que se observan en plantas adultas son clorosis y marchitez de hojas viejas, pérdida de color en las hojas jóvenes (verde o amarillo pálido) y colapso entre la

base laminar y el pecíolo (Robinson, 1998). Internamente, el tejido vascular presenta un cambio de color de manera progresiva y cuando se hace un corte en el pseudotallo o en el rizoma, se observa un exudado bacterial del cual el organismo causal puede ser aislado (Thwaites *et al.*, 1999). El síntoma indicativo de la infección es la presencia de dedos amarillos prematuros en el racimo, los cuales presentan una pudrición seca de color marrón en la pulpa (Robinson, 1998). Buddenhagen y Sequeira (1958) observaron que la infección está asociada a daños en las raíces debido a condiciones desfavorables del suelo. La bacteria infecta el rizoma a través de heridas y puede ser transmitida de planta a planta por herramientas empleadas para la poda (Ploetz, *et al.*, 1994).

Otro mecanismo de transmisión son los insectos del orden Hymenoptera (*Trigona* spp.), los cuales son atraídos por el exudado bacterial y pueden llevar la enfermedad a otras plantas. Los síntomas en este caso se observan primero en las flores y pedúnculos, los cuales se tornan necróticos y posteriormente arrugados; la bacteria invade los frutos causando una maduración prematura y pudrición de la misma. Eventualmente, la bacteria se vuelve sistémica enfermando toda la planta (Thwaites *et al.*, 1999).

El agente casual de esta enfermedad es la bacteria *Ralstonia solanacearum* conocida anteriormente como “*Pseudomonas solanacearum* o *Burkholderia solanacearum*” (Yabuuchi *et al.*, 1995). Es una bacteria aeróbica, Gram-negativa con flagelación polar y catalasa positiva (Doudoroff y Palleroni, 1974). Esta

presenta una alta heterogeneidad a nivel intraespecífico y ha sido subdividida en cinco biotipos de acuerdo al catabolismo de carbohidratos y en tres razas de acuerdo a su hospedero, reportándose la raza uno como patógena en un gran número de cultivos, especialmente solanáceas; la raza dos afecta exclusivamente al cultivo del plátano y el guineo, la raza tres es específica para papa (García, *et al.*, 1999).

El control efectivo de esta enfermedad radica en evaluaciones constantes de las plantaciones, erradicando plantas enfermas, desinfección de herramientas entre cada poda, inyectar un herbicida sistémico como glifosato a plantas e hijuelos que no han sido removidos, entre otros (Robinson, 1998).

3.1.2 “Blood disease” o “Penyakit Darah”

A partir de 1906 esta enfermedad fue reportada en una isla al sur de Indonesia y a finales de 1980 fue observada en Java, Sumatra, Kalimantan y las islas Moluccan; hasta el momento no ha sido reportada fuera de Indonesia (Thwaites *et al.*, 1999). Se ha encontrado que afecta a plátanos, guineos y algunas especies silvestres de *Heliconia* y *Musa* (Eden-Green, 1994).

La infección ocurre a través de la inflorescencia y es transmitida por los insectos de manera similar a la enfermedad de moko. Entre los síntomas se encuentran amarillamiento de las hojas seguido de marchitez, necrosis y colapso de las mismas; la flor masculina y los frutos pueden tornarse necróticos y

pequeños (Thwaites *et al.*, 1999). Internamente, los haces vasculares exhiben una coloración rojiza que se puede extender a través de la planta o se puede concentrar en la fruta, la cual también muestra una coloración rojiza por lo cual se deriva el nombre de la enfermedad (Eden-Green, 1994).

Gäumann (1923) reportó como causante de esta enfermedad a una bacteria Gram negativa la cual llamó *Pseudomonas celebensis*. Rangaswami y Rangarajan (1965) la clasificaron como miembro del género *Xanthomonas*, pero el nombre nunca fue validado. Actualmente, se realizan numerosos estudios a nivel genético para determinar a que grupo pertenece, por lo tanto el agente causal de esta enfermedad no ha sido oficialmente clasificado. Hasta el momento la estrategia efectiva para el control de esta enfermedad es el uso de plantas sanas o libres del patógeno (Thwaites *et al.*, 1999).

3.1.3 Otras enfermedades vasculares

Existen otras enfermedades de tipo vascular que afectan plátanos, guineos y otras especies de Musas, como Abacá y Ensete, para las cuales aún se desconoce el agente casual; pero se cree que son causadas por bacterias similares a *Ralstonia solanacearum*. Estas enfermedades han sido llamadas “enfermedad vascular Javanenses”, “marchitez bacterial de Abacá” y “marchitez bacterial de Ensete” (Thwaites *et al.*, 1999).

3.2 Enfermedades bacteriales de la fruta

3.2.1. “Bugtok”

La primera persona en describir esta enfermedad fue Roperos (1965) el cual la reportó en los clones “Saba” y “Cardaba”, dos de los cultivares de plátano más populares en las Filipinas (Cit. en Thwaites *et al.*, 1999). “Bugtok” es un término local que se utiliza en la parte sur de las Filipinas, para describir a la fruta infectada, la cual se decolora y se endurece aún madura (Soguilon *et al.*, 1995).

Soguilon *et al.* (1995) describen como el síntoma más característico de ésta enfermedad la pérdida de color de la pulpa del fruto, la cual es más intensa en el centro; internamente se pueden observar rayas vasculares de color café, tanto en el pedúnculo del fruto como en el tallo y en el pseudotallo. Esta enfermedad es posiblemente transmitida por insectos del género *Thrips sp.* a través de la inflorescencia, produciéndose una distorsión del pedúnculo (Thwaites *et al.*, 1999).

Actualmente, análisis genéticos han demostrado una relación estrecha entre la bacteria causante de “Bugtok” y la causante del moko (Thwaites *et al.*, 1999). Esta enfermedad puede controlarse protegiendo las inflorescencias con bolsas plásticas justo al momento de la fructificación, así como también prácticas culturales de limpieza tanto de herramientas como del terreno y de la planta (Soguilon *et al.*, 1995).

A nivel de los frutos, Stover (1972) reportó una enfermedad en clones de guineos pertenecientes al grupo genómico *Musa* AAA en Honduras y Nicaragua. Esta enfermedad es conocida como “pudrición bacteriana de la punta de los dedos” y algunas veces ha sido llamada “mokillo”. Los síntomas que se manifiestan en los dedos son la presencia de un color amarillo en la punta e internamente una textura gelatinosa que toma un color amarillo a rojizo. Esta enfermedad es atribuida a bacterias del género *Pseudomonas* y actualmente se desconoce acerca del ciclo de ésta, pero se cree que la transmisión es por insectos (Thwaites *et al.*, 1999).

3.3 Pudriciones del corno y el pseudotallo

Las pudriciones son ocasionadas por la maceración de los tejidos con múltiples enzimas producidas por el patógeno tales como pectinasas, celulasas y proteasas; las cuales actúan en las paredes celulares de la planta y provocan las podredumbres blandas, acuosas y con olores fuertes que dan como resultado la pérdida estructural del tejido (Cothier y Sivasithamparam, 1983). Dentro del grupo de bacterias con esta capacidad se encuentran diferentes especies de *Erwinia* spp. las cuales afectan un gran número de plantas (Dye, 1983).

Se han sugerido tres grupos para la clasificación de las especies de *Erwinia* spp. que son patogénicas en plantas: “grupo Amylovora” causan necrosis seca y síntomas de marchitez, no forman enzimas pectínicas ni pigmentos amarillos;

“grupo Carotovora” causan pudriciones blandas, ya que tienen actividad pectolítica; “grupo Herbicola” producen un pigmento amarillo insoluble en agua. Existe un cuarto grupo llamado *Erwinias* atípicas, las cuales son especies que forman micelio y cuya posición taxonómica es dudosa; en este grupo no se incluye ningún patógeno de plantas (Dye 1983).

3.3.1. Pudrición bacterial del rizoma

Stover (1959) describe por primera vez esta enfermedad en Honduras. Wardlaw (1972) la reporta en otros países de Centro América y Shillingford (1974) la reportó en Jamaica (Cit en Thwaites *et al.*, 1999). Se ha observado que afecta clones diploides (*Musa AA*) y algunos cultivares de guineos triploides (*Musa AAA*) (Thwaites *et al.*, 1999). Cuando los síntomas están presentes, el rizoma se observa débil y en tal caso el viento o el peso de la fruta puede hacer caer la planta. Internamente, la corteza presenta regiones acuosas de color café o amarillo las cuales tienen márgenes de color café bien definido; en estado severo cuando hay suficiente pudrición, estas regiones forman cavidades que pueden ser confundidas por túneles causados por nemátodos (Thwaites *et al.*, 1999).

Stover (1972) aisló a *Erwinia carotovora* de plantas afectadas. Posteriormente, se realizaron aislamientos de tejido enfermo procedentes de Jamaica, Honduras y Panamá donde se identificó a *Erwinia chrysanthemi*

(Dickey, 1981). Para el control de este patógeno se recomienda el uso de “semilla” seleccionada (Thwaites *et al.*, 1999).

3.3.2 Pudrición blanda del pseudotallo

La pudrición blanda o acuosa del pseudotallo en plantaciones de musáceas es causada por bacterias del género *Erwinia* spp. Esta enfermedad esta distribuida por toda Latinoamérica, principalmente en Colombia, Venezuela, Ecuador, Panamá, Costa Rica y Honduras (Stover, 1972).

La pudrición blanda está asociada en gran parte a hortalizas, pero también es patógeno natural de un amplio grupo de ornamentales y de cultivos como el maíz, arroz, remolacha, ñame y yautia. Es particularmente dañina en papa, donde ha sido muy estudiada, y los métodos que se aplican en este cultivo para la detección de esta enfermedad son aplicables a otros cultivos donde se sospecha la presencia de este patógeno. *Erwinia* tiene gran capacidad saprofítica, por lo que puede sobrevivir en el suelo, agua de riego y raíces de malezas. Además, puede ser transportada por numerosos insectos ya que este patógeno puede sobrevivir dentro del mismo por varias horas. Las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad son alta humedad y temperaturas entre 25 y 35°C. (Guzmán y Sandoval, 1996).

Stover (1972) reportó la presencia de dos especies de bacterias del género *Erwinia* (*E. chrysantemi* y *E. carotovora*) afectando el corno y el pseudotallo,

tanto en guineos como en plátanos. Recientemente, se ha señalado a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* como el agente causal de la pudrición blanda en el plátano “Hartón” (*Musa* AAB) (Cedeño *et al.*, 1990). La enfermedad se caracteriza por presentar clorosis en la hoja bandera y por el posterior doblamiento a la altura del pseudopecíolo, marchitamiento general de la planta en forma ascendente hasta afectarla completamente (Gómez *et al.*, 2001). Se observan manchas oscuras de apariencia húmeda que, en condiciones ambientales favorables, se agrandan en todas las direcciones hasta circundar el pseudotallo. Los tejidos infectados aparecen macerados, muestran abundante acuosidad y emiten un fuerte olor (Cedeño *et al.*, 1990). Las vainas foliares internas presentan coloraciones que van desde marrón claro hasta marrón oscuro (Gómez *et al.*, 2001). El control de la pudrición blanda es difícil y depende de las prácticas culturales de sanidad; como evitar lesiones, un buen control de insectos y la rotación de cultivos (Agrios, 1997).

3.4 Aborto del racimo o cierre del cuello “Choke neck”

Este fenómeno es bien conocido en áreas de latitudes altas donde las temperaturas están por debajo de los 16°C, lo cual ocasiona un daño o distorsión en la fruta y problemas en la salida del racimo cuando emerge del pseudotallo (Stover y Simmonds, 1987). Robinson (1998) describe este fenómeno como una retención del racimo que ocurre cuando la inflorescencia

está tratando de emerger a través del pseudotallo y es detenida por la compactación de las hojas pecioladas con entrenudos cortos; éstas congestionan la salida del racimo, afectando la calidad y precio de la fruta.

Se conocen diferentes grados de cierre del cuello, observándose que en la forma intermedia el racimo sale fácilmente del pseudotallo pero tiende a orientarse de manera horizontal más que vertical y el pedúnculo es más corto de lo normal. En casos severos, el racimo se observa emergiendo un poco a través del pseudotallo, señalando hacia arriba, lo cual ocasiona que algunos frutos queden expuestos a la radiación solar produciéndoles quemaduras. Cuando el efecto del cierre es más severo, el racimo no sale a través del cuello de la planta e internamente el pedúnculo continúa elongándose de tal manera que dentro del pseudotallo toma una forma de 'S' (Robinson, 1998).

Robinson (1998) menciona que una sequía prolongada ocasiona que las plantas se tornen pequeñas, que haya una reducción en la salida de hojas y se presente el aborto del racimo. El ataque de nemátodos de tipo barrenador ocasiona una mala absorción de agua y nutrientes, lo cual puede a su vez ocasionar en la planta síntomas tales como hojas cloróticas, racimos pequeños y cierre del cuello (Robinson, 1998). Crane y Balerdi (1998) sugieren que un estrés de sequía severo, al igual que las bajas temperaturas pueden causar el cierre del cuello y el colapso del pseudotallo.

El clon “Dwarf Cavendish” (*Musa AAA*) se ha reportado como uno de los más afectados por este fenómeno (Robinson, 1998). En Puerto Rico, este fenómeno ha sido observado en el clon “Hua Moa” o “Hawaiano” (*Musa AAB*) (Irizarry y Goenaga, 2001). Este clon es originario de Tahiti; posteriormente fue llevado a Hawaii desde donde se introdujo a Estados Unidos en 1960 (Lessard, 1992). Esta variedad fue introducida a Puerto Rico por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en el 1991 procedente de Hawaii, con el fin de ser usada para el aumento en la producción de plátano en el país ya que presenta rasgos deseables de rendimiento. Este clon produce un racimo de tipo “cuerno falso” con frutas pequeñas y gruesas, la fruta contiene una pulpa de textura suave que se usa principalmente en la elaboración de tostones (Irizarry y Goenaga, 2001). Crane y Balerdi (1998) lo describen como un clon que requiere de mucho cuidado ya que es muy susceptible a la enfermedad conocida como “mal de panamá”, a la poca tolerancia al frío y a la sequía.

3.5 Control biológico

Debido a la importancia comercial del cultivo de plátanos y guineos, a los pocos productos químicos disponibles que existen para controlar bacterias y al alto costo de los mismos, se ha hecho indispensable el desarrollo de clones resistentes. De igual forma, se han desarrollado métodos culturales de control, tales como materiales de propagación sanos, rotación de cultivos, erradicación

de plantas afectadas, desinfección de herramientas y más recientemente el uso de microorganismos antagonistas; este último ha sido considerado como una estrategia promisorio para el control de bacterias fitopatógenas (Anuratha y Gnanamanickam, 1990).

El control biológico se presenta como una alternativa potencial libre de riesgo frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso de los plaguicidas. En un sentido amplio y según la definición de Cook y Baker (1983), el control biológico envuelve todas aquellas prácticas que disminuyen la incidencia de enfermedades y que excluyen el uso de sustancias químicas. En un sentido más restringido, el control biológico es el uso de organismos que interfieren con la supervivencia de patógenos o con el desarrollo de enfermedades. En la naturaleza existe una interacción continua entre organismos patógenos y antagonistas de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos (Cook y Baker, 1983; Mondino y Vero, 1999).

Los mecanismos mediante los cuales los antagonistas ejercen su acción pueden ser complejos y variados. Se han descrito cuatro mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos. El primero y más estudiado es la antibiosis; esta se refiere a la producción de sustancias tóxicas por parte de un microorganismo para contrarrestar a otros microorganismos. La competencia se puede definir como el comportamiento desigual de dos o más

organismos ante un mismo requerimiento; siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás (Cook y Baker, 1983; Mondino y Vero, 1999). El parasitismo se refiere al mecanismo que consiste en la utilización de un agente patógeno como fuente de alimento a otros organismos antagonistas (Melgarejo *et al.*, 1989). El cuarto mecanismo es la depredación donde el antagonista se alimenta de materia orgánica entre la cual ocasionalmente se encuentra el patógeno (Campbell 1989; Mondino y Vero, 1999).

Ejemplos de control biológico se han reportado por Sivamani y Gnanamanickam (1988), quienes han empleado *Pseudomonas fluorescens* para el control de la enfermedad del “mal de panama” en guineos causada por *Fusarium oxysporum* en el sur de la India. En otro caso, reportado por Anuratha y Gnanamanickam (1990), se utilizan cepas de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas fluorescens* como control biológico de pudriciones bacteriales causadas por *R. solanacearum* en guineo, berenjena y tomate en la India y en la región del Pacífico sur.

4. MATERIALES Y METODOS

Esta investigación fue dividida en las siguientes partes: inicialmente se hizo el muestreo, caracterización e identificación de poblaciones bacterianas procedentes de tejido sano y de tejido con síntomas de aborto en pseudotallos de plátano “Hua Moa”. Luego se continuó con la determinación del potencial patogénico y biológico de estas bacterias, su relación con el aborto del racimo y una determinación de la virulencia en otros clones de plátano y guineo.

4.1 Muestreo, caracterización bioquímica y morfológica de colonias bacterianas y determinación *in vitro* de su potencial patogénico

Durante el periodo de noviembre de 2001 a enero de 2003, se realizaron dos muestreos de tejido en pseudotallos de plantas de plátano “Hua Moa” de apariencia sanas (representativos de las plantas control) y otros con síntomas visibles de aborto del racimo. El muestreo consistió en la toma de trozos de pseudotallo, de aproximadamente 3 a 4 cm de longitud, cercanos al racimo.

Los muestreos se realizaron en tres localidades de Puerto Rico: Santa Isabel, Corozal y Gurabo. Los muestreos realizados en Santa Isabel, en la empresa agrícola comercial “MARTEX”, se realizaron en un lote de producción en noviembre de 2001 y enero de 2003. Para los muestreos en Corozal y Gurabo, realizados en noviembre de 2002 y enero de 2003, se sembraron 32 y 26 cormos del clon “Hua Moa” en marzo de 2002 respectivamente.

El procesamiento de los tejidos traídos de las diferentes localidades, los aislamientos, la purificación y la posterior identificación de las bacterias obtenidas, fue realizado en el laboratorio de bacterias fitopatógenas del Departamento de Protección de Cultivos del Recinto Universitario de Mayagüez, ubicado en la Finca Alzamora.

Los trozos de 3 a 4 cm de pseudotallos sanos o con síntomas de pudrición en la zona donde el racimo era retenido (Figura 1) fueron procesados de la siguiente manera: los trozos fueron desinfectados con hipoclorito de sodio comercial al 5% durante tres minutos y posteriormente lavados tres veces con agua destilada esterilizada. Una vez desinfectados los tejidos se cortaron trozos más pequeños que fueron puestos en una solución de caldo nutritivo diluida al 10% durante 10 minutos. Además, se tomaron muestras utilizando hisopos de algodón estériles (*Puritan*, Guilford, Maine, U.S.A), los cuales eran pasados por la zona donde se encontraba la pudrición y luego puestos en caldo nutritivo al 10%. Similarmente se tomaron muestras de líquidos acumulado en la planta que surgía al momento del corte del pseudotallo. Luego, se dispersó 0.1 ml de cada una de estas suspensiones en placas de Petri con agar nutritivo (NA - DIFCO® Lab. 213000) y adicionalmente en dos medios semi-selectivos para aislar bacterias del tipo *Pseudomonas* (*Pseudomonas* Isolation Agar, PIA - DIFCO® Lab. 0927-01-9) y *Erwinia* (Miller-Schroth, MS). Los medios PIA y NA se prepararon siguiendo las instrucciones estipuladas en la etiqueta del reactivo,

mientras que MS se preparó de acuerdo a lo descrito por Jones y Geider (2001). A todos los medios se les adicionó ciclohexamida al 1% para evitar o reducir el crecimiento de hongos.

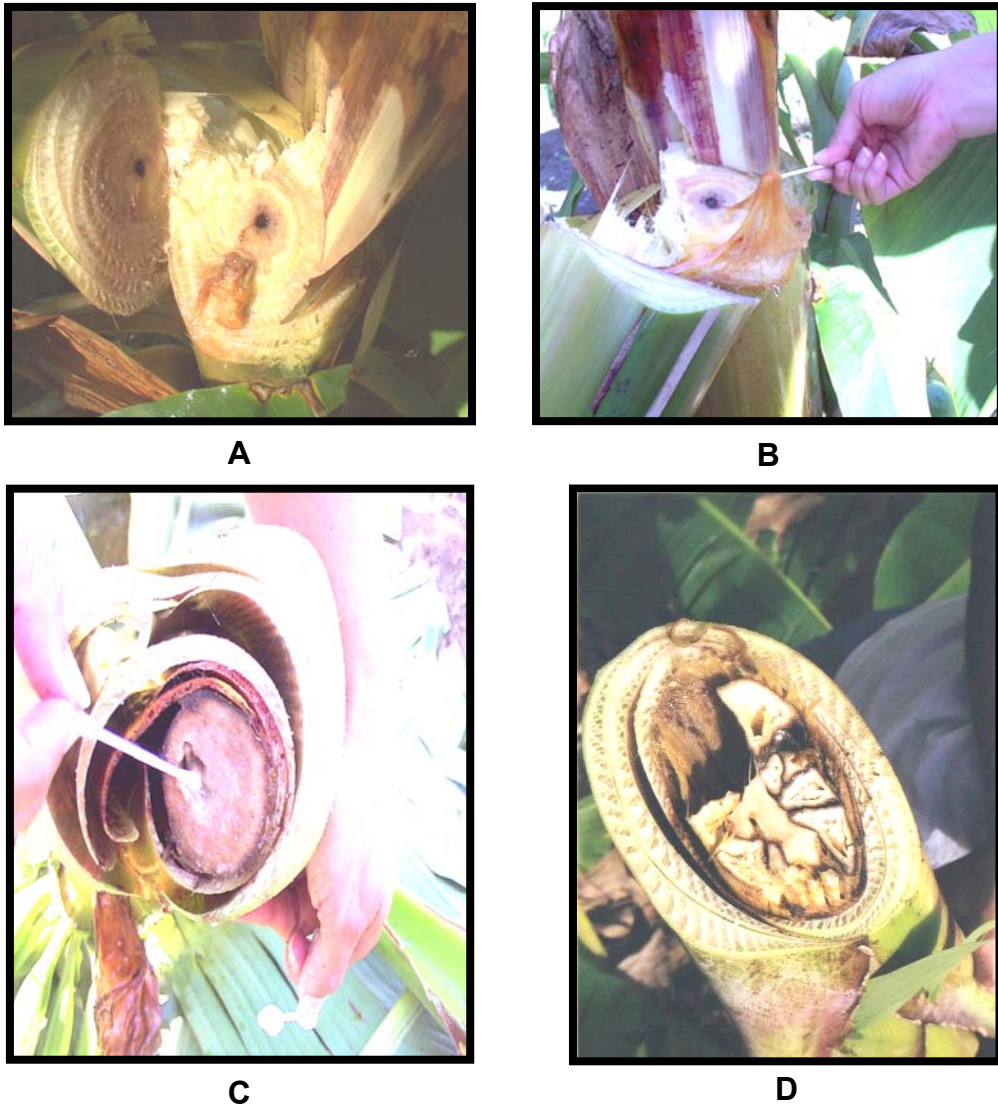


Figura 1. Síntomas de pudrición del pseudotallo en plátano “Hua Moa”: A y B) Pudrición blanda en la parte interna; C) Necrosis y pudrición en estado avanzado y D) Aborto de racimo con pudrición.

Los aislamientos bacterianos se incubaron a 29°C por un tiempo de 24 a 48 horas. Las colonias que crecieron en éstos diferentes medios fueron seleccionadas morfológicamente según su color, tamaño, margen, elevación y brillo. Las colonias se purificaron transfiriéndolas tres veces consecutivas en los medios correspondientes de donde se aislaron y se les asignó un número consecutivo dado en el laboratorio de bacterias fitopatógenas de la finca Alzamora.

La identificación y caracterización de las bacterias se realizó mediante cuatro pruebas de laboratorio. En primer lugar, la prueba de hidróxido de potasio (KOH) al 3% es una prueba indirecta de la reacción Gram (Suslow, *et al.*, 1982); segunda, la prueba de Catalasa permite diferenciar bacterias aeróbicas vs. anaeróbicas; tercera, la reacción a la prueba de Oxidasa diferencia bacterias entéricas vs. no entéricas; y por último, a las bacterias Gram positivas se les determinó la producción de esporas por tinción (Benson, 1985).

Se realizaron pruebas de patogenicidad utilizando tejido de pseudotallo de plátano del clon Maricongo y papa para las bacterias aisladas y purificadas; con el propósito de determinar el potencial patogénico. Las bacterias fueron activadas en NA en incubadora (Precision Scientific®) a una temperatura de 29°C por 24 horas. Se preparó una suspensión bacteriana a 0.7 Armstrong (A) de absorbancia en caldo nutritivo diluido al 10%. Se emplearon secciones de pseudotallo de aproximadamente 35 cm de largo provenientes de hijuelos del

clon Maricongo, los cuales procedían de la Estación Experimental Agrícola UPRM, CCA, de Isabela.

Este clon fue seleccionado para este ensayo debido a que es el más cultivado en Puerto Rico y había semilla disponible (contrario al clon “Hua Moa”). Por otro lado, el tejido de papa permite hacer una selección de las bacterias de tipo *Erwinia* de manera rápida y confiable. Las secciones de tejido de plátano (35 cm de largo) y de papas enteras fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 10% durante tres minutos y enjuagadas tres veces con agua destilada esterilizada. Se cortaron discos, los cuales fueron colocados en cajas de Petri de vidrio esterilizadas de 6 cm de diámetro por 1 cm de alto. Estas fueron colocadas dentro de placas de Petri más grandes (14 cm de diámetro por 2 cm de alto) para un total de 3 discos por caja, las cuales sirvieron como cámara húmeda (Figura 2).

El método de inoculación en los discos se realizó siguiendo un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA) con tres repeticiones, donde cada disco correspondía a una repetición. En cada uno de ellos se aplicaron 25 μ l de la suspensión bacteriana en un área marcada con palillos plásticos (para diferenciar entre oxidación natural y necrosis) en el caso del plátano. En los discos de papa la suspensión bacteriana fue aplicada directamente en el centro; haciendo previamente una pequeña punción de 1mm de profundidad. Para cada prueba se utilizó un control aplicando 25 μ l de caldo nutritivo diluido al 10%.

Los discos inoculados fueron incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 8 días, al cabo de los cuales se midió el área necrótica (en centímetros) producida por las bacterias inoculadas. Posteriormente, estos datos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y una prueba de DMS (Diferencia Mínima significativa). Se utilizó el programa Infostat[®] (InfoStat/Profesional, 2002). Con estos resultados se realizó una selección de las bacterias más virulentas para luego emplearlas en el ensayo de invernadero y campo.

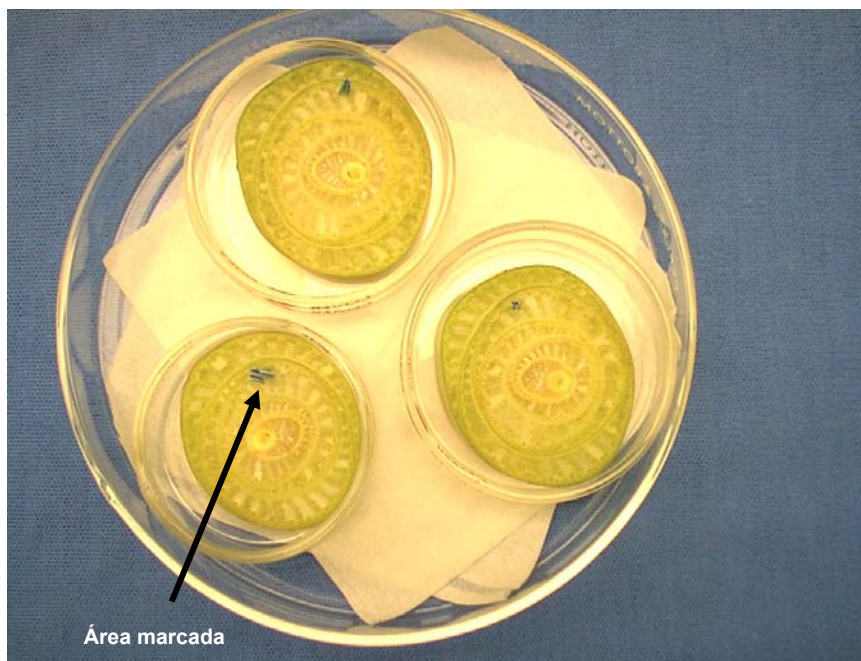


Figura 2. Cámara húmeda empleada para la prueba de patogenicidad en discos de plátano marcados con palillos plásticos.

Las bacterias que mostraron patogenicidad (Tabla 1) se identificaron utilizando la técnica de BIOLOG[®], basada en la utilización y oxidación de 95 fuentes de carbono que resultan en la producción de un perfil metabólico detectable por la reducción de tetrazolio (Garland, 1999). El procedimiento se realizó en tubos con 18 ml de una solución fluida en los cuales se suspendieron las bacterias purificadas de 24 horas de crecimiento con las siguientes características: 0.7 A de absorbancia, 590 nm de longitud de onda, 36–42% de transmitancia. Se dispersaron 150 µl de la suspensión bacteriana en cada uno de los 96 pozos de la microplaca y se incubaron por 24 horas; realizando la identificación del género y la especie mediante un programa computarizado el cual determina la probabilidad e índice de similitud mediante la oxidación de carbonos.

Tabla 1. Número total de bacterias seleccionadas por respuesta a la prueba de patogenicidad para la identificación mediante la técnica BIOLOG[®]

Nº Bacteria	Localidad
2051	Santa Isabel
2055	Santa Isabel
2056	Santa Isabel
2067	Santa Isabel
2072	Santa Isabel
2086	Santa Isabel
2144	Santa Isabel
2151	Santa Isabel
2153	Santa Isabel
2162	Santa Isabel
2390	Gurabo
2399	Gurabo
2404	Gurabo
2405	Gurabo
2407	Corozal
2408	Corozal
2410	Corozal
2415	Corozal
2416	Corozal
2420	Corozal
2483	Santa Isabel
2487	Santa Isabel
2494	Santa Isabel
2497	Santa Isabel

4.2 Relación de las bacterias patógenas con el aborto del racimo.

Debido al largo ciclo de vida que presenta el plátano (10 a 11 meses) y que al momento de la inoculación sólo se contaba con los resultados de las pruebas de patogenicidad de Santa Isabel, las muestras de bacterias que se seleccionaron para este ensayo fueron la 2086 y la 2162. Este trabajo se realizó bajo condiciones de campo en la Finca Alzamora del Recinto Universitario de Mayagüez. En febrero del 2002 se sembraron 32 cormos (de apariencia sana)

de plátano “Hua Moa” procedentes de una siembra en la E.E.A. de Corozal. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos aleatorizado (DBCA), con 4 bloques, 4 tratamientos (2086, 2162, una mezcla de las dos bacterias y un control de solución salina) en dos ensayos separados por aproximadamente 100 mts. La distancia de siembra fue de 2.7 mts. entre plantas y de 2.7 mts. entre hileras. La siembra y mantenimiento del cultivo se llevaron a cabo siguiendo las prácticas agronómicas del conjunto tecnológico para la producción de plátanos y guineos de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico (Anónimo, 1997). Se realizaron tres inoculaciones de las bacterias en los meses de mayo, agosto y noviembre del 2002.

Se realizaron tres inoculaciones a intervalos de 3 meses cada una; la primera inoculación fue realizada en el mes de mayo de 2002, tres meses después de sembrados los cormos. Para la preparación de la solución bacteriana, éstas fueron suspendidas en solución salina al 0.85% con el cultivo bacteriano de 24 horas de crecimiento en NA a 29°C. Para la primera y última inoculación se aplicaron 5 ml de la suspensión en la base de cada hoja a cada planta; en la segunda inoculación se aplicaron los 5 ml de la suspensión bacteriana con jeringa directamente a los pseudotallos. Para evaluar el aborto del racimo se esperaron 30 días después de observada la salida de la inflorescencia y se determinó el número de plantas con aborto y sin aborto. La evaluación se realizó mediante una escala establecida en esta investigación. Esta fue dada de la siguiente

manera: 1 a 3 plantas sanas o sin aborto, (1: salida y desarrollo completo del racimo, 2: primer grupo de manos desde la inflorescencia al pedúnculo sin desarrollo y 3: poco desarrollo del total de manos); 4 a 6 o intermedio (4: última mano del racimo dentro del pseudotallo, 5: mitad de la penúltima mano dentro del pseudotallo y 6: última y penúltima mano retenidas completamente dentro del pseudotallo) y 7 a 9 o severo (7: salida de las dos primeras manos del racimo 8: cuando sólo se observa una pequeña fracción de la inflorescencia masculina “pámpana” y 9: cuando el racimo no salió del pseudotallo) (Figura 3). También se tomaron datos del peso total del racimo y de una de las manos de cada racimo con características mercadeables.



A:1-3

B:4-6

C:7-9

Figura 3. Escala utilizada para la evaluación de los diferentes niveles de aborto del racimo en el campo. A) 1-3 Racimo completamente fuera del pseudotallo con un buen desarrollo; B) 4-6 Aborto intermedio donde la última y penúltima mano están dentro del pseudotallo y C) 7-9 Aborto severo donde el racimo queda dentro del pseudotallo.

Después de la evaluación externa se cortaron las plantas para determinar el daño interno y hacer reaislamientos de las bacterias y así poder correlacionar si el daño observado era debido a las bacterias inoculadas. Con estos datos se realizó un análisis de varianza y una prueba de DMS utilizando el programa Infostat®.

4.3 Determinación del grado de patogenicidad en otros clones

Para determinar la virulencia en plátano y guineo a nivel de invernadero, se inocularon tres clones de plátano (Enano común, Maricongo y “Hua Moa”) y dos clones de guineo (FHIA-01 y Grand nain). Se utilizaron cuatro bacterias que mostraron el mayor grado de virulencia a nivel de laboratorio (2072, 2399, 2415 y una mezcla de 2082 y 2162 utilizados en el campo) y se añadió un control. Se utilizó un diseño completo aleatorizado (DCA) con tres repeticiones para cada clon. Con cada bacteria se preparó una suspensión bacteriana en solución salina al 0.85% con una absorbancia de 0.7 A. y un largo de onda de 590 nm. La inoculación se llevó a cabo aplicando 15 ml de la suspensión bacteriana directamente en los pseudotallos con una jeringa. La inoculación se realizó en los clones Grand nain, FHIA-01 y Enano común a los seis meses de sembrados y para los clones Maricongo y “Hua Moa” a un mes de sembrados. Inicialmente, el clon Maricongo mostró problemas de desarrollo y daño por insectos cuando se sembró junto con los demás clones; con el propósito que se tuviera un buen desarrollo del clon, se realizó una nueva siembra un mes antes de la inoculación

programada. En cuanto al clon "Hua Moa" no hubo material de propagación al momento de la siembra; por lo cual, la inoculación de este clon fue realizada del mismo modo que se hizo con el clon de Maricongo. Para la evaluación de este ensayo se tomaron datos del daño producido por las bacterias a los 8, 15 y 20 días después de inoculadas, utilizando una escala de severidad desarrollada en esta investigación. Los valores de la escala fueron los siguientes: 1 a 3 plantas sanas (1: ausencia de hojas cloróticas y/o necróticas, 2: hojas inferiores cloróticas y 3: hojas inferiores cloróticas y necróticas), 4 a 6 plantas con clorosis (4: inicio de clorosis en hojas superiores, 5: 50% de clorosis en hojas superiores y 6: 80% de clorosis en hojas superiores) y 7 a 9 plantas con necrosis (7: inicio de necrosis en hojas superiores que mostraron clorosis, 8: 50% de necrosis en hojas superiores que mostraron clorosis y 9: 100% de necrosis en hojas superiores) (Figura 4). También se tomaron datos de altura de la planta (en cm), grosor del pseudotallo (en cm) y número de hojas. A los 20 días se realizó una evaluación adicional del daño interno en el pseudotallo desarrollándose una escala para esta investigación. Los valores de esta escala fueron: 1 a 3 pseudotallos sin síntomas (1: pseudotallos sanos, 2: necrosis leve en la parte externa del disco asociado a daño mecánico y 3: necrosis severa en la parte externa del disco asociado a daño mecánico), 4 a 6 (4: necrosis con poca pigmentación marron en aproximadamente 25% del disco, 5: necrosis con pigmentación intermedia en aproximadamente 25% del disco y 6: necrosis con

pigmentación marrón oscura en aproximadamente 25% del disco) y 7 a 9 (7: necrosis en el 50 al 100% del disco sin pudrición blanda, 8: necrosis en el 50 al 100% del disco y pudrición blanda en el 50% del disco y 9: necrosis en el 50 al 100% del disco y pudrición blanda en mas del 50% del disco) (Figura 5). Con estos datos se realizó un análisis de varianza y una prueba de DMS utilizando el programa Infostat®.



Figura 4. Escala para la evaluación del daño general de los diferentes clones inoculados en invernadero. A) 1-3: Sano; B) 4-6: Hojas superiores cloróticas y C) 7-9: Hojas superiores necróticas).

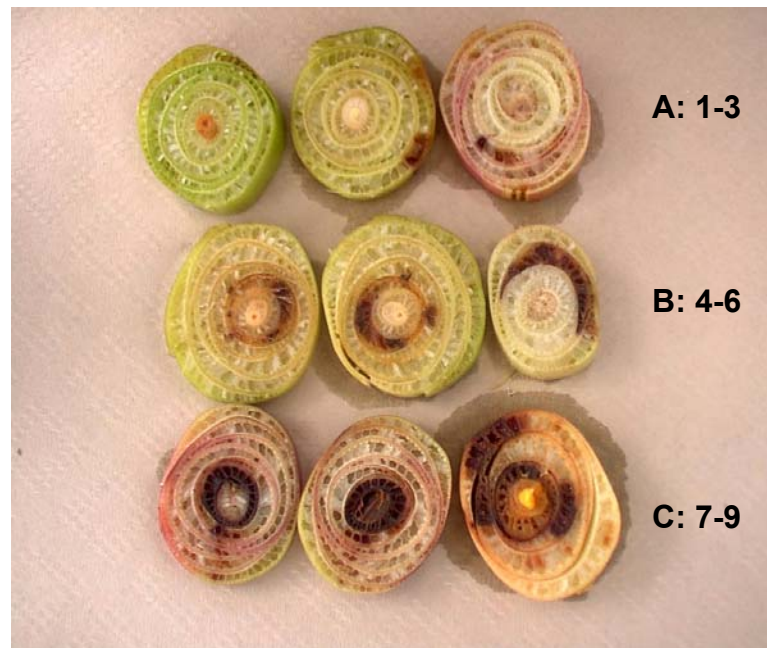


Figura 5. Escala para la evaluación del daño interno en los diferentes clones inoculados en invernadero A) 1-3: Sano; B) 4-6 Necrosis parte media del disco y C) 7-9: Necrosis y pudrición parte interna del disco.

4.4 Determinación del potencial antagonista

Para determinar el potencial de diferentes bacterias no patógenas para control biológico, se realizó un ensayo exploratorio a nivel de laboratorio con 82 bacterias no patógenas, diferentes en pigmentación y en respuesta bioquímica, contra 20 bacterias patogénicas. Los dos grupos de bacterias fueron activados durante 24 horas a 29°C; posteriormente se suspendieron en una solución nutritiva al 10% con una absorbancia de 0.7 A y un largo de onda de 590 nm. Las suspensiones de las bacterias patógenas fueron esparcidas en platos Petri

con NA sólido. Posteriormente, se hicieron cuatro pozos de manera equidistante con la ayuda de un sacabocados de 6 mm de diámetro; en los cuales se depositaron 15 µl de la suspensión bacteriana no patógena (dos bacterias no patógenas por cada plato de Petri). Los platos se incubaron a 29°C durante 48 horas, posterior a este tiempo se evaluó la distancia de inhibición en mm. Las bacterias que mostraron inhibición fueron evaluadas en un segundo ensayo. Dentro del grupo de bacterias patógenas se encontraban algunas repetidas; por lo tanto se seleccionaron 10 (una de cada especie) que representaron cada grupo de las bacterias patógenas identificadas y 10 bacterias que mostraron el mayor grado de inhibición. Se estableció un diseño factorial de 10 x 10 con dos repeticiones empleando el método de disco de papel (Freeman, 1962). Para este ensayo, se prepararon suspensiones de los dos grupos de bacterias siguiendo el mismo método antes descrito. Con las suspensiones de cada una de las bacterias patógenas se hizo un esparcido en NA. Se colocaron cuatro discos de papel de 6 mm de diámetro de manera equidistante; a tres discos se les aplicó 15 µl de la suspensión bacteriana inhibitoria y el cuarto fue empleado como control aplicándose 15 µl de solución nutritiva al 10% (Figura 6). Posteriormente, se incubaron a 29°C durante 48 horas, tiempo en el cual se evaluó la distancia de inhibición de la bacteria en mm. Se realizó un análisis de varianza con el fin de evaluar las interacciones entre las diferentes bacterias utilizando el programa SAS (SAS® System Institute, 1999).



Figura 6. Método del disco de papel empleado para determinar antagonismo. Los números 1, 2 y 3 muestra la bacteria antagónica; el 4 muestra el control y el 5 representa la bacteria patógena.

4.5 Cortes histológicos

Inicialmente, este estudio se realizó con tejido sano de pseudotallo de plátano con el fin de estandarizar la técnica para este cultivo. Con este propósito se emplearon las técnicas de microtécnica reportadas por Johansen (1940) con ciertas modificaciones. Este ensayo se realizó en el Centro de Microscopia Electrónica del Departamento de Biología del RUM (UPR) con la ayuda de estudiantes del programa “Upward – Bound TRIO Math & Science Program, UIA”. Para la estandarización, se comenzó con la disección del tejido, cortando

secciones de pseudotallo sano de 1 cm por 0.5 cm; estas secciones se colocaron en frascos que contenían una solución fijadora la cual mantiene la integridad del cultivo. La solución empleada fue paraformaldehído al 2% y glutaraldehído al 2.5% en un amortiguador de fosfato (PBS 0.1M, pH 7.2). Las muestras permanecieron en esta solución durante cinco días a 14°C. Posteriormente, las muestras se lavaron tres veces con una solución amortiguadora PBS (0.1M, pH 7.2) a intervalos de 5 minutos en cada lavado. Seguido, se realizó el proceso de deshidratación gradual a través de una serie de diluciones de alcohol; se comenzó con etanol al 10% y haciendo cambios cada 30 minutos por mezclas de etanol que aumentaban en un 5% progresivamente, hasta llegar a etanol al 100%, el cual se repitió tres veces en intervalos de 30 minutos cada uno. Luego las muestras fueron transferidas a un solvente de parafina (terbutil alcohol o TBA) aumentando la concentración de manera gradual cada 30 minutos de la siguiente forma: TBA al 25% mezclado con 75% de etanol; TBA al 50% con 50% de etanol; TBA al 75% con 25% de etanol y finalmente, 30 minutos en TBA al 100%.

Una vez deshidratadas las muestras se procedió a la infiltración con parafina, la cual consiste en colocar las muestras en un horno de parafina a 55°C, sustituyendo cada 30 minutos $\frac{1}{4}$ del contenido del frasco tapado por parafina nueva, repitiendo este cambio 12 veces. Finalmente, se removió el tapón de

corcho del frasco de infiltración y se realizaron 3 cambios en donde se sustituyó completamente la parafina por nueva.

La incrustación de las muestras en bloques de parafina sólida se realizó en bandejas de papel aluminio hechas a mano, orientando las muestras de forma tal que se facilitara la obtención de cortes transversales y longitudinales. Las bandejas fueron sumergidas en agua con hielo una vez las muestras estuvieron parcialmente endurecidas y se dejaron a 14°C durante 16 horas. Las muestras incrustadas en parafina fueron recortadas hasta formar bloques pequeños los cuales fueron montados sobre bases de madera que encajaron en el brazo del micrótopo. Los cortes efectuados con este instrumento, el montaje de las secciones (cintas) de parafina en laminillas y la descercación de las mismas se realizaron siguiendo las recomendaciones dadas en el Manual de microtécnica para tejidos vegetales (Muñoz y Jordán, 1997). Para incrementar la visibilidad y contraste de las células y tejidos se utilizó la técnica de tinción descrita por Johansen, (1940) con ciertas modificaciones. Se comenzó con la remoción de parafina empleando una solución de xileno por cinco minutos y luego una solución de xileno-etanol (1:1) por cinco minutos. Luego, los cortes fueron transferidos a una secuencia de alcoholes cada cinco minutos con el fin de hidratar las muestras, siendo la primera solución alcohol al 100%, continuando con alcohol al 95%, alcohol al 75% y finalmente alcohol al 55%. Las muestras hidratadas fueron teñidas con safranina durante 72 horas, lavadas con agua

destilada por 10 segundos y sometidas a una secuencia de alcoholes para sacar el exceso de tinte de la siguiente manera: iniciando con alcohol al 75% por 10 segundos, alcohol al 95% por 30 segundos y por último en alcohol al 100% por cinco minutos. Se continuó la tinción con “fast green” por dos minutos, seguido de una solución de aceite de clavos, xileno y alcohol (2:1:1) por 3 minutos. El proceso de tinción finalizó con tres lavados en xileno de 15 minutos; se observaron en el microscopio y se grabaron las imágenes para ser analizadas en más detalle. La realización de este trabajo y la estandarización de estas técnicas son importantes porque permiten conocer los diversos mecanismos ya sea de tipo fisiológicos, bioquímicos o celulares que pueden estar involucrados en el desarrollo de una enfermedad cuando un patógeno entra a su hospedero.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Muestreo, caracterización bioquímica y morfológica de colonias bacterianas y determinación *in vitro* de su potencial patogénico

Todos los aislamientos realizados a los tejidos de las tres localidades dieron colonias bacterianas y en ninguno se observó la presencia de hongos, debido al tratamiento preventivo con ciclohexamida en los diferentes medios de cultivo. El total de bacterias encontradas fue de 167 (Apéndice 1), de las cuales 90 fueron de la localidad de Santa Isabel, 38 de Corozal y 39 de Gurabo. 131 (78.4%) de las bacterias fueron Gram negativas y 36 (21.6%) Gram positivas. La diferencia marcada entre Gram negativas y positivas sugiere que podría encontrarse un número significativo de bacterias parasíticas ya que según Hayward (1983a) el mayor número de bacterias patogénicas a plantas son Gram negativas. En la prueba de oxidasa, 108 (64.7%) bacterias respondieron de manera negativa y 59 (35.3%) fueron positivas. En la prueba de catalasa, 158 (94.6%) fueron positivas y 9 (5.4%) fueron negativas (Tabla 2). El total de bacterias fueron agrupadas de acuerdo a la localidad y a la respuesta bioquímica; al agrupar las bacterias según su configuración morfológica, se obtuvieron muchas combinaciones que no facilitaron el análisis de las mismas. La combinación bioquímica más frecuentemente encontrada fue Gram negativa, oxidasa negativa y catalasa positiva en las muestras de Corozal y Gurabo, mientras que en las muestras de

Santa Isabel se presentaron más Gram negativas, oxidasa positiva y catalasa positiva. La combinación menos frecuente en las localidades de Corozal y Santa Isabel fue Gram negativa, oxidasa positiva y catalasa negativa; esta combinación no se presentó en las muestras de Gurabo (Figura 7). En el grupo de las bacterias Gram positivas, en todas las localidades predominó la combinación Gram positiva, oxidasa negativa y catalasa positiva. La combinación menos frecuente o que no se presentó para las tres localidades fue la Gram positiva, oxidasa negativa y catalasa positiva; de igual manera no se observó la combinación Gram positiva, oxidasa y catalasa positivas para la localidad de Santa Isabel (Figura 8).

Tabla 2. Número total de bacterias por localidad y respuestas bioquímicas

Localidad	Nº Bacterias	Gram -	Gram +	Oxidasa -	Oxidasa +	Catalasa -	Catalasa +
Corozal	38	27	11	27	11	4	34
Gurabo	39	29	10	32	7	1	38
Sta. Isabel	90	75	15	49	41	4	86
Total	167	131 (78.4%)	36 (21.6%)	108 (64.7%)	59 (35.3%)	9 (5.4%)	158 (94.6%)

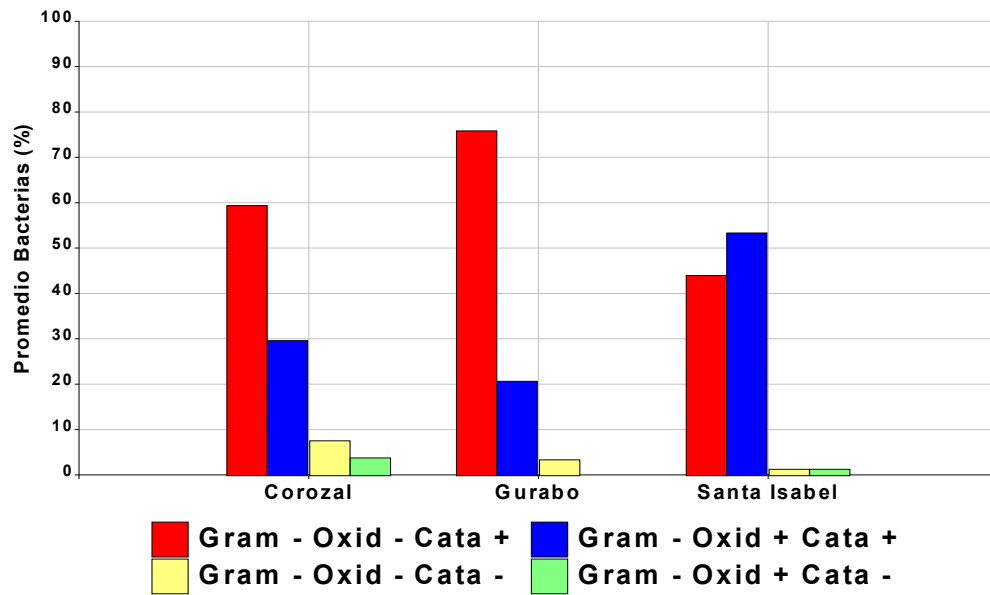


Figura 7. Bacterias Gram negativas agrupadas por pruebas bioquímicas aisladas de tres localidades de Puerto Rico.

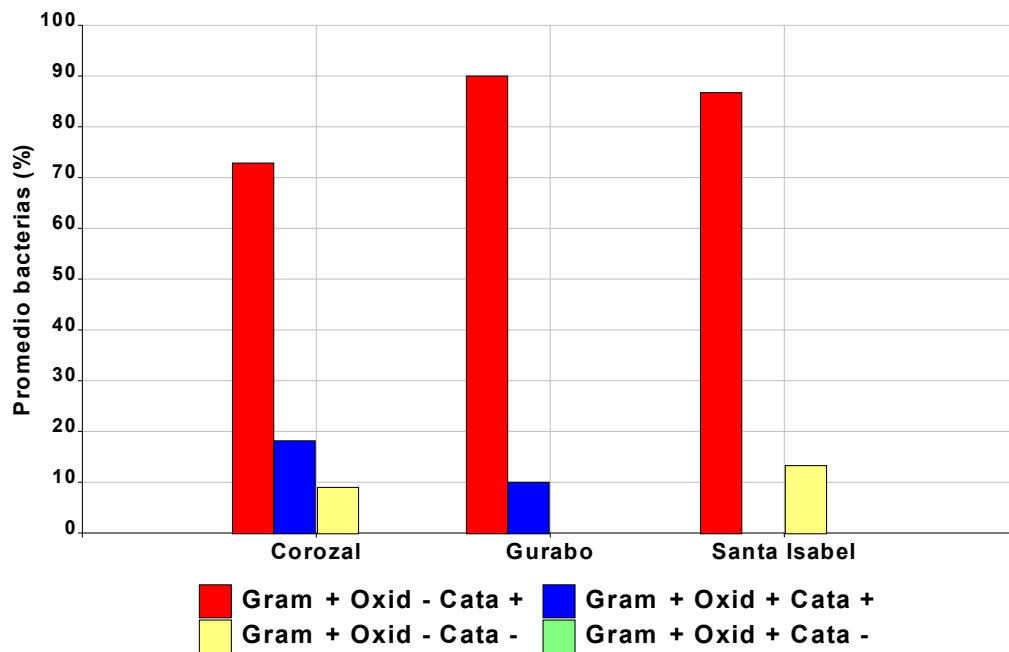


Figura 8. Bacterias Gram positivas agrupadas por pruebas bioquímicas aisladas de tres localidades en Puerto Rico.

Estos resultados sugieren la posible presencia de *Erwinia* en los tejidos muestreados en Corozal y Gurabo ya que el perfil Gram negativa, oxidasa negativa y catalasa positiva encontrado con más frecuencia en dichos municipios coincide con el reportado para el género *Erwinia*, por Lelittott (1974) en el Manual de Bergey's. Por otro lado, para Santa Isabel se podrían encontrar bacterias del género *Pseudomonas*, reportadas como Gram negativas, oxidasa positiva y catalasa positiva; reportadas por Doudoroff y Palleroni, (1974). También sugieren que distintas condiciones climáticas favorecen el desarrollo de distintos tipos de bacterias; por ejemplo, para las bacterias de la familia Pseudomonadaceae se reportan temperaturas óptimas de crecimiento entre los 4°C y los 43°C (Doudoroff y Palleroni, 1974). Este tipo de temperaturas altas puede registrarse en la zona de Santa Isabel, por lo cual se esperaría un mayor número de este grupo de bacterias para dicha localidad. Por el contrario, el grupo de *Erwinias* presenta un rango de temperatura para crecimiento óptimo de 27 a 30°C y por ende, se encuentran más fácilmente en zonas de temperatura media como lo son Corozal y Gurabo.

Dentro del grupo de bacterias Gram positivas formadoras de esporas, aeróbicas y patógenas de plantas, se puede sugerir la presencia de bacterias del género *Bacillus* ya que dentro de las 31 bacterias Gram positivas en forma de bacilo obtenidas en este estudio, se tienen 11 con presencia de esporas

(Tabla 3), característica importante para la clasificación de bacterias Gram positivas (Schaad *et al.*, 2001).

Tabla 3. Bacterias Gram positivas con presencia y ausencia de esporas

Localidad	Total Cocos	Total Bacilos	Bacilos	
			Sin esporas	Con esporas
Corozal	1	10	8	2
Gurabo	2	8	5	3
Santa Isabel	2	13	7	6
Total	5	31	20	11

En general, la morfología y el color de las colonias aisladas de tejidos sanos y enfermos que más predominó en las tres localidades (62 en total) fue la forma redondeada, bordes lisos, elevación convexa y color crema claro brillante; siendo la gran mayoría bacterias Gram negativas (Tabla 4 y 5). En los medios semi-selectivos para aislamientos de *Pseudomonas* (PIA) y *Erwinia* (MS) se encontró crecimiento bacterial en ambos medios. En estos medios de cultivo se detectó un menor número y tipos de colonias. Esto se explica ya que los medios de tipo selectivo contienen sustancias que inhiben el desarrollo de unos microorganismos permitiendo el crecimiento específico de otros (Schaad *et al.*, 2001). Asimismo en los diferentes medios se observaron bacterias que producían un color tornasol o pigmento fluorescente. Hay que destacar que este tipo de bacteria solo fue observado en la localidad de Santa Isabel; posiblemente debido a sus condiciones climáticas particulares. En Corozal y

Gurabo se presentaron bacterias de color crema, rosadas y amarillas solamente (Figura 9).

Tabla 4. Bacterias aisladas de tejido sano en tres localidades de Puerto Rico

Color, Configuración Margen y Elevación	Gram negativas			Gram Positivas		
	Corozal	Gurabo	Santa Isabel	Corozal	Gurabo	Santa Isabel
¹ CCB – RLC	3	4	4	1	0	5
² ACB – RLC	1	2	1	2	1	0
³ CTB – ROP	0	0	7	0	0	0
⁴ CCB – ROP	0	1	0	0	0	0
⁵ RsCB – RLC	0	0	0	0	0	0
⁶ RCB – RLC	0	0	1	0	0	0
⁷ BCB – RLP	0	0	0	0	1	0
⁸ CCO – ROP	0	0	0	1	0	0

¹CCB – RLC: Crema Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ²ACB – RLC: Amarillo Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ³CTB – ROP: Crema Tornasol Brillante – Redonda Ondulada Plana; ⁴CCB – ROP: Crema Claro Brillante – Redonda Ondulada Plana; ⁵RsCB – RLC: Rosada Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ⁶RCB – RLC: Rojo Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ⁷BCB – RLP: Blanco Claro Brillante – Redonda Lisa Plana y ⁸CCO – ROP: Crema Claro Opaca – Redonda Ondulada Plana

Tabla 5. Bacterias aisladas de tejido enfermo en tres localidades de Puerto Rico.

Color, Configuración Margen y Elevación	Gram negativas			Gram Positivas		
	Corozal	Gurabo	Santa Isabel	Corozal	Gurabo	Santa Isabel
¹ CCB – RLC	12	16	25	2	0	4
² ACB – RLC	4	4	3	1	0	0
³ CTB – ROP	0	0	19	0	0	0
⁴ CCB – ROP	4	1	0	0	0	0
⁵ CCB – RLP	0	0	0	1	4	2
⁶ RsCB – RLC	3	0	0	0	0	0
⁷ RCB – RLC	0	1	12	0	0	0
⁸ COB – RLC	0	0	3	0	0	0
⁹ BCB – RLC	0	0	0	1	1	1
¹⁰ CCO – ROP	0	0	0	3	3	2

¹CCB – RLC: Crema Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ²ACB – RLC: Amarillo Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ³CTB – ROP: Crema Tornasol Brillante – Redonda Ondulada Plana; ⁴CCB – ROP: Crema Claro Brillante – Redonda Ondulada Plana; ⁵CCB – RLP: Crema Claro Brillante – Redonda Lisa Plana; ⁶RsCB – RLC: Rosada Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ⁷RCB – RLC: Rojo Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa; ⁸COB – RLC: Crema-Oscuro-Brillante - Redonda-Lisa-Convexa; ⁹BCB – RLC: Blanco Claro Brillante – Redonda Lisa Convexa y ¹⁰CCO – ROP: Crema Claro Opaca – Redonda Ondulada Plana.

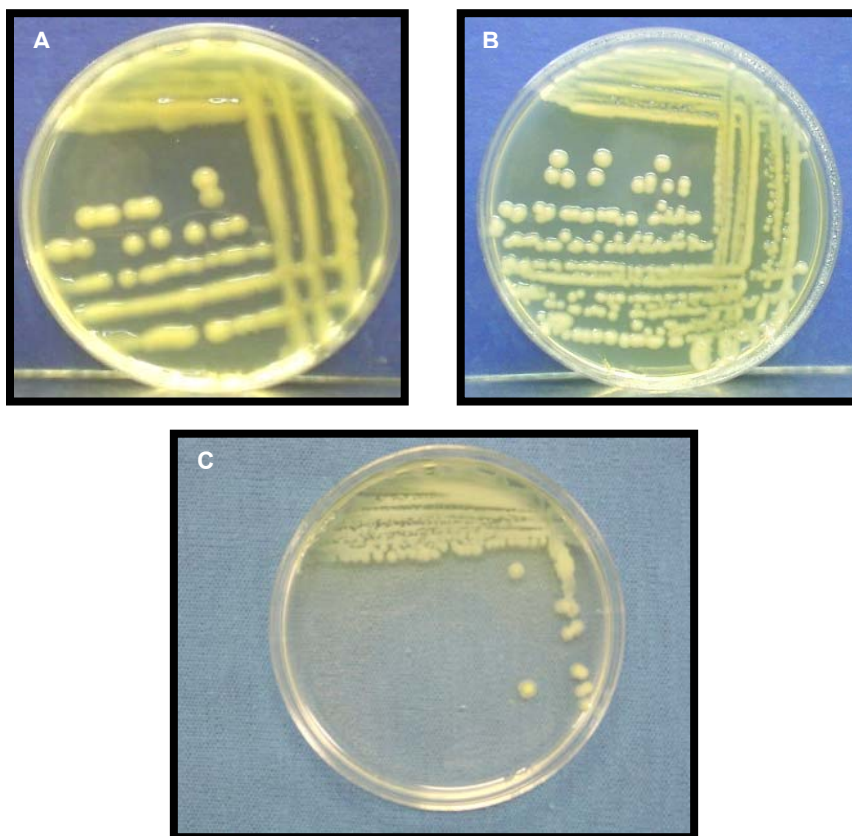


Figura 9. Forma y color de colonias predominantes en las tres localidades en medio NA: A): Color crema, redonda, borde liso y elevación convexa; B): Color crema, redonda, borde liso y elevación plana y C): Color crema tornasol, borde corrugado y elevación plana.

El número de bacterias obtenidas de tejidos sanos para las tres localidades fue de 35 colonias mientras que en tejido enfermo fueron 132. Estas bacterias fueron comparadas utilizando las diferentes características bioquímicas, morfológicas y de color, encontrándose que 14 bacterias de tejido sano y 45 bacterias de tejido enfermo presentaron características en común; estas bacterias conformaron 3 grandes grupos (Apéndice 2). Estos resultados

sugirieren que existen bacterias pobladoras naturales en este cultivo para las tres localidades.

La prueba de patogenicidad permitió discriminar el grado de virulencia entre las 167 bacterias obtenidas en las tres localidades. En esta prueba se encontraron 24 tipos de bacterias con potencial patogénico, entre las cuales se hallaron cuatro patógenas a plátano, 15 patógenas a papa y cinco patógenas a ambos cultivos. Los síntomas que se observaron en los discos de plátano y de papa, después de ocho días de inoculados fueron: manchas necróticas y pudrición en el área donde se depositó el inóculo; siendo más evidente en el tejido de papa. Los análisis estadísticos para los datos de plátano y papa presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las medias de las áreas necróticas de las diferentes bacterias evaluadas (Tabla 6). En las tablas 7 y 8 se resumen los resultados de la prueba de DMS, donde se destaca que las bacterias que más afectaron el tejido de plátano fueron las 2399, 2407 y 2408; éstas mostraron la mayor área necrótica en los discos (Figura 10), mientras que las bacterias 2072 y 2415 mostraron un daño intermedio.

Las bacterias 2162, 2399, 2407, 2408 y 2415 fueron las que mostraron el mayor daño en el tejido de papa. Hay que resaltar que las bacterias, 2399, 2407, 2408 y 2415 dieron resultados similares en ambos tejidos, siendo aisladas de tejidos enfermos de plátano de Gurabo (2399) y de Corozal (2407, 2408 y 2415). Estas bacterias causaron necrosis y pudrición en el tejido de plátano, mientras

que en papa se observaron estos mismos síntomas junto con la presencia de líquido y mal olor. Por otro lado, se encontraron seis bacterias aisladas de tejidos sanos (cinco en papa y una en ambos tejidos) que presentaron poco daño, por lo que no mostró diferencias significativas con respecto al control en ambos tejidos; estas bacterias fueron aisladas de la localidad de Santa Isabel y cinco de estas presentaron color tornasol.

Tabla 6. Análisis de varianza para el área necrótica en el tejido de plátano y papa

Variables	Prueba F	Valor P
Plátano	79.57	<0.0001
Papa	8.72	<0.0001

$P < \alpha = 0.05$

Tabla 7. Comparación de medias de lesiones en plátano inoculadas con bacterias bajo condiciones *in vitro*

Número Bacteria	Localidad	Tejido Aislado	Color Colonia ¹	Medias	DMS ²
2407	Corozal	Enfermo	CCB	16.00	A
2408	Corozal	Enfermo	CCB	16.00	A
2399	Gurabo	Enfermo	ACB	14.75	A
2415	Corozal	Enfermo	CCB	9.00	B
2072	Santa Isabel	Enfermo	CCB	7.47	B
2404	Gurabo	Enfermo	ACB	2.17	C
2056	Santa Isabel	Sano	CT	1.47	C
2390	Gurabo	Enfermo	CCB	1.00	C
2067	Santa Isabel	Enfermo	CT	0.58	C
Control				0.00	C

¹ CCB: Crema-Clara-Brillante; ACB: Amarillo-Claro-Brillante; CT: Crema tornasol

² DMS (Diferencia Mínima Significativa): Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) Alfa: =0.05 DMS: =2.22198 Error: 1.7020 gl: 20

Tabla 8. Comparación de medias de lesiones en papa inoculadas con bacterias bajo condiciones *in vitro*

Número Bacteria	Localidad	Tejido Aislado	Color Colonia ¹	Medias	DMS ²						
2408	Corozal	Enfermo	CCB	12.33	A						
2162	Santa Isabel	Enfermo	CT	10.67	A	B					
2415	Corozal	Enfermo	CCB	10.00	A	B					
2399	Gurabo	Enfermo	ACB	9.33	A	B	C				
2407	Corozal	Enfermo	CCB	8.50		B	C	D			
2056	Santa Isabel	Sano	CT	8.00		B	C	D	E		
2055	Santa Isabel	Sano	CCB	8.00		B	C	D	E		
2410	Corozal	Enfermo	CCB	8.00		B	C	D	E		
2416	Corozal	Enfermo	CCB	7.75		B	C	D	E		
2051	Santa Isabel	Enfermo	CCB	6.33			C	D	E	F	
2494	Santa Isabel	Enfermo	CT	6.33			C	D	E	F	
2487	Santa Isabel	Sano	CT	6.30			C	D	E	F	
2497	Santa Isabel	Enfermo	CT	5.37				D	E	F	
2086	Santa Isabel	Sano	CT	4.67					E	F	
2151	Santa Isabel	Sano	CT	3.00						F	G
2483	Santa Isabel	Sano	CT	3.00						F	G
2153	Santa Isabel	Enfermo	CT	0.85							G
2420	Corozal	Enfermo	CCB	0.58							G
2144	Santa Isabel	Enfermo	CT	0.49							G
2405	Gurabo	Enfermo	RB	0.31							G
Control				0.00							G

¹ CCB: Crema-Clara-Brillante; ACB: Amarillo-Claro-Brillante; CT: Crema tornasol; RB: Rojo-Brillante

² DMS (Diferencia Mínima Significativa): Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)
Alfa: =0.05 DMS: =3.63841 Error: 4.8757 gl: 42

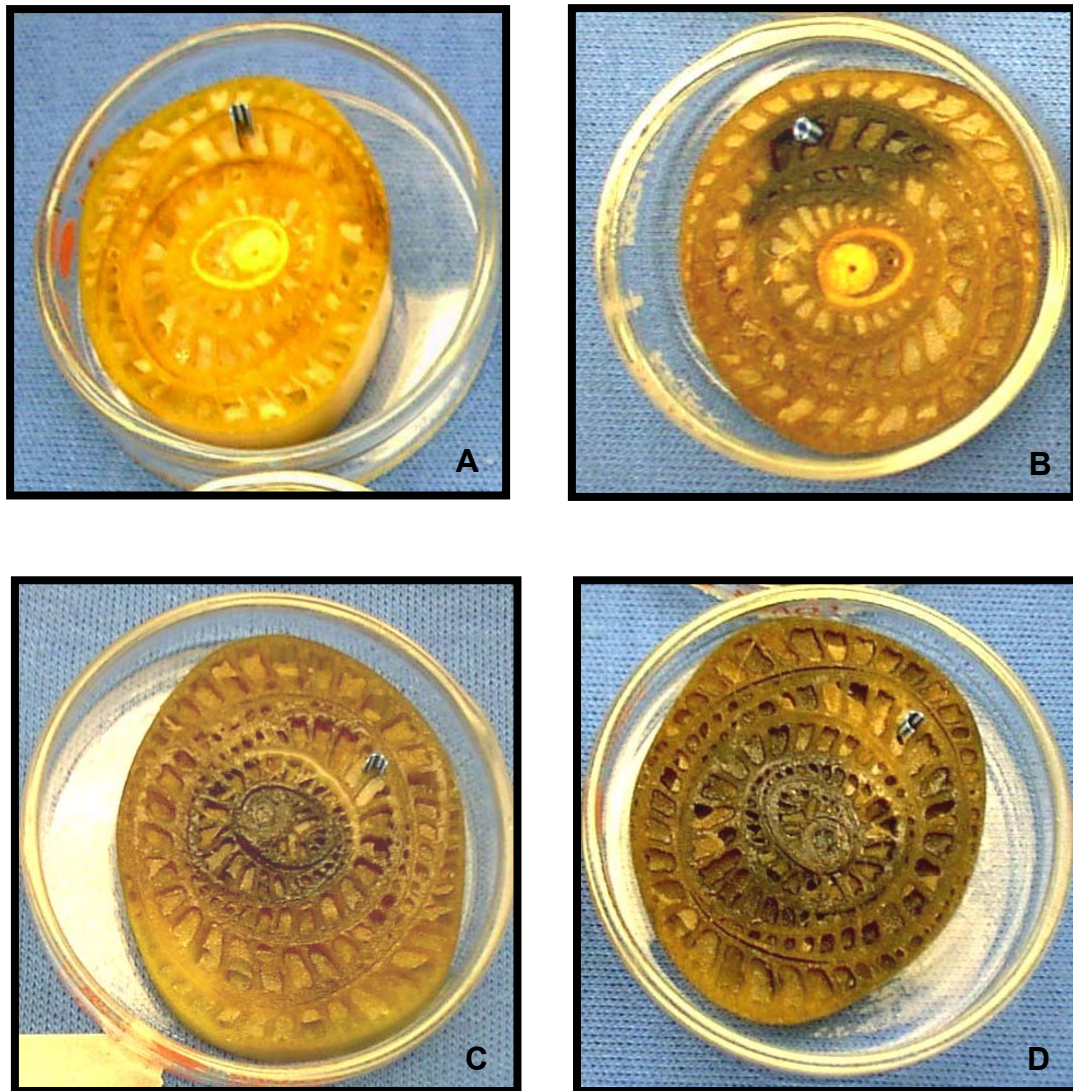


Figura 10. Daño causado por diferentes bacterias en los discos de plátano: A) Control; B) Bacteria 2072, necrosis localizada en la zona de inoculación; C) Bacteria 2399, necrosis en casi el 90% del disco; D) Bacteria 2408, necrosis y pudrición en el 100% del disco.

La identificación mediante el sistema BIOLOG[®] para las bacterias con potencial patógeno permitió ubicar algunas de ellas dentro de los grupos *Pseudomonas* y *Erwinias*. Las bacterias que mostraron el mayor daño para ambos tejidos fueron identificadas como *E. chrysanthemi* (2407, 2408 y 2415). Las demás bacterias fueron identificadas como *Burkolderia gladioli* (2072), *P. aeruginosa* (2056, 2086 y 2162) y *Serratia marcescens* (2051 y 2055). El resto de bacterias no se alcanzaron a identificar mediante esta técnica, pero se espera sean del grupo de las *Pseudomonas*, ya que todas fueron aisladas del medio semi-selectivo PIA (Tabla 9).

Dye (1969) describe a *E. chrysanthemi* como miembro del grupo “carotovora” donde se encuentran las especies que causan pudrición blanda. Los resultados de esta investigación sugieren que esta bacteria puede estar involucrada en la pudrición que fue observada en los tejidos de las tres localidades. Sin embargo, este patógeno solo fue aislado de tejido enfermo de Corozal a pesar de haber observado los mismos síntomas en las tres localidades. También, el número de aislamientos obtenidos de este patógeno fue bajo, sólo se encontraron tres colonias. La no detección de este patógeno en las localidades de Gurabo y Santa Isabel se debe posiblemente a condiciones de temperatura y humedad, las cuales podrían favorecer o limitar el crecimiento de unos microorganismos más que de otros.

Tabla 9. Identificación de las bacterias patogénicas mediante el sistema de BIOLOG® y otras características

Nº Bacteria	Localidad ¹	Tejido Afectado ²	Identificación ³	Probabilidad (%) ⁴
2051	S.I.	Papa	<i>Serratia marcescens</i>	100
2055	S.I.	Papa	<i>Serratia marcescens</i>	100
2056	S.I.	Plátano-Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
2067	S.I.	Plátano	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
2072	S.I.	Plátano	<i>Burkholderia gladioli</i>	95
2086	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
2144	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	95
2151	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
2153	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	-
2162	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
2390	G	Plátano	<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	100
2399	G	Plátano-Papa	<i>Pseudomonas spinosa</i>	74
2404	G	Plátano	<i>Pseudomonas pyrrocinia</i>	95
2405	G	Papa	<i>Serratia marcescens</i>	100
2407	C	Plátano-Papa	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	100
2408	C	Plátano-Papa	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	100
2410	C	Papa	<i>Pseudomonas</i> *	-
2415	C	Plátano-Papa	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	99
2416	C	Papa	<i>Serratia marcescens</i> *	-
2420	C	Papa	<i>Serratia marcescens</i>	100
2483	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	-
2487	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	-
2494	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	-
2497	S.I.	Papa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	-

¹ S.I.= Santa Isabel, G = Gurabo, C = Corozal.

² Prueba de patogenicidad a nivel de laboratorio.

³ Identificación mediante el sistema BIOLOG®.

⁴ Probabilidad dada por el sistema BIOLOG®.

* Identificación basada en características de la colonia y pruebas bioquímicas.

Otra posible causa para la ausencia de este patógeno fue la falta de un medio completamente selectivo para bacterias del grupo “carotovora”. El medio

que se empleó para este estudio favorece en mayor proporción el crecimiento de bacterias del grupo “amylovora” que no producen maceración del tejido y ninguna es patógena en plátanos y guineos (Dye, 1983; Jones y Geider, 2001). Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que *Erwinias* pertenecientes a otros grupos puedan ser aisladas, aunque en baja proporción, tal como se observó en este estudio. Un medio ideal para seleccionar y diferenciar bacterias del grupo “carotovora” versus las *Pseudomonas* es el reportado por De Boer y Kelman (2001), como medio CVP (Cristal Violeta Pectato), que permite diferenciar por morfología y color entre bacterias del grupo *Erwinia* con capacidad pectolítica. A pesar del poco número de bacterias de *E. chrysanthemi* y a la no detección en las otras dos localidades, estos resultados indican la presencia de *E. chrysanthemi* en el clon “Hua Moa” en Puerto Rico. Es posible que esta bacteria se pueda encontrar en otros clones de plátano o guineo, ya que este patógeno ha sido reportado por Dickey (1979) en numerosos cultivares de importancia agrícola como maíz, pepino, lechuga, zanahoria, papa y de plantas enfermas de guineo (*Musa AAA*) en Jamaica, Honduras y Panamá. Resultados similares son descritos por Stover y Simmonds (1987), al aislar *E. chrysanthemi* del rizoma de plátano de tipo “cuerno” afectado en Sur América y República Dominicana.

Stover (1972) sugirió que *E. chrysanthemi* penetra a la planta por heridas en las vainas foliares como consecuencia de la labor de deshoja. Sin embargo,

Guzmán y Sandoval (1996) reportan que es posible la entrada de este patógeno a través de heridas causadas por el viento y las altas precipitaciones en la hoja bandera. Estas condiciones climáticas proporcionan un microclima favorable para el desarrollo y diseminación de esta bacteria. Esto coincide con lo observado, puesto que en las plantas que presentaron aborto severo del racimo en las tres localidades, algunas mostraron clorosis en la hoja bandera, descomposición del tejido, líquido y mal olor en la zona donde era retenido el racimo. Estos síntomas siempre se observaron en la parte alta de la planta y en algunos casos se llegó a observar que el daño alcanzaba la parte media sin llegar nunca a la parte baja de la planta.

Stover (1972), encontró que los representantes del subgrupo Cavendish (AAA) son susceptibles a *Erwinia*, pero que los genotipos AAB y ABB son más tolerantes. Sin embargo, resultados obtenidos por Cedeño y colaboradores (1990) reportan a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* como la causante de la pudrición blanda del pseudotallo en clones de plátano "Harton" (Musa AAB) en Venezuela.

La presencia de *P. aeruginosa* en plátano no se esperaba ya que esta bacteria ha sido considerada como patógena más en humanos que en plantas (Van Delden y Iglewski, 1998). Cortés (1993) reportó la presencia de *P. aeruginosa* en Puerto Rico como el causante de manchas foliares en lechuga, calabaza, pimiento, papa, caña de azúcar y tabaco. Estando esta bacteria

reportada en otros cultivos, no se descarta la posibilidad de que infecte plátano. Sin embargo, no se puede concluir que es un organismo común en el plátano “Hua Moa”; ya que solo fue detectado en los tejidos procedentes de la localidad de Santa Isabel. Montesinos (2000) refiere a *P. aeruginosa* y a *Burkholderia cepacia* como organismos, generalmente patógenos en animales, que pueden causar enfermedades en plantas que crecen bajo condiciones adversas (altas temperaturas, baja fertilidad, baja humedad, etc.). *P. aeruginosa* tolera una amplia variedad de condiciones físicas, incluyendo temperatura, ya que puede crecer a 42°C y en bajos requerimientos alimenticios (Todar, 2002). Esto nos puede ayudar a explicar por que *P. aeruginosa* solo se encontró en Santa Isabel. Las plantas de “Hua Moa” en esta zona no tenían manejo agronómico (riego, fertilización, etc.); mientras que en las localidades de Corozal y Gurabo, las plantas estaban sembradas en un ensayo de campo donde se le aplicaron todas las prácticas culturales y agronómicas necesarias. Además, en estas localidades las temperaturas son más frescas lo cual puede ayudar a que el desarrollo de bacterias sea menor.

Hay que destacar que *S. marcescens* estuvo presente en las tres localidades y fue aislada de tejido sano y enfermo. En las pruebas de patogenicidad *in vitro* no produjo daño en el tejido del plátano pero si en papa. Este resultado hace que se considere como pobladora natural en el cultivo de plátano “Hua Moa”. Finalmente, el mayor número de bacterias patógenas aisladas del clon

“Hua Moa” procedían de la localidad de Santa Isabel, esto es debido al número de plantas que fueron muestreadas en dicha área (17 plantas) comparada con las otras dos localidades (siete en Corozal y cinco en Gurabo).

5.2 Relación de las bacterias patógenas con el aborto del racimo

Para la evaluación de este ensayo se registró el peso del racimo, peso de una de las manos con características comerciales y el aborto del racimo de acuerdo a la escala ya establecida en la sección 4.5. Los resultados obtenidos en el análisis de varianza para estas tres características no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ni entre bloques (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de varianza de las características empleadas en la búsqueda de la relación de las bacterias con el aborto del racimo

Variabes	Prueba F Tratamiento	Valor P Tratamiento
Peso del racimo	1.28	0.3040
Peso de Mano	2.24	0.1099
Escala Aborto	1.90	0.1565

$P < \alpha = 0.05$

El plátano es un cultivo que presenta un ciclo largo de desarrollo. Se estima que el plátano “Hua Moa” completa su ciclo de siembra hasta la inducción del racimo en 242 días y que requiere de 63 días para el llenado de la fruta; terminando su ciclo en un total de 10 meses (Irizarry y Goenaga, 2001). Por el tiempo que toma este cultivo en completar su ciclo y por que al momento de realizar este ensayo sólo se contaba con las pruebas de patogenicidad para las

bacterias procedentes de Santa Isabel, se seleccionaron las bacterias 2086 y 2162, las cuales indujeron el mayor daño expresado en coloración oscura en los tejidos inoculados a nivel de laboratorio. Estas bacterias posteriormente fueron identificadas como *P. aeruginosa*.

Los resultados del análisis de las variables evaluadas, sugieren que la bacteria *P. aeruginosa* no tuvo efecto en el aborto del racimo. Además, la ausencia de ésta en el tejido de plantas control que presentaron aborto del racimo, sostiene que *P. aeruginosa* no se relaciona con este fenómeno. Al repetir las pruebas de patogenicidad *in vitro* en el laboratorio, estas bacterias mostraron pérdida de virulencia ya que los síntomas no fueron reproducibles. Esto coincide con lo reportado por Coyne y Schuster (1983), los cuales describen que la pérdida de virulencia en poblaciones bacterianas puede ser ocasionada por mutaciones durante el proceso de transferencia de las bacterias a diferentes hospederos o por el manejo de la misma en el laboratorio. No hay que descartar que *E. chrysanthemi*, causante de maceración y necrosis en las pruebas *in vitro* con papa y plátano, respectivamente, podría estar más relacionada con la sintomatología observada. Además, se observaron dos plantas control con aborto de racimo en el ensayo de campo en la finca Alzamora (Figura 11), así como también plantas con aborto del racimo, pero sin síntomas de pudrición en los muestreos en las tres localidades (especialmente en Santa Isabel); esto puede indicar que los organismos causantes de estas

podriciones son de tipo secundario, infectando la planta después que se han abierto heridas en el tejido causadas por el fenómeno mismo del aborto.

En la literatura se ha sugerido que el aborto podría ser ocasionado por problemas de tipo ambiental (temperaturas bajas y estrés de sequía) así como por nemátodos los cuales afectan la nutrición y la toma de agua por parte de la planta (Stover y Simmonds, 1987; Robinson, 1998 y Crane y Balerdi, 1998). Sin embargo, no se han realizado investigaciones que confirmen esta hipótesis. También es importante tener en cuenta que este clon ha sido reportado por Crane y Balerdi (1998) como muy poco tolerante al frío y a la sequía. Cabe destacar que dentro de estos reportes no se mencionan investigaciones o ensayos de campo realizados, donde se compruebe que los cambios en temperatura o las sequías son las que ocasionan este fenómeno.



Figura 11. Síntoma del aborto del racimo en plantas control.

Con el propósito de detectar si los factores ambientales como temperatura y estrés de sequía pueden estar relacionados con el aborto, se analizaron los datos de temperatura y precipitación durante el año 2002 para las localidades de Mayagüez, Corozal y Gurabo (ATMOS CARIB, 2003). Para los meses de junio y julio se registraron las temperaturas más altas con las precipitaciones más bajas (Figura 12 y 13), lo cual representa la posibilidad de sequía (poca humedad en el suelo en combinación con temperaturas altas). El inicio de la fase de inducción floral ocurre aproximadamente a los cuatro meses después de sembrado (Díaz, Com. Per.). Las condiciones climáticas de temperaturas altas y precipitación baja, coinciden con la época en que se dio la inducción floral en las tres localidades (junio y julio), puesto que las siembras se hicieron en los meses de febrero y marzo del 2002; esto pudo afectar la formación y salida del racimo dentro de la planta en las tres localidades. Los datos sugieren que puede haber un efecto de la temperatura en el desarrollo del racimo; sin embargo, estudios más detallados serían necesarios para confirmar esta correlación.

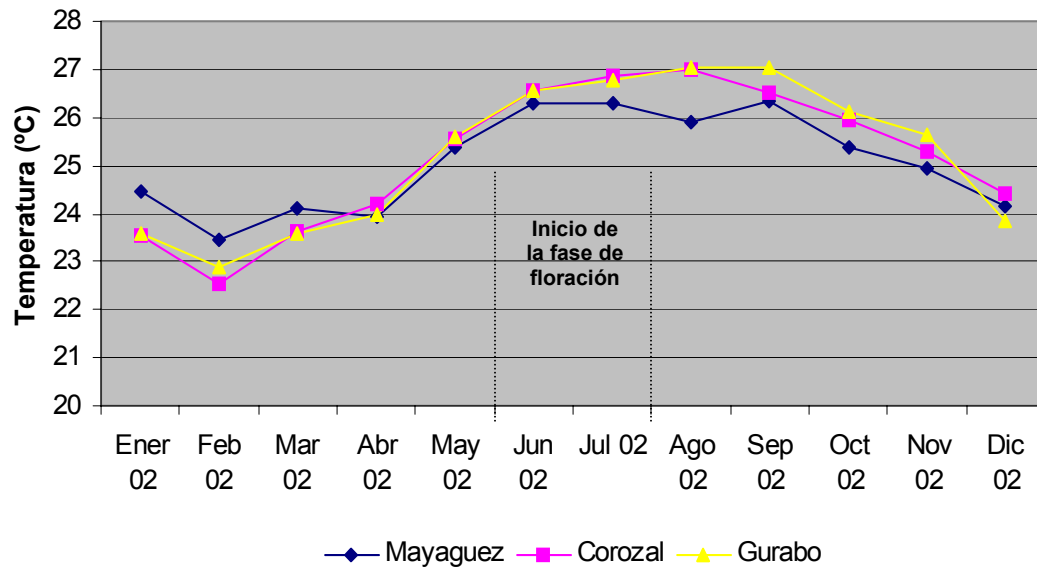


Figura 12. Distribución de temperatura durante el año 2002 para las localidades de Mayagüez, Corozal y Gurabo (ATMOS CARIB, 2003).

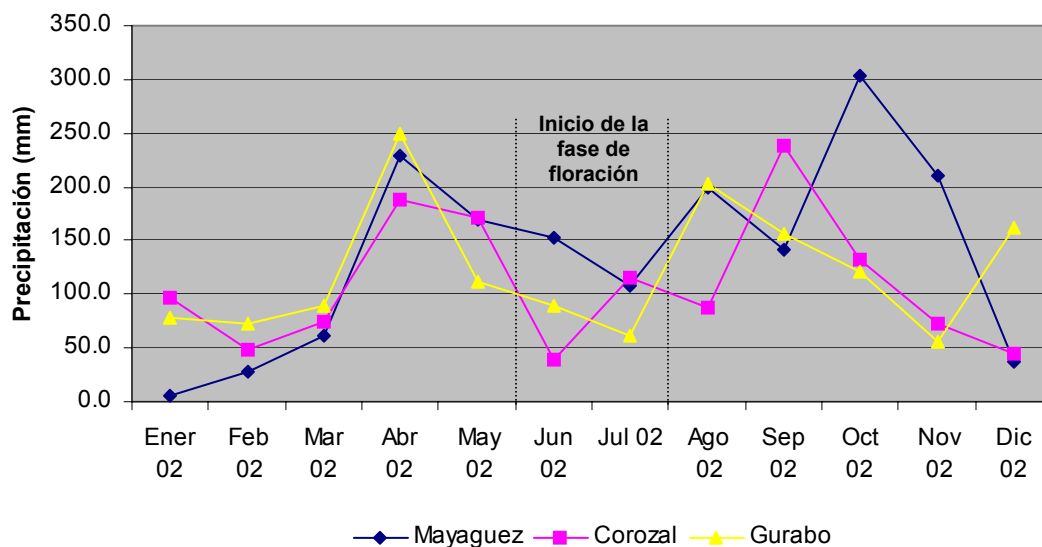


Figura 13. Distribución de precipitación durante el año 2002 para las localidades de Mayagüez, Corozal y Gurabo (ATMOS CARIB, 2003).

El número de plantas que mostraron aborto de racimo en las tres localidades se presentan en la tabla 11. En Mayagüez se presentó el mayor número de plantas afectadas por este fenómeno (10 plantas); debido posiblemente a que durante el establecimiento y desarrollo de este ensayo se presentaron múltiples problemas en cuanto a suministro de agua, contrario a las demás localidades, las cuales contaron con sistema de riego por goteo. Este problema junto con la poca precipitación durante el inicio de siembra (40 – 60 mm) y en el desarrollo de floración (100 – 150 mm) pudieron ocasionar un estrés en el desarrollo de la planta, que a su vez provocara una incidencia mayor de aborto en esta localidad.

Tabla 11. Porcentaje de plantas con aborto de racimo en tres localidades de Puerto Rico

Localidad	Nº de plantas	Plantas sanas	Plantas aborto
Corozal	32	26 (81%)	6 (19%)
Gurabo	26	23 (89%)	3 (11%)
Mayagüez	32	22 (69%)	10 (31%)

5.3 Determinación del grado de patogenicidad en otros clones

Los resultados de este ensayo mostraron que existe una relación entre el efecto de las diferentes bacterias sobre los clones evaluados. En todos los clones las variables daño general de la planta y pudrición de la planta fueron las que mostraron diferencias significativas con respecto a las bacterias inoculadas (Tabla 12 y 13). A diferencia de los demás clones, Maricongo y “Hua Moa” mostraron diferencias significativas en las variables altura de la planta y diámetro

del pseudotallo (Tabla 13). Las comparaciones entre las medias de las diferentes bacterias (Tabla 14) mostraron que la 2415, identificada como *E. chrysanthemi*, fue la que ocasionó el mayor daño general, observándose hojas superiores necróticas en todos los clones (Figura 14), al igual que la pudrición en todos los clones (Figura 15). Las variables altura y diámetro para los clones Maricongo y “Hua Moa” se vieron afectadas por la bacteria *E. chrysanthemi* y *B. gladioli*.

Tabla 12. Efecto de las distintas bacterias sobre las variables daño, altura (cm), diámetro (cm) y pudrición en los clones Grand nain, Enano y FHIA-01.

Variables	Prueba F¹	Valor P¹	Prueba F²	Valor P²	Prueba F³	Valor P³
Daño	4.79	<0.0204	22.90	<0.0001	8.90	<0.0025
Altura	1.42	0.2970	0.90	0.5016	0.91	0.4957
Diámetro	2.64	0.0973	1.17	0.3791	0.73	0.5905
Pudrición	8.31	<0.0032	8.15	<0.0034	12.21	<0.0011

$P < \alpha = 0.005$

¹ Prueba F y Valor de P para el clon Gran Nain

² Prueba F y Valor de P para el clon Enano

³ Prueba F y Valor de P para el clon FHIA-01

Tabla 13. Efecto de las distintas bacterias sobre las variables daño, altura (cm), diámetro (cm) y pudrición en los clones Maricongo y “Hua Moa”.

Variables	Prueba F¹	Valor P¹	Prueba F²	Valor P²
Daño	19.11	<0.0001	97.75	<0.0001
Altura	3.93	<0.0361	30.17	<0.0001
Diámetro	3.94	<0.0358	7.24	<0.0049
Pudrición	35.14	<0.0001	90.20	<0.0001

$P < \alpha = 0.005$

¹ Prueba F y Valor de P para el clon Maricongo

² Prueba F y Valor de P para el clon “Hua Moa”

Tabla 14 Comparación de medias de las diferentes bacterias evaluadas en invernadero, Mayagüez UPR - RUM

Variables					
Bacteria	Daño		Bacteria	Altura	
	Media	¹DMS		Media	²DMS
2415	8.33	A	Control	97.67	A
2072	3.00	B	Mezcla	93.67	A
2399	3.00	B	2399	88.00	A
Mezcla	1.67	B	2072	83.00	A B
Control	1.67	B	2415	62.33	B

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0.05$)

¹DMS: 1.99291

²DMS: 21.95216

Variables					
Bacteria	Diámetro		Bacteria	Pudrición	
	Media	³DMS		Media	⁴DMS
Control	18.33	A	2415	8.00	A
2072	18.33	A	Mezcla	2.00	B
Mezcla	18.00	A	2072	1.67	B
2399	16.00	A B	2399	1.33	B
2415	12.33	B	Control	1.00	B

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0.05$)

³DMS: 4.08820

⁴DMS: 1.55793



Maricongo
Musa AAB

Grand nain
Musa AAA

Enano
Musa AAB

FHIA-01
Musa AAAB



Hua Moa
Musa AAB

Figura 14. Daño externo (hojas superiores necróticas) producido por la bacteria *E. chrysanthemi* en los diferentes clones de plátano (Maricongo, Enano y “Hua Moa”) y de Guineo (Grand nain y FHIA- 01).

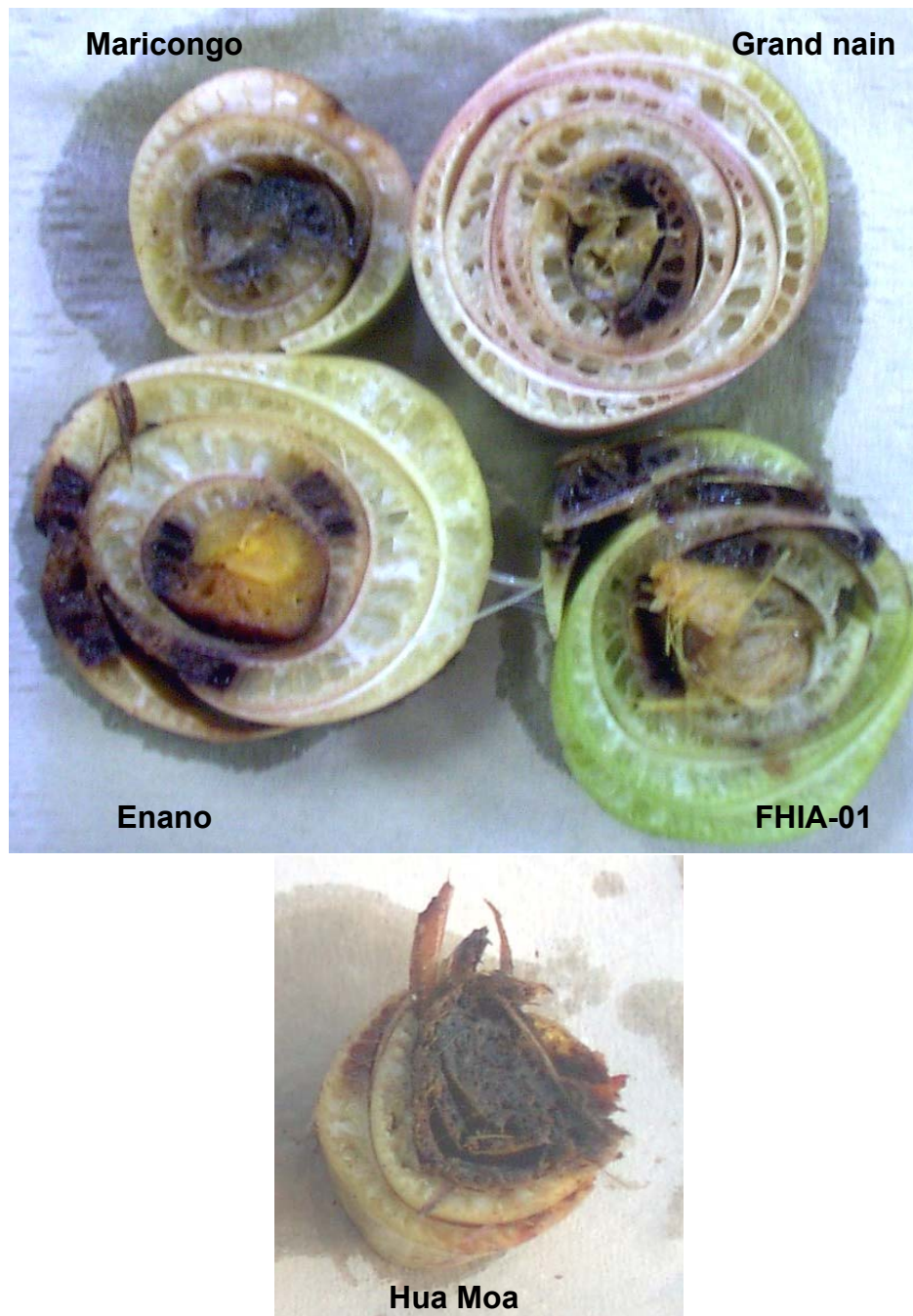


Figura 15. Pudrición interna producida por la bacteria *E. chrysanthemi* en los diferentes clones de plátano plátano (Maricongo, Enano y “Hua Moa”) y de Guineo (Grand nain y FHIA- 01).

El diseño experimental utilizado (DCA) no permitió realizar una comparación estadística entre clones. Sin embargo, el clon menos afectado por *E. chrysantemi* para la característica de daño general fue Grand nain, mostrando un nivel intermedio (valores de 6 en la escala), mientras que en los demás se observaron niveles altos en el daño general (valores de 9 en la escala). Los controles en todos los clones mostraron valores en la escala cercanos a dos. Este valor representa plantas sin daño externo o sanas; la diferencia es producto de la muerte natural de hojas en el desarrollo de las plantas bajo condiciones de invernadero, posiblemente debido al difícil desarrollo de las plantas en los tiestos. En cuanto al daño interno o pudrición, todos los clones se vieron afectados casi de la misma forma. Los controles, al igual que en el daño externo, mostraron valores en la escala de uno; este valor es considerado como sano o sin ninguna señal de necrosis o pudrición (Figura 16).

Otra bacteria que mostró daño en los diferentes clones comparado con el control fue *Burkholderia gladioli* (2072); el daño producido por esta bacteria fue intermedio (valores de 6 y 7 en la escala), observándose que los clones más afectados fueron “Hua Moa” y Grand nain y el menos afectado fue el clon Maricongo (Figura 17).

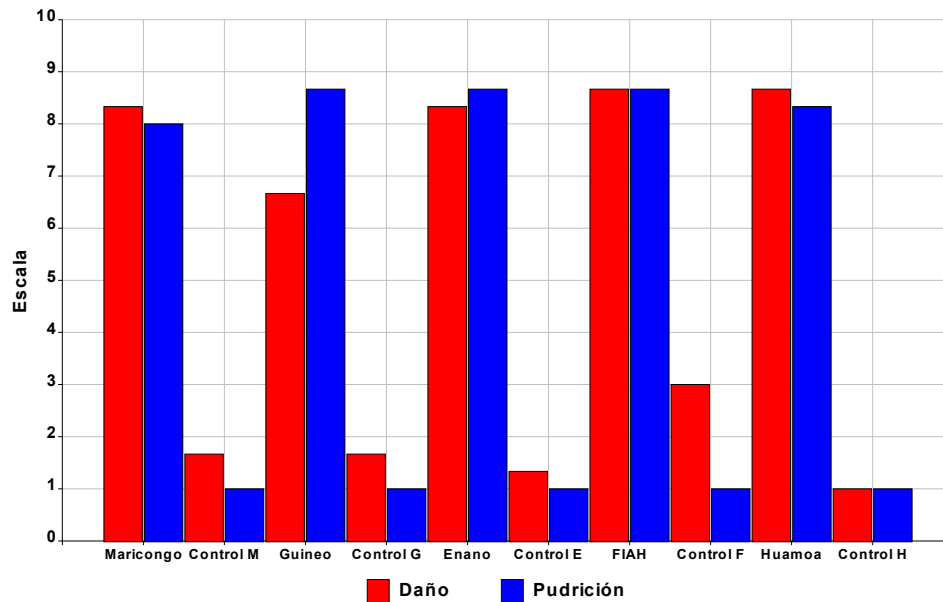


Figura 16. Efecto de la bacteria *E. chrysantemi* (2415) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FHIA-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.

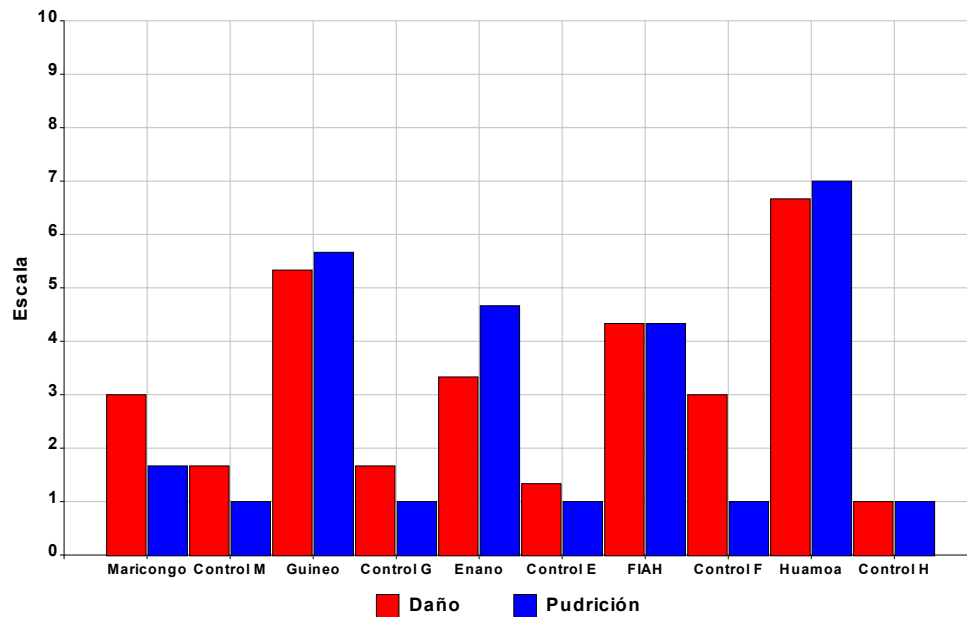


Figura 17. Efecto de la bacteria *Burkholderia gladioli* (2072) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FHIA-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.

Las bacterias 2399 (*Pseudomonas spinosa*) y la mezcla de la 2086 y 2162, ambas identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*, produjeron poco daño y poca pudrición (Figura 18 y 19). Todos los clones evaluados con estas dos bacterias mostraron valores de cuatro o menores a cuatro. Estos valores son considerados como daño mínimo comparados con los controles, los cuales mostraron valores menores a dos; siendo consideradas todas las plantas dentro de este valor como sanas.

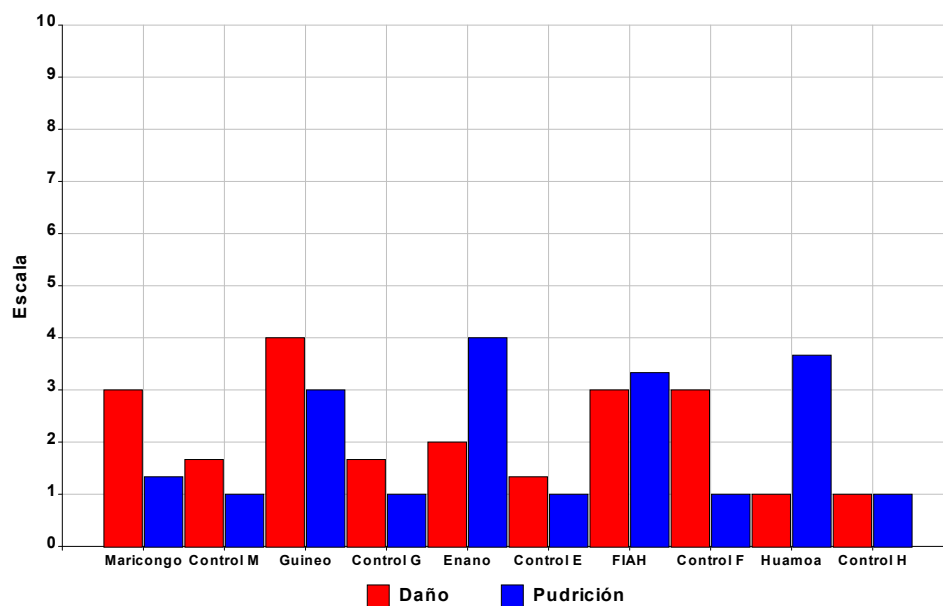


Figura 18. Efecto de la bacteria *Pseudomonas spinosa* (2399) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FHIA-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.

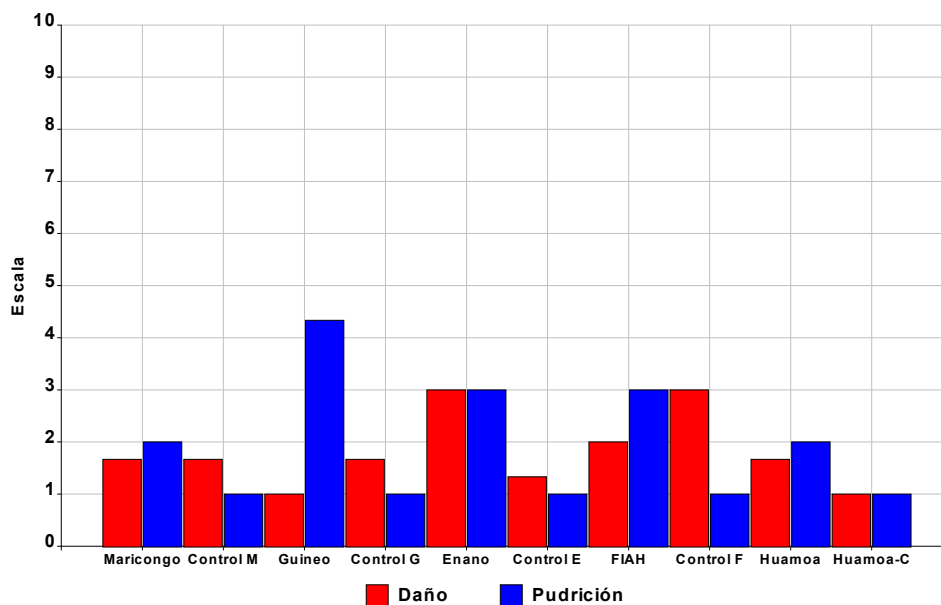


Figura 19. Efecto de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (2086 - 2162) en los clones Maricongo, Grand nain (Guineo), Enano, FIAH-01 y “Hua Moa” comparadas con el control en cuanto a las variables daño y pudrición.

Adicional a estos criterios, se evaluaron las variables daño producido por la pudrición y número de hojas, sin que estos mostraran una diferencia significativa en los diferentes clones.

De acuerdo con los resultados que se observaron para las variables altura y diámetro, los clones Maricongo y “Hua Moa” mostraron diferencias significativas (Tabla 13), mientras que en los demás clones no se observaron diferencias. Esto puede ser atribuido a la edad que tenían las plantas cuando fueron inoculados. Maricongo y “Hua Moa” fueron inoculados al mes de sembrados, mientras que los demás clones se inocularon a los seis meses. Esto se puede comparar con lo reportado por Mobambo *et al* (1997), donde sugieren que la respuesta a la

sigatoka en híbridos de plátano depende de la edad de la planta. Los autores describen que los síntomas se desarrollaron más rápido en hojas jóvenes que en viejas y concluyen que el desarrollo de la enfermedad tarda el doble de tiempo en plantas con 6 meses de edad que en plantas de dos meses. Otros trabajos realizados en habichuela (*Phaseolus vulgaris* L) para *Xanthomonas phaseoli* (Coyne *et al* 1973), para el virus del mosaico dorado amarillo de la habichuela (Morales y Niessen, 1988) y en plantas de garbanzo (*Cicer arietinum*) para el hongo *Ascochyta rabiei* (Chongo y Gossen, 2001) confirman que la susceptibilidad o tolerancia esta influenciada por la edad de la planta.

Por otro lado, los resultados demuestran que el daño de *E. chrysantemi* sobre los diferentes clones es amplio, ya que el efecto es de manera semejante en todos ellos. Sin embargo, es un poco contrario con lo que se reporta en la literatura donde se ha descrito que los clones Cavendish pertenecientes al grupo *Musa* AAA al cual pertenece Grand nain, son los más susceptibles mientras que los clones tipo AAB o ABB donde se encuentran Maricongo, “Hua Moa” y Enano, son más tolerantes al daño producido por esta bacteria (Stover y Simmonds, 1987; Robinson, 1998). No obstante, otros estudios reportan la presencia de especies de *Erwinia* afectando plantaciones de plátano en Venezuela (Navas y Sosa, 1984). Estudios semejantes realizados por Ordosgoitti (1987) bajo condiciones controladas, en diferentes clones de *Musa balbisiana* e híbridos de este, fueron inoculados con bacterias causantes de las

podriciones blandas, los cuales dieron resultados positivos. En ellos se encontró que los efectos de la infección de las bacterias fueron más severos en especies de *M. balbisi*ana e híbridos AAB y ABB, que en los clones de *M. acuminata* (AAA). Estos reportes, junto con lo hallado en este trabajo, confirman que los cuatro clones probados en este estudio son susceptibles a *E. chrysantemi* en condiciones de invernadero y que puede causar podriciones blandas al igual que las reportadas para *E. carotovora*.

Burkholderia gladioli ha sido reportada como patógena en cebolla y gladiolos donde causa manchas foliares y podriciones blandas (Hayward, 1983b); también ha sido reportada causando podriciones blandas en setas comestibles (Fermor y Lincoln, 2001). Hasta el momento no ha sido reportada afectando plátanos y guineos. Sin embargo, en el presente estudio se detectó *Burkholderia gladioli* en plantas con síntomas de pudrición en “Hua Moa”. Los resultados obtenidos sugieren que esta bacteria forma parte de la población bacteriana que puede afectar el tejido del plátano. Del mismo modo, *P. aeruginosa* es una bacteria que puede causar necrosis interna sin maceración de los tejidos bajo condiciones de invernadero en los diferentes clones (Figura 19). En los reislamientos de los diferentes tejidos se pudo confirmar la presencia de las bacterias inoculadas, indicando que el daño presentado era debido a estos microorganismos.

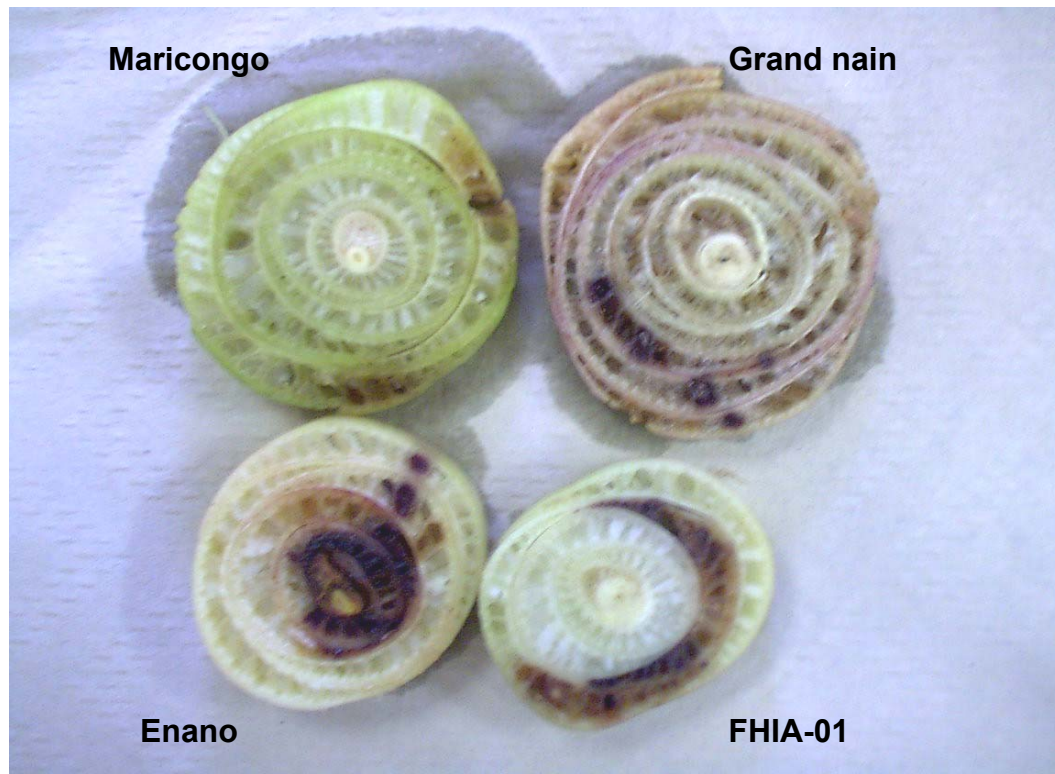


Figura 20. Necrosis producida por *P. aeruginosa* en los diferentes clones de plátano (Maricongo, Enano y “Hua Moa”) y guineo (Grand nain y FHIA-01).

5.4 Determinación del potencial antagonista

Los resultados preliminares indicaron 27 bacterias como posibles inhibidoras. Los resultados del segundo ensayo, que incluyeron 10 bacterias inhibidoras y 10 bacterias patógenas, mostraron que la distancia de inhibición de la gran mayoría de bacterias no fue mayor a tres milímetros; a excepción de las bacterias 2156 y 2382 que dieron zonas de inhibición de ocho y nueve milímetros, respectivamente, para la bacteria identificada como *P. spinosa*. Para el resto no se observó ningún efecto de inhibición (Figura 21 y Tabla 15). También, que muchas de ellas no mostraron el mismo efecto antagónico con todas las patógenas. Al realizar el análisis de varianza para los resultados del segundo ensayo, se encontraron diferencias significativas para la interacción entre las bacterias patógenas y las antagonicas (Tabla 16). A pesar de esta diferencia, éstas no son consideradas buenos candidatos para utilizarlas como control biológico. Esto debido a que las zonas de inhibición que mostraron fueron pequeñas comparadas con los resultados obtenidos en otros estudios, en donde se reportan zonas de inhibición de 28 mm para *P. fluorescens* inhibiendo a *R. solanacearum* (Anuratha y Gnanamanickam, 1990). El tipo de inhibición que se observó pudo ser causado por competencia de espacio o nutrientes; también pudo ser ocasionado por la producción de sustancias tóxicas como antibióticos. Para determinar esto habría que entrar a realizar estudios sobre los mecanismos de acción de las bacterias antagonicas.

A pesar de los resultados, existe la posibilidad que haya bacterias con potencial de control biológico ya que en otros estudios se ha reportado la presencia de este tipo de bacterias procedentes de guineo y plátano. Un ejemplo es *P. fluorescens*, aislada de cormos de guineos en Sri Lanka, la cual ha sido reportada como un biocontrol efectivo por la producción de antibióticos (Vlassak *et al.*, 1992). Anuratha y Gnanamanickam (1990), reportaron la utilización de cepas de *Bacillus spp* y *Pseudomonas fluorescens* como control biológico de pudriciones bacteriales en guineo, berenjena y tomate en India y en la región del Pacífico sur. También se han realizado pruebas para determinar el efecto de *Pseudomonas sp.* procedentes de plátano para la inhibición de hongos fitopatógenos del suelo (Fernández, 2001). En otros estudios se reportan cepas de *Bacillus* y *Serratia* (BC8 y SJ47) como antagonistas de *P. solanacearum* y *Erwinia carotovora* sub spp. *carotovora* y *atroseptica*, respectivamente, para enfermedades en el cultivo de la papa en Chile (Ciampi *et al.*, 1994).

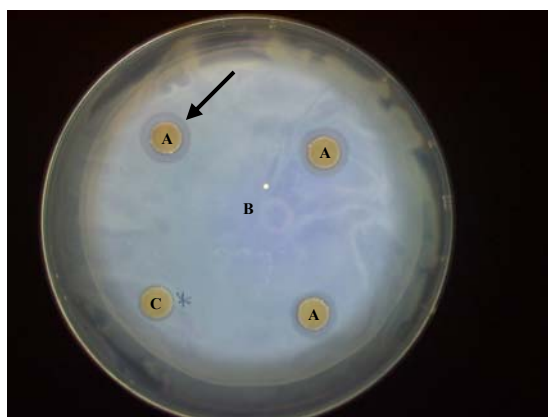


Figura 21. Inhibición por las bacterias con potencial antagonico donde A: bacteria antagonica, B: bacteria patogena, C: control y la flecha marca la zona de inhibición dada en milímetros.

Tabla 15. Reacción antagonica de las bacterias aisladas de plátano “Hua Moa” contra las bacterias que mostraron potencial patogénico.

¹ Bacteria Patogena	² Bacterias Inhibidoras									
	2048	2054	2108	2138	2156	2380	2382	2418	2436	2447
2055	3	0	0	0	0	2.5	2	0	0	2.5
<i>S. marcescens</i>										
2067	0	2.5	0	0	2	0	1.5	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>										
2072	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. gladioli</i>										
2086	0	2	0	0	2.5	0	2	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>										
2162	0	2	0	0	3	0	2	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>										
2390	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. vietnamiensis</i>										
2399	0	0	0	0	8.5	0	9.5	0	0	0
<i>P. spinosa</i>										
2404	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. pyrrocinia</i>										
2408	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. chrysanthemi</i>										
2415	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. chrysanthemi</i>										

¹ Bacterias patogenas en los tejidos de plátano y papa

² Bacterias seleccionadas por no mostrar efecto patogénico en los tejidos de plátano y papa.

*El área de inhibición esta dado en milímetros.

Tabla 16. Análisis de varianza para la reacción de inhibición en bacterias aisladas de plátano.

Bacterias	Prueba F	Valor P
Patógenas	131.57	<0.0001
Antagónicas	154.80	<0.0001
Interacción	62.09	<0.0001

$P < \alpha = 0.005$

5.5 Cortes histológicos

Los resultados observados en los cortes muestran numerosas cámaras de aire separadas por tabiques (Figura 22), los cuales pueden estar compuestos de tejido vascular. Estas observaciones pueden compararse con los resultados obtenidos en los cortes realizados por Auber en 1973 (Cit en: Stover y Simmonds, 1987) en hojas de guineo, donde se observan cortes cercanos a la vena principal, en los cuales se ven largos espacios de aire separados por un septo de tejido vascular y fibroso. Stover y Simmonds (1987) explican que cerca del 50% de la lámina foliar, así como en el pecíolo, está compuesto de espacios de aire divididos por tabiques finos formando cámaras. Se propone que el desarrollo de la bacteria puede darse en estos espacios o cámaras, así como también entre los espacios intercelulares ya que se ha reportado que cuando ésta entra, invade el interior de los tejidos multiplicándose en los espacios intercelulares, produciendo enzimas que disuelven las uniones entre las células, ablandando los tejidos (Cruz, 2001).

El proceso de estandarización de la técnica de cortes histológicos fue realizado solamente en tejido de pseudotallos sanos de plátano “Hua Moa”. Desafortunadamente, esta técnica no pudo ser llevada a cabo en tejidos infectados debido a requerimientos de tiempo necesarios para la inoculación, observación y a la necesidad de estandarización de la metodología para lograr los cortes.

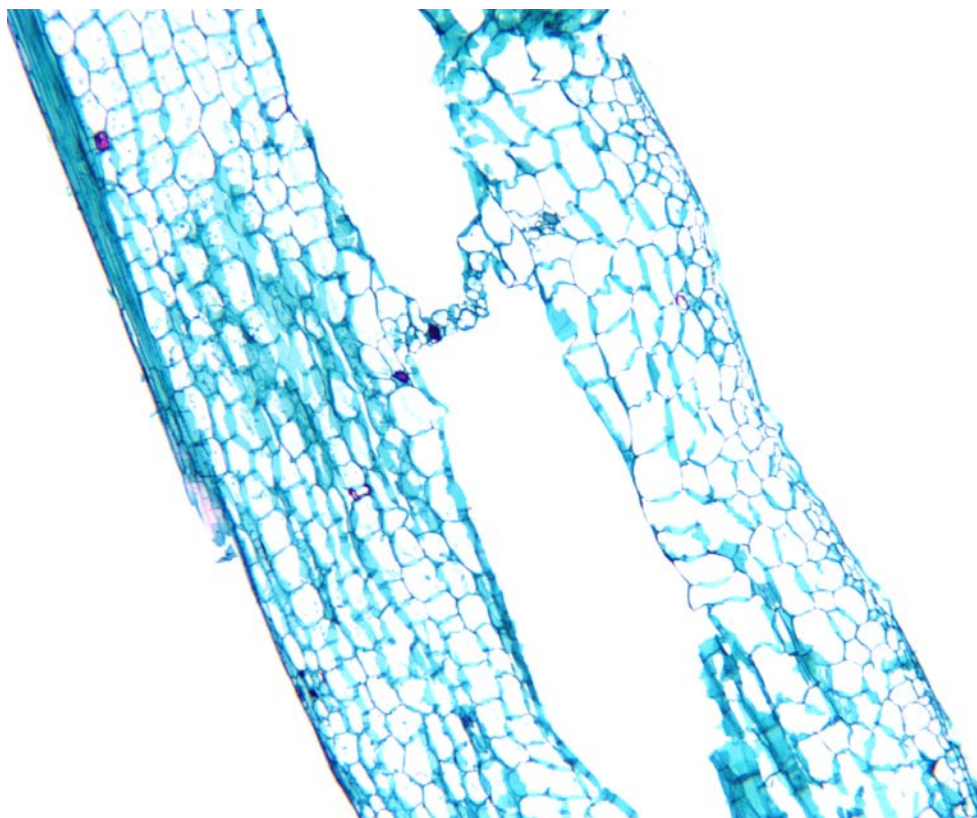


Figura 22. Fotografía del corte realizado en pseudotallo de plátano “Hua Moa” donde se pueden observar cámaras de aire separadas por un septo de tejido vascular.

6. CONCLUSIONES

1. Se aislaron un total de 167 bacterias asociadas al tejido de pseudotallo de plátano "Hua Moa"; dentro de estas se identificaron *P. aeruginosa*, *E. chrysanthemi*, *S. marcescens*, *B. vietnamiensis* y *B. gladioli* las cuales resultaron patógenas a 4 cultivares de plátano bajo condiciones *in vitro* y de invernadero.
2. Se encontraron tres grandes grupos de bacterias que presentaron las mismas combinaciones de características morfológicas y bioquímicas tanto en tejido sano como enfermo en las tres localidades. Estas bacterias aparentemente forman parte de la flora bacteriana normal del plátano.
3. No se observó efecto de la bacteria *P. aeruginosa* con el fenómeno del aborto del racimo bajo condiciones de campo
4. *E. chrysanthemi* fue la bacteria más virulenta encontrada causando necrosis y pudrición en las pruebas de laboratorio e invernadero, y tiene el potencial de causar pudrición blanda una vez se presenta el aborto del racimo bajo condiciones de campo.
5. La entrada de las diferentes bacterias patógenas encontradas en los tejidos de pseudotallos parece ocurrir por la parte superior de la planta, ya que el daño necrotico y de pudrición solo se observó hasta la parte media de la misma y nunca en la parte inferior.
6. Dentro del grupo de bacterias evaluadas para su uso como control biológico, no se encontraron bacterias con potencial antagónico significativo.

7. RECOMENDACIONES

1. Identificar un número representativo de bacterias que fueron aisladas de tejido sano y enfermo en las tres localidades para determinar cuales son pobladoras naturales del plátano “Hua Moa”.
2. Se recomienda usar el medio CVP (Medio Cristal violeta Pectato) para aumentar el potencial de aislamiento de bacterias del grupo “carotovora”.
3. Realizar un ensayo para determinar si existe interacción entre las bacterias patógenas y los diferentes clones de plátano y guineo.
4. Realizar un ensayo de campo con la bacteria *E. chrysanthemi* y *B. gladioli* para determinar si éstas contribuyen al efecto del aborto del racimo teniendo en cuenta los factores temperatura y humedad del suelo; los cuales se han sugerido como posibles causales de este fenómeno.
5. Evaluar otras bacterias provenientes del mismo clon o de otros clones de plátano y guineo para la búsqueda de bacterias con potencial biocontrolador.
6. Adaptar la técnica de cortes histológicos en tejido de pseudotallo infectado con *E. chrysanthemi*, para conocer los diversos mecanismos de infección de la bacteria en la célula vegetal.

8. BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology. Fourth Edition. Academic Press. 635 p.
- Anónimo. 1997. Conjunto tecnológico para la producción de plátanos y guineos. Estación Experimental Agrícola, Universidad de Puerto Rico. (Edición Revisada).
- Anuratha, C. S. and S. S. Gnanamanickam. 1990. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in India with antagonistic bacteria. Plant and Soil 124:109-116.
- ATMOS CARIB. 2003. Centro de Investigaciones Atmosféricas del Caribe de la Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. <http://atmos.uprm.edu/new/esp>
- Benson, H. J. 1985. Microbiological applications a laboratory manual in general microbiology. Fourth edition. Wm. C. Brown Publishers. Iowa. 450 p.
- Buddenhagen, I. W. and L. Sequeira. 1958. Desinfectants and tool disinfection for prevention of spread of bacterial wilt of banana. Plant Disease Reporter 42:1399-1404.
- Cedeño, L. R.; B. M. Nieves y E. L. Palacios. 1990. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* Causante de la Pudrición Blanda del Plátano "Harton" (Musa AAB) en Venezuela. Fitopatol. Venez. 3(1): 6-9.
- Chongo, G. and B. D. Gossen. 2001. Effect of plant age on resistance to *Ascochyta rabiei* in chickpea. Canadian Journal of Plant Pathology. 23(4):358-363.
- Ciampi, L.; E. Schentler; M. Gutiérrez y L. Ramos. 1994. Pesticidas Biológicos para el control de enfermedades de la papa. VII Congreso Latinoamericano de Fitopatología, Valdivia, Chile.
- Cook, J. R. and K. F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, Minnesota. APS Press. 539 p.
- Cortés, A. 1993. Diseases caused by *Pseudomonas* spp in some cultivars in Puerto Rico – an updating. Journal Agriculture University of Puerto Rico 77(3-4): 207-227.

- Cother, E. J. and K. Sivasithamparam. 1983. *Erwinia*: The “Carotovora” Group in Plant Bacterial Diseases A Diagnostic Guide. Edited by Fahay P. C. And G. J. Persley. Academic Press, Sydney, Australia. p. 87-106.
- Coyne, D. P.; M. L. Schuster and K. Hill. 1973. Genetic control of reaction to common blight bacterium in bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by plant age and bacterial multiplication. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences*. 98(1):94-99.
- Coyne, D. P. and M. L. Schuster. 1983. Genetic of and breeding for resistance to bacterial pathogens in vegetable crops. *HortScience*. 18(1):30-36.
- Crane, J.H. and C.F. Balerdi. 1998. The banana in Florida. Fruit Crops Fact Sheet HS -10 and CD-ROM. University of Florida-IFAS, Cooperative Extension Service, Gainesville, FL. p. 1-8.
- Cruz, M. A. 2001. Pudrición de la papa. Boletín informativo INIA Quilamapu. Gobierno de Chile, Ministerio de Agricultura INIA Quilamapu pp 1-4.
- De Boer, S. H. and A. Kelman. 2001. Gram-Negative Bacterial. *Erwinia* Soft Rot Group. In: Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third edition. Editors N. W. Schaad, J. B. Jones and W. Chun. p. 56-71
- Díaz M. 2002. Manual Práctico para el Cultivo Sustentable del Plátano. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Colegio de Ciencias Agrícolas. 28 p.
- Dickey, R. S. 1979. *Erwinia chrysanthemi*: A Comparative Study of Phenotypic Properties of Strain from Several Hosts and Other *Erwinias* Species. *Phytopathology*. 69 (4): 324-329.
- Dickey, R. S. 1981. *Erwinia chrysanthemi*: Reaction of Eight Plant Species to Strains from Several Hosts and to Strains Other *Erwinias* Species. *Phytopathology*. 71 (1): 23-29.
- Doudoroff, M. and N. J. Palleroni. 1974. Gram – negative aeróbic rods and cocí. *Genus I Pseudomonas*. In: Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology. Eighth Edition. Co-Editors. R. E. Buchanan and N. E. Gibbons. p. 217-249.
- Dye, D. W. 1969. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. II. The “carotovora” group. *New Zealand Journal of Science*. 12, 81-97.

- Dye, D. W. 1983. *Erwinia*: The "Amylovora" and "Herbicola" Groups. In: Plant Bacterial Diseases A Diagnostic Guide. Edited by P. C. Fahay And G. J. Persley. Academic Press, Sydney, Australia. p. 67-86.
- Eden-Green, S. J. 1994. Musa Disease Fact Sheet N° 3: Banana Blood Disease. INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Parc Scientifique agropolis, Montpellier, France). 2 p.
- FAO. 2003. FAO Statistical Databases. <http://apps1.fao.org>
- Fermor, T. and S. Lincoln. 2001. Roten Mushrooms. The International Society for Mushroom Science, ISMS. Mushroom News 48(4):16-17.
- Fernández, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). N° 62 p. 96-100.
- Freeman, W. H. 1962. Sourcebook of laboratory exercises in plant pathology. Phytopathological Society. 387 p.
- Frison, E. A. y S. L. Sharrock 1998. Biodiversidad y Producción Sostenible del Banano. Red Internacional para la Mejoramiento del Banano y del Plátano. <http://www.banafair.de/publ/report/spa/5.htm>
- García, R.; A. García y L. Delgado. 1999. Distribución, incidencia y variabilidad de *Ralstonia solanacearum*, agente causal de la marchitez bacteriana de la papa en el estado de Mérida. BIOAGRO 11(1): 12-23.
- Garland, J. L. 1999. Potential and limitations of BIOLOG for microbial community analysis. Methods of Microbial Community Analysis Microbial Biosystems: New Frontiers Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology Bell CR, Brylinsky M, Johnson-Green P(ed) Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada.
- Gäumann, E. 1923. *Onderzoekingen over de bloedziekte der bananen op Celebes II* (Investigations on the bloo-disease of bananas in Celebes II). Mededeelingen van het Instituut voor Plantenziekten N° 50.
- Gómez, L. E.; E. Echeverri y R. González. 2001. Evaluación de los controles cultural, químico y biológico sobre la pudrición vascular y marchitamiento del plátano (Musa AAB Simmonds). INFOMUSA 10(1):17-21.

- Guzmán, M. y J. Sandoval. 1996. Síntomas de la pudrición sueve del pseudotallo en los híbridos FHIA-01 y FHIA-02. Nota Técnica. CORBANA 21(46):145-150.
- Hayward, A. C. 1983a. Primary differentiation of the genera of plant pathogenic bacteria. In: Plant Bacterial Diseases A Diagnostic Guide. Edited by P. C. Fahay And G. J. Persley. Academic Press, Sydney, Australia. p. 13-26.
- Hayward, A. C. 1983b. *Pseudomonas*: The Non-Fluorescent Pseudomonads. In: Plant Bacterial Diseases A Diagnostic Guide. Edited by P. C. Fahay And G. J. Persley. Academic Press, Sydney, Australia. p. 107-140.
- InfoStat/Profesional. 2002. Software Estadístico Versión 1.1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba (FCA-UNC). Estadística y Diseño.
- Irizarry, H. and R. Goenaga. 2001. Yield potential of the false-horn “Hua Moa” plantain. Journal Agriculture University of Puerto Rico 85(1-2): 33-40.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. Mc.Graw–Hill Co. New York. 523 p.
- Jones, A. L. And K. Geider. 2001. Gram-Negative Bacteria. *Erwinia amylovora* Group. In: Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third edition. Editors N. W. Schaad, J. B. Jones and W. Chun. p. 40-54
- Lelltiott, R. A. 1974. Gram – negative facultatively anaerobic rods. *Genus XII. Erwinia*. In: Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology. Eighth Edition. Co-Editors. R. E. Buchanan and N. E. Gibbons. p. 332-340.
- Lessard, W. O. 1992. The Complete Book of Bananas. William O. Lessard, Publisher. p. 69.
- Melgarejo, P.; A. De Cal; and M. Sagasta. 1989. Influence of *Penicillium frequentans* and two of its antibiotics on production of stromata by *Monilinia laxa* in culture. Can. J. Bot. 67:83-87.
- Mondino, P. y S. Vero. 1999. Control Biológico Postcosecha. Medidas para conservar frutas y hortalizas. Horticultura Internacional. 26:29 - 36.
- Montesinos, E. 2000. Pathogenic plant-microbe interactions. What we know and how we benefit. International Microbiology. 3:69-70.

- Morales, F. J. and A. I. Niessen. 1988. Comparative responses of selected *Phaseolus vulgaris* germplasm inoculated artificially and naturally with beang golden mosaic virus. *Plant Disease* 72:1020-1023.
- Mobambo, K. N.; C. Pasberg-Gauhl; F. Gauhl and K. Zuofa. 1997. Host response to black sigatoka in *Musa* germoplasm of different ages under natural inoculation conditions. *Crop Protection* 16(4): 359-363.
- Muñoz, C. A. y F. Jordán. 1997. Manual de microtécnica para tejidos vegetales. Departamento de Biología, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. 155 p.
- Navas, C. y L. Sosa. 1984. Manejo de plantaciones de plátano en la cuenca del lago de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 6(2):725-732.
- Ordosgoitti, A. 1987. Enfermedades bacterianas de las musáceas en Venezuela. *FONAIAP Divulga*. 5(26): 27-30.
- Ploetz, R. C.; Zentmyer, G. A.; Nishijima, W.T.; Rohrbach, K. G. and Ohr H. D. 1994. Compedium of Tropical Fruit Diseases. APS Press. The American Phytopathological Society. p.2-16.
- Rangaswami, G. and M. Rangarajan. 1965. A Bacterial Leaf -Spot Disease of Banana. *Phytopathology Notes*. 55:1035-1036.
- Robinson, J. C. 1998. Bananas and Plantains. *Crop Production Science in Horticulture*. CAB International. 230 p.
- Rorer, J. B. 1911. A bacterial disease of banana and plantains. *Phytopathology*. 1(2):45- 49.
- SAS[®] System Institute. Version Eight for Windows. 1999. Copyright by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA..
- Schaad, N. W. 2001. Initial Identification of Common Genera. In: *Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria*. Third edition. Editors N. W. Schaad, J. B. Jones and W. Chun. p. 1-15.
- Sivamani, E. and S. S. Gnanamanickam. 1988. Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* in banana by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Plant and Soil*. 107: 3-9.

- Soguilon, C. E.; L. V. Magnaye and M. P. Natural. 1995. *Musa* Disease Fact Sheet N° 6: Bugtok disease of banana. INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Parc Scientifique agropolis, Montpellier, France). 2 p.
- Stover, R. H. 1959. Bacterial Rhizome Rot of Bananas. *Phytopathology*. 49:290-292.
- Stover, R. H. 1972. Banana, Plantain and Abaca Disease. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 316 p.
- Stover, R. H. y N. W. Simmonds. 1987. Bananas. Longman Scientific & Technical. 468 p.
- Suslow, T. V.; M. N. Schroth and M. Isaka. 1982. Application of Rapid Method for Gram Differentiation of Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria Without Staining. *The American Phytopathological Society*. 72(7): 917-919.
- Todar, K. 2002. Opportunistic infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. <http://www.textbookofbacteriology.net>
- Thwaites, R.; S. J. Eden-Green and R. Black. 1999. Diseases caused by bacteria. In: Diseases of Banana, Abacá and Enset. Editor David R. Jones. p. 213-238.
- Van Delden, C. and B. H. Iglewski. 1998. Cell-to-Cell Signaling and *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Emerging Infectious Diseases*. 4(4): 14-24.
- Vlassak, K.; L. Von Holm; L. Duchateau; J. Vanderleyden and R. De Mot. 1992. Isolation and characterization of fluorescent *Pseudomonas* associated with the roots of rice and banana grown in Sri Lanka. *Plant and Soil*. 145:51-63.
- Yabuuchi, E.; Y. Kosako; I. Yano; H. Hotta and Y. Nishiuchi. 1995. transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* Gen. Nov.: proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) Comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Comb. Nov. And *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) Com. Nov. *Microbiol. Immunol.*, 39(11):897-904.

Apéndice 1. Listado de bacterias encontradas en tres localidades de Puerto Rico.

N°	Localidad	Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2046	Santa Isabel	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	-	-			-	-	
2047	Santa Isabel	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	-	-	+	+		x	x	-	-
2048	Santa Isabel	13	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2049	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			-	-	
2050	Santa Isabel	5	Enfermo	Hisopo	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			-	-	
2051	Santa Isabel	5	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-			-	+	
2052	Santa Isabel	9	Enfermo	Líquido	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	3	-	-	+	+		x	x	-	-
2053	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	+	+	-			-	-	
2054	Santa Isabel	11	Enfermo	Tejido	NA	COB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-			-	-	
2055	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	+	
2056	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			+	+	
2057	Santa Isabel	14	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-			-	-	
2058	Santa Isabel	14	Enfermo	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2066	Santa Isabel	13	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2067	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			+	-	
2068	Santa Isabel	5	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2069	Santa Isabel	8	Enfermo	Líquido	PIA	COB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-			-	-	
2070	Santa Isabel	8	Enfermo	Líquido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			-	-	
2071	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			-	-	
2072	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-			+	-	
2073	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	-	-	+	+	x		-	-	
2074	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			-	-	
2075	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2076	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-			-	-	
2077	Santa Isabel	13	Enfermo	Hisopo	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-			-	-	
2078	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-			-	-	
2079	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	6	+	-	+	-			-	-	
2080	Santa Isabel	8	Enfermo	Líquido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-			-	-	
2081	Santa Isabel	9	Enfermo	Líquido	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2082	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	+	+	-			-	-	

N°	Localidad	Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2083	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	8	+	-	+*	-				-	-
2084	Santa Isabel	11	Enfermo	Tejido	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	8	+	-	+*	-				-	-
2085	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2087	Santa Isabel	14	Enfermo	Tejido	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+*	-				-	-
2088	Santa Isabel	14	Enfermo	Tejido	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	-	+*	-				-	-
2138	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2139	Santa Isabel	4	Enfermo	Hisopo	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2140	Santa Isabel	4	Enfermo	Hisopo	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	3	+	+	+	-				-	-
2141	Santa Isabel	6	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2142	Santa Isabel	6	Enfermo	Hisopo	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2143	Santa Isabel	7	Enfermo	Tejido	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	6	-	-	+	+		x	x	-	-
2144	Santa Isabel	7	Enfermo	Tejido	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2145	Santa Isabel	8	Enfermo	Liquido	NA	COB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2146	Santa Isabel	9	Enfermo	Liquido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2147	Santa Isabel	9	Enfermo	Liquido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	+	-	-				-	-
2148	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	4	-	-	+	+		x	x	-	-
2149	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2150	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2151	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2152	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2153	Santa Isabel	4	Enfermo	Hisopo	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2154	Santa Isabel	6	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2155	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2156	Santa Isabel	11	Enfermo	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2157	Santa Isabel	11	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2158	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2159	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2160	Santa Isabel	4	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2161	Santa Isabel	4	Enfermo	Hisopo	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2162	Santa Isabel	5	Enfermo	Hisopo	MS	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2163	Santa Isabel	5	Enfermo	Hisopo	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2164	Santa Isabel	6	Enfermo	Hisopo	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-

N°	Localidad	Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2165	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	MS	RCB	Redonda	Lisa	Convexa	6	+	-	+	-				-	-
2166	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	+	+	-				-	-
2380	Gurabo	1	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2381	Gurabo	1	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2382	Gurabo	1	Sana	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2383	Gurabo	1	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2384	Gurabo	1	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2385	Gurabo	1	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2386	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2387	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-				-	-
2388	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Plana	4	-	-	+	+		x		-	-
2389	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2390	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				+	-
2391	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2392	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Plana	3	-	-	+	+		x		-	-
2393	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2394	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2395	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	3	-	-	+	+		x	x	-	-
2396	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Plana	4	-	-	+	+		x		-	-
2397	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-				-	-
2398	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2399	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	PIA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				+	+
2400	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	PIA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2401	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Plana	3	-	-	+	+		x		-	-
2402	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2403	Gurabo	3	Enfermo	Liquido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-				-	-
2404	Gurabo	3	Enfermo	Liquido	PIA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				+	-
2405	Gurabo	3	Enfermo	Liquido	PIA	ROB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	+
2406	Gurabo	3	Enfermo	Liquido	PIA	CCB	Redonda	Ondulada	Plana	1	+	+	+	-				-	-
2407	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Ondulada	Plana	5	+	-	+	-				+	+
2408	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Ondulada	Plana	5	+	-	+	-				+	+
2409	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	6	+	-	+	-				-	-

Nº	Localidad	Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2410	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Ondulada	Plana	3	+	-	+	-				-	+
2411	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	-	-	+	+		x		-	-
2412	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2413	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2414	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	4	-	-	+	+		x	x	-	-
2415	Corozal	2	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Ondulada	Plana	5	+	-	+	-				+	+
2416	Corozal	2	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	+
2417	Corozal	2	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	-	-	+	+		x		-	-
2418	Corozal	2	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2419	Corozal	2	Enfermo	Líquido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	7	+	-	+	-				-	-
2420	Corozal	2	Enfermo	Líquido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	+
2421	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2422	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	+	+	-				-	-
2423	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2424	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	-	-				-	-
2425	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	BB	Redonda	Lisa	Plana	1	-	-	+	+	x			-	-
2426	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	4	-	+	+	+		x	x	-	-
2427	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2428	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Plana	2	+	-	+	-				-	-
2429	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	4	-	-	+	+		x	x	-	-
2430	Gurabo	5	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2431	Gurabo	5	Sana	Tejido	NA	BB	Redonda	Lisa	Plana	1	-	-	+	+	x			-	-
2432	Gurabo	5	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	-	-	+	+		x		-	-
2433	Corozal	3	Enfermo	Tejido	PIA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2434	Corozal	3	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2435	Corozal	3	Enfermo	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2436	Corozal	3	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Plana	2	-	-	-	+		x		-	-
2437	Corozal	3	Enfermo	Tejido	NA	RsCB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	-	-	-				-	-
2438	Corozal	3	Enfermo	Tejido	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	4	-	+	+	+		x	x	-	-
2439	Corozal	3	Enfermo	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	-	-	+	+		x		-	-
2440	Corozal	4	Sana	Tejido	MS	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	-	-	+	+		x		-	-
2441	Corozal	4	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-

N°	Localidad	Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2442	Corozal	4	Sana	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2443	Corozal	4	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-				-	-
2444	Corozal	4	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	-	-	+	+		x		-	-
2446	Corozal	4	Sana	Tejido	NA	CCO	Redonda	Ondulada	Plana	3	-	+	+	+		x	x	-	-
2445	Corozal	4	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2447	Corozal	5	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Plana	2	-	-	+	+		x		-	-
2448	Corozal	5	Enfermo	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2449	Corozal	5	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2450	Corozal	5	Enfermo	Tejido	NA	RsCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2451	Corozal	6	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	-	-				-	-
2452	Corozal	6	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	-	-				-	-
2453	Corozal	6	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2454	Corozal	6	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2455	Corozal	6	Enfermo	Tejido	NA	BB	Redonda	Lisa	Plana	2	-	-	+	+				-	-
2456	Corozal	6	Enfermo	Tejido	NA	RsCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2477	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2478	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2479	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2480	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Plana	3	-	-	+	+		x		-	-
2481	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2482	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	-	-	+	+		x		-	-
2483	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2484	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2485	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	1	-	-	+	+		x		-	-
2486	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	-	-	+	+		x		-	-
2487	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2488	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2489	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	-	-	+	+		x		-	-
2490	Santa Isabel	17	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2491	Santa Isabel	17	Enfermo	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	-
2492	Santa Isabel	17	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	-	-	+	+		x		-	-
2493	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	-	-	+	+		x		-	-

N°	Localidad	Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2494	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	PIA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2495	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Plana	3	-	-	-	+		x		-	-
2496	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2497	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CT	Redonda	Ondulada	Plana	2	+	+	+	-				-	+
2498	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	-	-	+	+		x		-	-
2499	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2500	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	BB	Redonda	Lisa	Plana	2	-	-	-	+		x		-	-
2501	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-

¹ Medio NA: Agar Nutritivo – PIA: *Pseudomonas* Isolation Agar – MS: Miller-Schroth

² Color CCB: Crema Claro Brillante –CCO: Crema Clara Opaca – COB: Crema Oscuro Brillante – CT: crema Tornasol – ACB: Amarillo Claro Brillante
RCB: Roja Clara Brillante – ROB: Roja Oscura Brillante – RSCB: Rosada Claro Brillante - BB: Blanca Brillante

N°: Número de identificación en laboratorio.

Apéndice 2. Bacterias con características morfológicas y bioquímicas comunes en las tres localidades

Grupo 1

Nº	Localidad	Nº Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2412	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2447	Corozal	4	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2384	Gurabo	1	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2400	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	PIA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2430	Gurabo	5	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2058	Santa Isabel	14	Enfermo	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2484	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	ACB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-

¹ Medio NA: Agar Nutritivo – PIA: *Pseudomonas* Isolation Agar

² Color ACB: Amarillo Claro Brillante

Nº: Número de identificación en laboratorio.

Grupo 2

Nº	Localidad	Nº Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2409	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	6	+	-	+	-			-	-	
2413	Corozal	1	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2418	Corozal	2	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2419	Corozal	2	Enfermo	Liquido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	7	+	-	+	-			-	-	
2434	Corozal	3	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-			-	-	
2441	Corozal	4	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2443	Corozal	4	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-			-	-	
2453	Corozal	6	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-			-	-	
2454	Corozal	6	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2380	Gurabo	1	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2383	Gurabo	1	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2385	Gurabo	1	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2386	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2387	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-			-	-	
2389	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2391	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2393	Gurabo	2	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2397	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-			-	-	
2398	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2402	Gurabo	3	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2403	Gurabo	3	Enfermo	Liquido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	5	+	-	+	-			-	-	
2427	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2048	Santa Isabel	13	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2057	Santa Isabel	14	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-			-	-	
2066	Santa Isabel	13	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-			-	-	
2068	Santa Isabel	5	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2075	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2150	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2154	Santa Isabel	6	Enfermo	Hisopo	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-			-	-	
2157	Santa Isabel	11	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-			-	-	

Nº	Localidad	Nº Planta	Tejido	Tipo Muestreo	¹ Medio	² Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2160	Santa Isabel	4	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2477	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	-	+	-				-	-
2478	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2479	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2488	Santa Isabel	16	Sana	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2490	Santa Isabel	17	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	-	+	-				-	-
2496	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-
2499	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	-	+	-				-	-

¹ Medio NA: Agar Nutritivo – PIA: *Pseudomonas* Isolation Agar – MS: Miller-Schroth

² Color CCB: Crema Claro Brillante

Nº: Número de identificación en laboratorio.

Grupo 3

Nº	Localidad	Nº Planta	Tejido	Tipo Muestreo	Medio	Color	Confi.	Mar.	Eleva.	mm.	KOH	OXIDA	CATA	GRAM	COCO	BACI.	ESPO.	Plátano	Papa
2442	Corozal	4	Sana	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2449	Corozal	5	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2381	Gurabo	1	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2421	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2422	Gurabo	4	Enfermo	Tejido	PIA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	4	+	+	+	-				-	-
2078	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2080	Santa Isabel	8	Enfermo	Liquido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2082	Santa Isabel	10	Enfermo	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	+	+	-				-	-
2141	Santa Isabel	6	Enfermo	Hisopo	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	3	+	+	+	-				-	-
2146	Santa Isabel	9	Enfermo	Liquido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2158	Santa Isabel	3	Enfermo	Hisopo	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2166	Santa Isabel	12	Sana	Tejido	MS	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	1	+	+	+	-				-	-
2481	Santa Isabel	15	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-
2501	Santa Isabel	18	Enfermo	Tejido	NA	CCB	Redonda	Lisa	Convexa	2	+	+	+	-				-	-

¹ Medio NA: Agar Nutritivo – PIA: *Pseudomonas* Isolation Agar – MS: Miller-Schroth

² Color CCB: Crema Claro Brillante

Nº: Número de identificación en laboratorio.