



## Patogenicidad y frecuencia de especies de *Fusarium* asociadas a la planta y al fruto de piña en Costa Rica\*

### Pathogenicity and frequency of *Fusarium* species associated with the pineapple plant and fruit in Costa Rica

María Díaz-Gutiérrez<sup>1</sup>, Oscar Castro-Zúñiga<sup>2</sup>, Gerardina Umaña-Rojas<sup>1</sup>, Valery Webb<sup>2</sup>, Mónica Blanco-Meneses<sup>2</sup>

\* Recepción: 13 de agosto, 2024. Aceptación 25 de noviembre, 2024. Este trabajo formó parte de los datos generados a partir del proyecto 813-B4-230 inscrito ante la Vicerrectoría de Investigación, y el ED-13 y ED-2811 de la Vicerrectoría de Acción Social, Universidad de Costa Rica.

<sup>1</sup> Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Centro de Investigaciones Agronómicas. San José, Costa Rica, [ma.gracieladi@gmail.com](mailto:ma.gracieladi@gmail.com) (<https://www.orcid.org/0009-0002-8218-3121>), [gerardina.umana@ucr.ac.cr](mailto:gerardina.umana@ucr.ac.cr) (<https://www.orcid.org/0000-0002-6368-5225>).

<sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos. San José, Costa Rica. [oscar.castrozuniga@ucr.ac.cr](mailto:oscar.castrozuniga@ucr.ac.cr) (<https://www.orcid.org/0000-0002-5999-5749>), [valeriw9@gmail.com](mailto:valeriw9@gmail.com) (<https://www.orcid.org/0009-0002-7205-9565>), [monica.blancomeneses@ucr.ac.cr](mailto:monica.blancomeneses@ucr.ac.cr) (autor para correspondencia, <https://www.orcid.org/0000-0003-2642-3899>).

## Resumen

**Introducción.** Costa Rica es uno de los mayores productores y exportadores de piña a nivel mundial, sin embargo, la producción y el manejo poscosecha se dificultan por problemas fitosanitarios ocasionados por hongos del género *Fusarium*. **Objetivo.** Determinar la patogenicidad de diferentes especies de *Fusarium* asociadas a la planta y fruto de piña, y su frecuencia en las principales zonas de producción de Costa Rica. **Materiales y métodos.** Los experimentos se llevaron a cabo en la Universidad de Costa Rica, San José, durante los años 2015-2019. Se realizaron pruebas de patogenicidad por medio de la inoculación con seis especies de *Fusarium*, en brácteas, pedúnculo y frutos de piña, y se comprobó por medio de los postulados de Koch. Mediante la recolección de 120 aislamientos se estableció la frecuencia de las especies de *Fusarium* en las zonas productoras. **Resultados.** Todas las especies de *Fusarium* causaron daño en brácteas. Las lesiones de mayor tamaño fueron ocasionadas por *F. oxysporum*. En fruto se observaron lesiones internas en la pulpa con *F. ananatum* y se encontró una correlación entre el tamaño de la lesión y la concentración de conidios inoculados. En el pedúnculo y la pulpa el diámetro de la lesión varió entre las especies de *Fusarium*. En cuanto a la frecuencia todas las especies de *Fusarium* estuvieron presentes en la región Huetar Norte, mientras que *F. ananatum* fue más abundante en todas las regiones, con excepción de la región Brunca. **Conclusiones.** Todas las especies analizadas fueron patogénicas en el cultivo de piña, en brácteas, pedúnculo y la fruta, donde *F. oxysporum* y *F. ananatum* causaron las mayores lesiones. La presencia en todas las zonas piñeras, el potencial patogénico y la producción de micotoxinas, determinan la importancia de tomar medidas precisas para el control y prevenir la dispersión de las especies de este género.

**Palabras clave:** *Ananas comosus*, enfermedades poscosecha, mohos, fitopatología.



## Abstract

**Introduction.** Costa Rica is one of the largest producers and exporters of pineapple worldwide, however, production and post-harvest handling are difficult due to phytosanitary problems caused by fungi of the genus *Fusarium*. **Objective.** To determine the pathogenicity of different *Fusarium* species associated with the pineapple plant and fruit, and their frequency in the main production areas of Costa Rica. **Material and methods.** The experiments were performed at the University of Costa Rica, San Jose, from 2015 to 2019. Pathogenicity tests were carried out using inoculation with six *Fusarium* species, in bracts, peduncles, and fruits of pineapple, and it was verified using Koch's postulates. By collecting 120 isolates, the frequency of *Fusarium* species in the producing areas was established. **Results.** All *Fusarium* species caused damage to bracts. The largest lesions were caused by *F. oxysporum*. In fruit, internal lesions were observed in the pulp with *F. ananatum*, and a correlation between lesion size and the concentration of inoculated conidia, was found. In the peduncle and pulp, lesion diameter varied among *Fusarium* species. Regarding frequency, all *Fusarium* species were present in the Huetar Norte region, and *F. ananatum* was more abundant in all producing regions, except for the Brunca region. **Conclusions.** All the species analyzed were pathogenic in the pineapple crop, in bracts, peduncles, and fruit, where *F. oxysporum* and *F. ananatum* caused the greatest lesions. The presence in all pineapple areas, the pathogenic potential, and the production of mycotoxins determine the importance of taking precise measures to control and prevent the dispersion of the species of this genus.

**Keywords:** *Ananas comosus*, postharvest diseases, molds phytopathology.

## Introducción

La piña [*Ananas comosus* (L.) Merr.] es conocida como ananá, ananás o matzatli (en lengua náhuatl), de acuerdo a la región donde se nombre, pertenece a la familia de la bromeliáceas y es nativa de Sur América (Chen et al., 2019).

Esta fruta es uno de los cultivos tropicales más importantes en América, África y Asia, donde la producción mundial para el año 2022, fue de 3,2 millones de t de fruta fresca (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2023).

Costa Rica destaca como uno de los mayores productores y exportadores a nivel mundial, con una producción de 2,9 millones de t y una exportación de 2,0 millones de t, para el año 2022 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2023). El 18 % de las exportaciones totales de cobertura agrícola del país corresponden al cultivo de piña (Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria [SEPSA], 2023). Por otra parte, la Unión Europea y Estados Unidos son los principales importadores de la piña costarricense (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2023).

La variedad comercial de piña de más demanda en la Unión Europea y Estados Unidos es el híbrido MD-2 conocido como “Golden Ripe”, “Honey Golden”, “Golden Sweet”, “piña miel”, el cual se cultiva desde el año 1996 en Costa Rica, en un área aproximada de 65 442,41 ha dedicadas al cultivo que corresponden al 1,28 % del territorio nacional (Monitoreo de Cambio de Uso en Paisajes Productivos [MOCUPP], s.f.), donde CANAPEP reporta un total de 43 000 ha cultivadas (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña [CANAPEP], 2023), en referencia al área sembrada efectiva.

El cultivo de piña está distribuido un 68 % en la región Huetar Norte (predominantemente en los cantones de San Carlos y Los Chiles), un 19 % en la región Huetar Caribe, un 1 % en la región Pacífico Central (donde predomina el cantón de Buenos Aires) y un 12 % en la región Brunca (MOCUPP, s.f.).

Un aumento en la producción de piña a consecuencia de la alta demanda mundial del fruto ha favorecido la aparición de problemas relacionados con la producción y el manejo poscosecha, los cuales no solo afectan a productores, sino que también a exportadores e importadores (Pereira Arguedas, 2016). Uno de los principales es el daño mecánico del fruto durante el transporte que favorece la aparición de enfermedades y dificulta el manejo de problemas fitosanitarios, que pueden disminuir la producción y calidad de la fruta (Cano-Reinoso et al., 2021). Algunos problemas fitosanitarios se ven incrementados por la aparición de patógenos comunes, como son *Phytophthora* spp. (Ratti et al., 2018), *Fusarium* spp. (Blanco-Meneses et al., 2022) y *Erwinia* spp. (Cano-Reinoso et al., 2021).

Dentro del género *Fusarium*, *F. guttiforme*, el agente causal de la enfermedad conocida como fusariosis en piña (Nirenberg & O'Donnell, 1998), es considerada como la mayor amenaza para este cultivo en el ámbito mundial. Esto se debe, probablemente, a la alta susceptibilidad que presentan las principales variedades comerciales de piña, entre estas el híbrido "MD-2". Actualmente, esta enfermedad solo se encuentra en Brasil (de Lira Júnior et al., 2023), sin embargo, se han realizado publicaciones en el pasado de su presencia en Argentina (Rohrbach, 1994), Chile (Montealegre & Luchsinger, 1990), Bolivia (de Matos & Mourichon, 1992), y Cuba (Borrás et al., 2001). En Hawái, una enfermedad similar se reportó, sin embargo, el nombre del patógeno fue clasificado erróneamente (Nirenberg & O'Donnell, 1998).

En el año 2022 se reportó la presencia de seis especies de *Fusarium* en plantaciones de piña en Costa Rica (Blanco-Meneses et al., 2022). Dentro de estas, *F. ananatum* descrito como el agente causal de la pudrición del centro del frutículo (PCF) (en inglés, fruitlet core rot, FCR) (Barral et al., 2020; Gu et al., 2015; Vignassa et al., 2021). Esta enfermedad es también conocida como la pudrición negra y afecta los frutos de piña, principalmente durante el periodo de maduración (Vignassa et al., 2021). La PCF fue inicialmente reportada en Australia a finales del siglo XIX y por mucho tiempo patógenos como *Fusarium verticillioides* (= *F. moniliforme*) y *Penicillium funiculosum* fueron considerados como los agentes causales (Barral et al., 2017). Sin embargo, los avances en la identificación mediante técnicas moleculares reconocieron a *F. ananatum* y a *Talaromyces funiculosus* como los agentes causales de la PCF en China, Sur África, Mauricio y la Isla Reunión, en variedades Smooth Cayenne y Queen Victoria (Barral et al., 2017; Jacobs et al., 2010; Lim & Rohrbach, 1980; Petty et al., 2006; Vignassa et al., 2021). Las publicaciones más recientes indican que en Brasil la PCF es causada por el complejo de especies de *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. sacchari*, *T. stollii* y *T. amestolkiae* en el cultivar de piña Queen Victoria (Vignassa et al., 2021) y en Taiwán se identificó la asociación de los patógenos *Talaromyces amestolkiae*, *T. funiculosus*, *T. stollii*, *Fusarium ananatum*, *F. oxysporum*, y *F. annulatum*, en el cultivar susceptible TN20 mediante un análisis filogenético (Liang et al., 2024).

*F. ananatum* es capaz de penetrar los tejidos y permanecer latente mientras crece el fruto (Barral et al., 2017). Además, este patógeno se ve favorecido por temperaturas cercanas a los 25 °C y una alta humedad durante su desarrollo (Fournier et al., 2015). Una vez que inicia el proceso de infección, puede causar una necrosis interna en el fruto que inicia en las brácteas; con el tiempo pasa a una pudrición clara y suave, y culmina con una pudrición oscura y seca, a medida que se aproxima a la maduración y cosecha. Es común que los síntomas no sean visibles externamente, lo que hace más difícil su diagnóstico (Barral et al., 2017).

En Costa Rica también se han identificado otros patógenos que representan un riesgo en el cultivo, entre estos *F. oxysporum*, asociado a síntomas en plantas y frutos de piña; y *F. proliferatum*, el cual se considera de riesgo para la salud humana y animal por la producción de micotoxinas, sin embargo, se necesitan realizar estudios para determinar si las especies halladas en el país son micotoxigénicas (Blanco-Meneses et al., 2022). Debido a la presencia de estos patógenos y al problema que representan, el objetivo de la presente investigación fue determinar la patogenicidad de diferentes especies de *Fusarium* asociadas a la planta y fruto de piña, y su frecuencia en las principales zonas de producción de Costa Rica.

## Materiales y métodos

### Aislamientos de *Fusarium* spp.

Se utilizaron aislamientos de las colecciones crioconservadas localizadas en el Laboratorio de Fitopatología, del Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC) y del Laboratorio de Tecnología Poscosecha, del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA), colectados en investigaciones previas entre 2015-2019.

La investigación se dividió en dos ensayos principales, el primero fue un análisis de patogenicidad donde se seleccionaron aislamientos representativos de las cinco especies del género *Fusarium* (Cuadro 1) asociadas al cultivo de piña. En el segundo ensayo, para verificar las frecuencias de las especies presentes en el país en las regiones productoras se utilizaron los resultados de la secuenciación de 120 aislamientos presentes en la colección. Estos resultados fueron asociados a los síntomas encontrados en plantas y frutos, y a la identificación molecular previa de las especies (Blanco-Meneses et al., 2022).

**Cuadro 1.** Aislamientos de *Fusarium* spp. utilizados en pruebas de de patogenicidad en plantas y frutos de piña, Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-2019

**Table 1.** *Fusarium* spp. isolates used in pathogenicity tests on pineapple plants and fruits. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019.

Aislamiento	Origen en planta (cs/ss)	Identificación	Distrito	Cantón /provincia
28c	fruto/cáscara/ ss	<i>F. oxysporum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
23Bc2	fruto/cáscara/ ss	<i>F. oxysporum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
41	primordio radical/ cs	<i>F. concolor</i>	Veracruz, Pital	San Carlos, AL
17B1	tallo/ cs	<i>F. solani</i>	San Julián, Pto Viejo	Sarapiquí, HE
31B	fruto/cáscara/ ss	<i>F. proliferatum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
1	fruto/ ss	<i>F. ananatum</i>	Llano Grande	Sarapiquí, HE
34Bc1	fruto/ ss	<i>F. ananatum</i>	Veracruz, Pital	San Carlos, AL
49A	pedúnculo/ cs	<i>F. ananatum</i>	San Marcos, Cutris	San Carlos, AL
30c	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
46AB	base del tallo/ cs	<i>F. ananatum</i>	San Marcos, Cutris	San Carlos, AL
6c1	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	Llano Grande	Sarapiquí, HE
46B	Cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	San Marcos, Cutris	San Carlos, AL
		<b>F.</b>		
3-1B	base del tallo/ cs	<i>F. ananatum</i>	Llano Grande	Sarapiquí, HE
49-1A	Cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	San Marcos, Cutris	San Carlos, AL
SC-1	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
SC-2	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
SC-3	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
SC-4	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	La Legua, Pital	San Carlos, AL
SC-5	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	Río Cuarto	Río Cuarto, AL
SC-6	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	Río Cuarto	Río Cuarto, AL
SC-7	fruto/cáscara/ ss	<i>F. ananatum</i>	Río Cuarto	Río Cuarto, AL

AL= Alajuela, HE= Heredia, cs= con síntomas, ss= sin síntomas. / AL = Alajuela, HE = Heredia, cs = with symptoms, ss = without symptoms.

## Material vegetal utilizado

En el primer ensayo de evaluación utilizando pruebas de patogenicidad, se utilizaron brácteas y frutos de piña. Para la prueba en brácteas, el material vegetal se recolectó en plantas del híbrido MD-2, proveniente de una parcela en el Roble de Sarapiquí, con un manejo libre en la aplicación de fungicidas.

Se seleccionaron brácteas provenientes de plantas de 3 meses de edad, que se separaron de la corona y se desinfectaron superficialmente con una toalla humedecida con alcohol al 70 %. Posteriormente, en el corte de la bráctea se aplicó una solución del fungicida protector captan, en una dosis de 12 g/L, para prevenir el ingreso de otros patógenos por la herida.

Las brácteas se colocaron en cajas plásticas cerradas con papel toalla en la parte inferior, y se agregó una película de 250 mL de agua destilada y tres gotas de glicerina para mantener la humedad dentro de las cajas. Las brácteas se colocaron sobre una malla de cedazo para evitar el contacto directo con el agua.

Para la prueba en frutos, se seleccionaron piñas a partir de producto de calidad comercial proveniente de empacadoras de Río Cuarto, Alajuela. Los frutos se trasladaron al Laboratorio de Tecnología Poscosecha del CIA donde se lavaron y desinfectaron por medio de inmersión en una solución de 100 ppm de hipoclorito de sodio, durante 30 s. Posteriormente, se escurrió la fruta y se dejó secar, previo a la inoculación.

## Inoculación de *Fusarium* spp. en brácteas de piña

Las colonias fúngicas criopreservadas a -80 °C provenientes de cuatro especies de *Fusarium* (Cuadro 1), *F. ananatum*, *F. oxysporum*, *F. solani* y de *F. concolor* se reactivaron en medio Papa Dextrosa Agar (PDA, Potato Dextrose Agar), en una cámara de incubación a 25 °C durante 15 días. Para la inoculación de las brácteas se realizó una herida en forma de "X", con una aguja estéril, en el extremo basal de la bráctea. En la herida se colocó un disco de 5 mm de diámetro del micelio de la colonia reactivada en PDA. Este procedimiento se llevó a cabo con cada una de las cuatro especies a evaluar (*F. solani*, *F. oxysporum*, *F. ananatum* y *F. concolor*). En el caso del testigo se agregó una gota de agua destilada estéril.

Luego de la inoculación, las brácteas fueron transferidas nuevamente a las cámaras húmedas que se cerraron con una tapa plástica hermética y se colocaron a temperatura ambiente del laboratorio, por un período de ocho días. Transcurrido el período de incubación se procedió a evaluar la presencia de síntomas, específicamente la longitud de la lesión ocasionada por las diferentes especies de *Fusarium* spp.

Se utilizó un diseño irrestricto al azar, con cinco tratamientos (las cuatro especies de *Fusarium* y el testigo) con tres repeticiones, cada una con cinco brácteas. Para el análisis de los resultados se utilizó el programa estadístico InfoStat versión 2020 (Di Rienzo et al., 2020) y se realizó un análisis de varianza y la prueba de separación de medias DGC ( $p < 0,05$ ).

## Inoculaciones de *Fusarium* spp. en frutos de piña

Para la prueba, se utilizaron veinte aislamientos monospóricos de *Fusarium* spp. previamente identificados por medios moleculares (Cuadro 1), de los cuales dieciséis correspondieron a *F. ananatum*, dos a *F. oxysporum* y uno de las especies *F. proliferatum* y *F. concolor*.

Para la preparación de la suspensión madre de conidios, se agregó 10 mL de agua destilada estéril sobre las colonias crecidas en placa Petri correspondiente a cada aislamiento. Se raspó la superficie con un asa y se recolectaron los conidios por medio del filtrado en un vaso de precipitado con gasa. Se agregaron dos gotas

de Tween 80® y se agitó la suspensión durante 10 min. Con la ayuda de un hematocitómetro se prepararon concentraciones a  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  UFC/mL (French & Hebert, 1980).

De cada suspensión se tomó 0,1 mL por medio de una jeringa estéril. y se inyectó de forma independiente en la pulpa de frutículos de la zona superior, media y basal, en ambos lados de los frutos, y en el corte del pedúnculo., Se utilizó un testigo con agua destilada estéril. Además, se marcó la bráctea inferior de la corona para guiar las líneas de ubicación de los frutículos en los que se inyectó el inóculo.

Los frutos inoculados se almacenaron durante dos días en cámaras húmedas a temperatura ambiente (22 °C). Posteriormente, se dejaron a la misma temperatura durante ocho días fuera de las cámaras húmedas, para luego evaluar el diámetro de la lesión a nivel del corte del pedúnculo y la pulpa.

El diseño del experimento fue un irrestricto al azar, con arreglo factorial (dos factores: aislamiento y concentración de conidios), con tres frutas por cada concentración de conidios, para un total de nueve frutas. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para comparar el efecto de los aislamientos, concentraciones y la interacción de estos sobre el diámetro, y sus medias se compararon con una prueba DGC ( $p < 0,05$ ) (Di Rienzo, Guzmán y Casanoves) (Di Rienzo et al., 2002).

### Comprobación de postulados de Koch

Cada uno de los aislamientos de las cinco especies de *Fusarium* (*F. ananatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. proliferatum* y *F. concolor*) se identificó mediante secuenciación de la región parcial del factor de elongación 1- $\alpha$  (EF-1 $\alpha$ ) (O'Donnell et al., 1998), previo a la inoculación. Una vez finalizada la comprobación, los microorganismos se aislaron a partir de las lesiones desarrolladas en las brácteas y frutos, y se realizó nuevamente la secuenciación del EF-1  $\alpha$  para comprobar la presencia de las especies de *Fusarium*.

### Frecuencia de las especies de *Fusarium* por zona de producción

El análisis de frecuencia de las especies de *Fusarium* presentes en las regiones de producción de Costa Rica se realizó mediante el muestreo de un total de 215 plantas sintomáticas del híbrido MD-2 en las regiones Huetar Norte (147 plantas y 20 frutos), Huetar Atlántica (33 plantas), Pacífico Central (7 plantas), y Brunca (8 plantas).

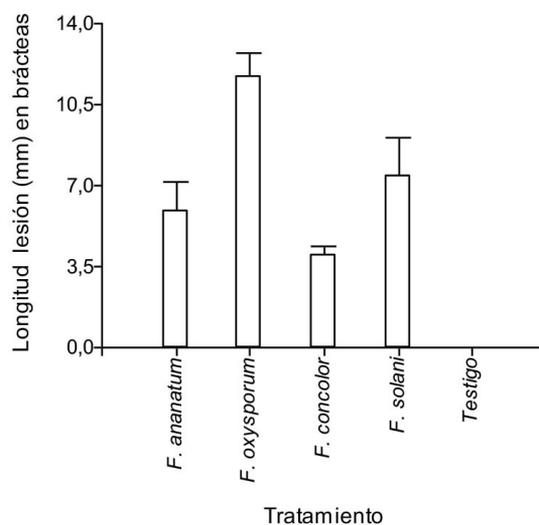
Se obtuvo un total de 120 aislamientos monospóricos cultivados en PDA, 102 de la región Huetar Norte, 16 de la región Huetar Atlántica, 1 de la región Pacífico Central, y 1 de la región Brunca. Del total 101 provenían de la planta (raíz y porción aérea) y 19 provenían de fruto, los cuales se secuenciaron con el ITS ribosomal (White et al., 1990) y la región parcial del factor de elongación 1- $\alpha$  (EF-1 $\alpha$ ) (O'Donnell et al., 1998). Las secuencias obtenidas se compararon en el GenBank, NCBI con secuencias previamente depositadas, y se identificó la especie de *Fusarium* presente para cada aislamiento (Blanco-Meneses et al., 2022).

La frecuencia de las diferentes especies de *Fusarium* en plantas de piña se determinó para cada una de las regiones piñeras de donde se recolectaron los aislamientos iniciales. La frecuencia se analizó por medio del conteo del número de aislamientos de cada especie recolectados en una región, dividido por el número de aislamientos totales colectados en esa región.

## Resultados

### Prueba de patogenicidad con *Fusarium* spp. en brácteas de piña

Al comparar la patogenicidad de las diferentes especies evaluadas se encontraron diferencias significativas (valor de  $p < 0,05$ ) entre la longitud de la lesión causada por las especies de *Fusarium*, con respecto al tratamiento testigo (Figura 1).



**Figura 1.** Longitud de la lesión (mm), en brácteas de piña inoculadas con diferentes especies de *Fusarium*. Prueba DGC ( $p < 0,05$ ). Barras corresponden al error estándar. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-2019.

**Figure 1.** Lesion length (mm), in pineapple bracts inoculated with different *Fusarium* species. DGC test ( $p < 0,05$ ). Bars correspond to the standard error. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019.

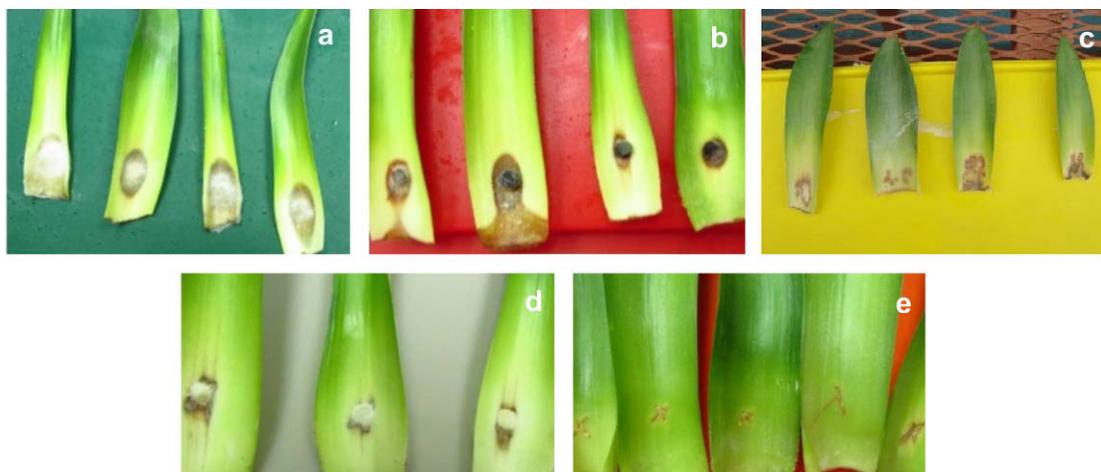
El daño observado en la bráctea consistió en una necrosis alrededor del punto de inoculación, con una mancha sin borde definido rodeando a un centro blanquecino hundido. La lesión de mayor tamaño fue causada por *F. oxysporum* (Figura 2a) y fue significativamente diferente en longitud a las lesiones ocasionadas por las otras especies evaluadas, entre las que no se encontraron diferencias significativas (Figuras 2b, 2c y 2d). En las lesiones ocasionadas por los patógenos *F. oxysporum* y *F. solani* (Figura 2a y 2b), se observó el crecimiento de micelio, del cual se extrajeron conidios mediante el raspado y observación al microscopio. Las inoculaciones con *F. concolor* (Figura 2d) causaron las lesiones más pequeñas de las cuatro especies de *Fusarium* evaluadas.

La presencia de las especies de *Fusarium* inoculadas se comprobó por medio de secuenciación con la región parcial del EF-1  $\alpha$ . Esto se logró a partir de aislamientos obtenidos de las lesiones en las brácteas, lo que confirmó la presencia de las especies en cada una de las lesiones observadas.

### Pruebas de patogenicidad con *Fusarium* spp. en frutos de piña

Se tomaron fotografías de las características de los síntomas del fruto y el avance en los frutos inoculados (Figura 3). Las lesiones mostraron tonalidades muy parecidas de color café, consistentes e inoloras, con variaciones en el tamaño, que se observaron principalmente en la parte interna correspondiente a la pulpa (Figura 3a, 3b y 3c), y presentaron una forma semejante en respuesta a la inoculación de los aislamientos de las cuatro especies utilizadas. En el caso del tratamiento testigo que se inoculó con agua destilada estéril, no se observó el desarrollo de síntomas (Figura 3d).

El análisis estadístico para evaluar el diámetro de la lesión en la pulpa del fruto (Cuadro 2), mostró diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) para los aislamientos y las concentraciones utilizadas, y resultó significativa la interacción de los factores denominados aislamiento y concentración de conidios.



**Figura 2.** Síntomas observados en brácteas de piña inoculadas con las diferentes especies de *Fusarium*, (a) *F. oxysporum*, (b) *F. solani*, (c) *F. ananatum*, (d) *F. concolor* y (e) testigo. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-2019.

**Figure 2.** Symptoms observed in pineapple bracts caused by the inoculation with different *Fusarium* species, (a) *F. oxysporum*, (b) *F. solani*, (c) *F. ananatum*, (d) *F. concolor* and (e) blank. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019.



**Figura 3.** Sintomatología en frutos de piña luego de inoculación Pruebas de patogenicidad con especies de *Fusarium* (a) Detalle de síntoma interno en fruto de piña, inoculado con *F. ananatum*. (b) Avance de lesión en pulpa de fruto inoculado con *F. ananatum*, (c) Condición interna de fruto inoculado con solo agua, (d) Síntomas en pulpa en los puntos de inoculación con *F. proliferatum*. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Recolectados entre 2015-2019.

**Figure 3.** Symptoms in pineapple fruits after inoculation with *Fusarium* species (a) Internal symptoms in pineapple fruit inoculated with *F. ananatum*. (b) Progress of the lesion in pulp of fruit inoculated with *F. ananatum*. (c) The internal condition of fruit inoculated with water, (d) Symptoms in the pulp at the point of inoculation with *F. proliferatum*. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Collected between 2018-2019.

**Cuadro 2.** Diámetro de la lesión en pulpa de piña para aislamientos y concentración de conidios inoculados. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-2019.

**Table 2.** Diameter of lesion in pineapple pulp for isolates and concentration of inoculated conidia. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019.

Aislamiento	Especie	Diámetro de lesión (cm)			
		Concentración de conidios/mL			
		1x10 <sup>4</sup>	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>	Media
SC-5	<i>F. ananatum</i>	0,3 A	0,5 A	1,4 B	0,7
28c	<i>F. oxysporum</i>	0,8 A	0,7 A	1,5 B	1,0
46B	<i>F. ananatum</i>	0,4 A	1,2 B	1,4 B	1,0
23Bc2	<i>F. oxysporum</i>	0,7 A	1,4 B	1,1 B	1,1
SC-4	<i>F. ananatum</i>	1,1 B	0,7 A	1,6 B	1,1
34Bc1	<i>F. ananatum</i>	0,8 A	1,4 B	1,2 B	1,1
3-1B	<i>F. ananatum</i>	1,2 B	0,9 B	1,3 B	1,1
49-1A	<i>F. ananatum</i>	1,0 B	1,3 B	1,3 B	1,2
SC-6	<i>F. ananatum</i>	1,0 B	1,3 B	1,6 B	1,3
46AB	<i>F. ananatum</i>	1,0 B	1,0 B	2,0 B	1,3
49A	<i>F. ananatum</i>	1,0 B	1,3 B	1,7 B	1,3
1	<i>F. ananatum</i>	1,0 B	1,7 B	1,5 B	1,4
SC-7	<i>F. ananatum</i>	0,9 B	2,0 B	1,5 B	1,5
31 B	<i>F. proliferatum</i>	1,3 B	1,9 B	1,6 B	1,6
SC-2	<i>F. ananatum</i>	1,3 B	1,6 B	2,0 B	1,6
6-c1	<i>F. ananatum</i>	2,0 B	1,3 B	1,8 B	1,7
SC-1	<i>F. ananatum</i>	1,6 B	1,8 B	1,6 B	1,7
SC-3	<i>F. ananatum</i>	1,6 B	1,8 B	1,8 B	1,7
30c	<i>F. ananatum</i>	1,7 B	2,0 B	1,8 B	1,8
41	<i>F. concolor</i>	2,0 B	2,0 B	1,8 B	1,9
ANDEVA-DGC	p-valor				
Aislamiento	<0,0001				
Concentración	<0,0001				
Aislamiento*Concentración	<0,0001				

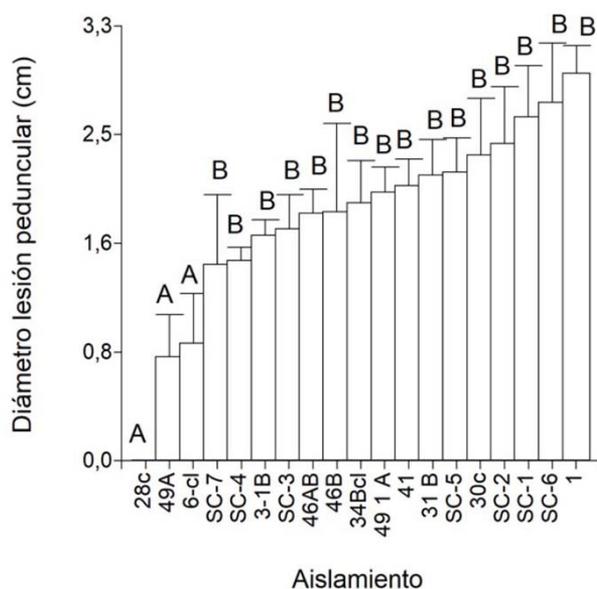
Medias en cada fila con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ). / Means in each row with a common letter are not significantly different ( $p > 0,05$ ).

El aislamiento SC-5 de *F. ananatum* causó la lesión de menor tamaño, con un incremento del diámetro conforme se aumentó la concentración de conidios. Este mismo comportamiento se observó para otros aislamientos de esa misma especie (46 B y 34 Bc1), así como para dos aislamientos de la especie *F. oxysporum* (28c, 23Bc2). Con el aislamiento SC-4 correspondiente a *F. ananatum* se encontró una respuesta distinta, resultando la lesión de menor diámetro cuando se inoculó la concentración intermedia de conidios (1x10<sup>5</sup> conidios/mL).

Los restantes aislamientos no presentaron diferencias en el diámetro de la lesión y las concentraciones de conidios aplicadas ( $p > 0,05$ ). Las lesiones de mayor diámetro correspondieron con aislamientos de *F. ananatum*, *F. proliferatum* y *F. concolor*.

Para las inoculaciones realizadas en la zona peduncular se observaron diferencias significativas entre aislamientos ( $p < 0,0001$ ), no se encontró interacción estadísticamente significativa entre aislamiento y las

concentraciones de conidios. Las lesiones de menor tamaño fueron causadas por los aislamientos de *F. ananatum* (49A y 6-c1) y *F. oxysporum* (28c) (Figura 4). Un segundo grupo estuvo conformado por aislamientos de *F. ananatum* y *F. concolor* entre los que se encontraron los más virulentos y presentaron un mayor tamaño de lesión. No se desarrollaron síntomas en zona peduncular en los frutos a los que se inoculó agua destilada estéril.



**Figura 4.** Diámetro de lesión peduncular en piña según aislamientos inoculados, prueba DGC. \*0023Bc2 no se encuentra en la figura debido a un error en la toma de datos. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-2019. Barras con diferente letra son diferentes estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ).

**Figure 4.** Diameter of peduncular lesion in pineapple according to inoculated isolates, DGC test. \*0023Bc2 is not found in the figure due to an error in data collection. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019. Bars with different letters are statistically different ( $p \leq 0.05$ ).

Al realizar un raspado del micelio presente en el fruto y el pedúnculo se encontraron microconidios y macroconidios de *Fusarium* spp. Estos fueron aislados en PDA y mediante secuenciación de la región parcial del EF-1 $\alpha$  se identificó la presencia de las mismas especies que habían sido inoculadas. De esta manera se comprobaron los postulados de Koch.

### Frecuencia de especies de *Fusarium* en piña, por zona de producción

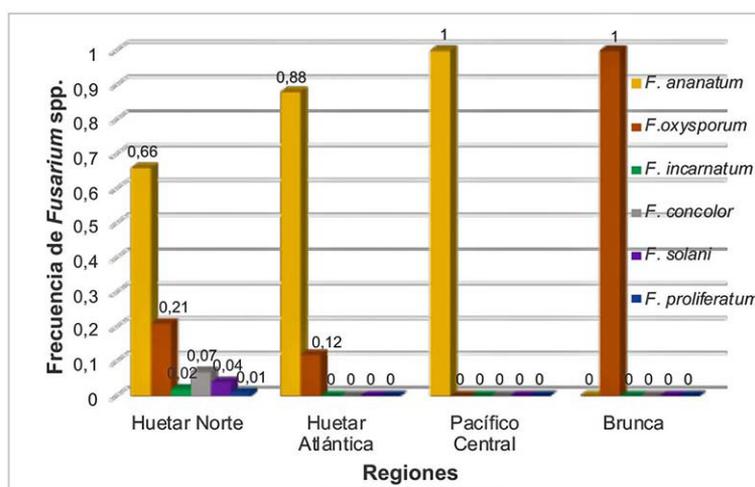
Al analizar la frecuencia de las especies analizadas de *Fusarium* (Cuadro 3), se encontró una preponderancia de *F. ananatum*, seguida de *F. oxysporum*. Las especies *F. concolor*, *F. solani*, *F. incarnatum* y *F. proliferatum* se hallaron en bajas frecuencias con 0,05, 0,03, 0,02 y 0,01 respectivamente.

Se estableció la presencia de las especies de *Fusarium* de acuerdo con la distribución en las regiones productoras de piña (Figura 6). Se obtuvo un total de 102 aislamientos a partir del muestreo en la zona Huetar Norte, que fue la región con mayor número de muestras y que también posee la mayor área sembrada en el cultivo de piña con 44 193,75 ha (Figura 7). En la región Huetar Atlántica se obtuvo un total de dieciséis aislamientos, y únicamente un aislamiento para cada una de las regiones Pacífico Central y Brunca.

**Cuadro 3.** Frecuencia de las especies de *Fusarium* aisladas de diferentes partes (tallo, raíz y fruto) de plantas de piña de Costa Rica. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-2019.

**Table 3.** Frequency of *Fusarium* species isolated from different parts (stem, root, fruit) of pineapple plants from Costa Rica. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019.

Especie	Cantidad de aislamientos	Frecuencia
<i>F. ananatum</i>	81	0,68
<i>F. oxysporum</i>	26	0,22
<i>F. concolor</i>	6	0,05
<i>F. solani</i>	4	0,03
<i>F. incarnatum</i>	2	0,02
<i>F. proliferatum</i>	1	0,01
Total de aislamientos	120	

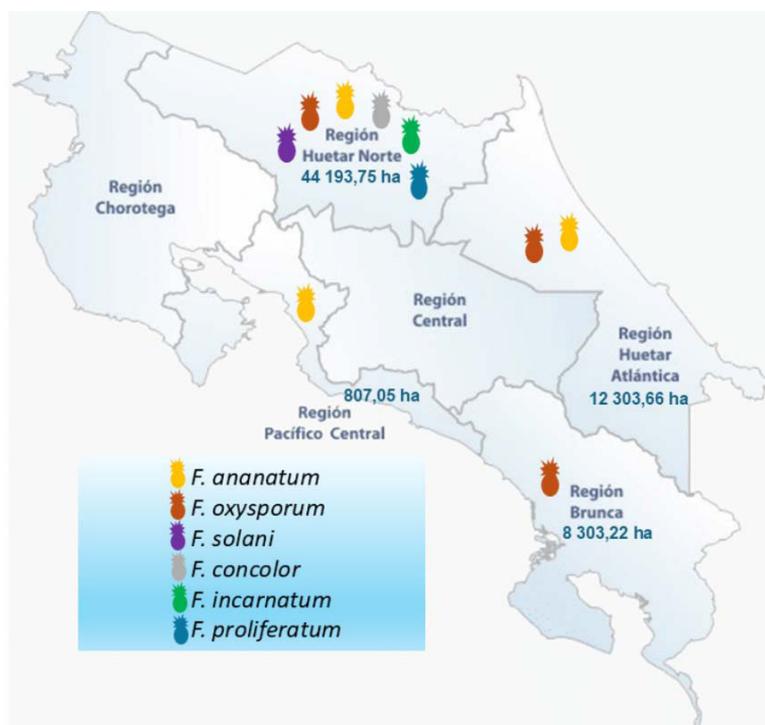


**Figura 6.** Frecuencia de las especies de *Fusarium* en Costa Rica de acuerdo con la región productora de piña. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-20219

**Figure 6.** Frequency of *Fusarium* species in Costa Rica according to the pineapple-producing region. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019.

Es evidente una mayor presencia de *F. ananatum* en todas las regiones, a excepción de la Brunca, donde no estuvo presente. En segundo lugar, se encuentra *F. oxysporum*, con mayor frecuencia en las regiones Brunca, Huetar Norte y Huetar Atlántica. Las especies *F. concolor*, *F. solani*, *F. incarnatum* y *F. proliferatum*, tuvieron frecuencias muy bajas, y únicamente se aislaron de la región Huetar Norte (Figura 6).

Se observa una mayor frecuencia de *Fusarium* en la Región Huetar Norte, donde todas las especies aisladas están presentes. En la región Atlántica, se encuentra la segunda área más productiva de piña y se puede observar únicamente la presencia de las especies patogénicas *F. ananatum* y *F. oxysporum*. Una menor presencia de especies se observó en las regiones más pequeñas a nivel productivo: la Brunca y la Pacífico Central (Figura 7).



**Figura 7.** Distribución de las especies de *Fusarium* y área sembrada (ha), por región productora de piña: Región Huetar Norte, Región Huetar Atlántica, Región Brunca, y Región Pacífico Central. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material recolectado entre 2015-2019.

**Figure 7.** Distribution of *Fusarium* species and production area (ha), at pineapple-producing regions: Huetar Norte Region, Huetar Atlantica Region, Brunca Region, and Pacífico Central Region. Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica. Material collected between 2015-2019.

## Discusión

En estudios previos (Blanco-Meneses et al., 2022; Castro Chinchilla & Umaña Rojas, 2015; Vásquez & Mata, 2014) se identificaron seis especies de *Fusarium* presentes en el cultivo de piña en Costa Rica denominadas *F. oxysporum*, *F. ananatum*, *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. concolor* y *F. incarnatum*, sin embargo, se desconocía la patogenicidad de cada especie en el cultivo. Con este trabajo se comprueba la capacidad de *Fusarium* spp. de ocasionar daño en diferentes órganos de la planta de piña. Por otra parte, se reporta la presencia de una a las seis especies en las regiones productivas de piña en el país, lo que convierte a *Fusarium* en un patógeno con potencial de afectar el cultivo, para lo cual, se deben tomar medidas de contención. Al menos cuatro especies logran causar una sintomatología distintiva en los diferentes órganos de la planta y una ausencia de síntomas visibles en la fruta de piña, lo que incluye al híbrido MD-2, que se produce mayormente en el país, lo que conlleva a pérdidas en producción, tanto en campo como en poscosecha.

Las pruebas de patogenicidad realizadas con las especies de *Fusarium* aisladas a partir de tejido de plantas y frutos de piña sintomáticos y asintomático, entre los años 2015-2019 (Blanco-Meneses et al., 2022), indican que al menos cuatro especies analizadas causaron daño en brácteas y frutos de piña, con lesiones que variaron en tamaño.

En las brácteas, *F. oxysporum* fue la especie más virulenta o agresiva en el material vegetal. Muestras realizadas en el año 2014 en plantas de piña, provenientes de la zona de Venecia, San Carlos, Costa Rica, con síntomas de marchitez, pérdida de vigor y daño severo en el sistema vascular, permitieron identificar a *F. oxysporum* como el agente causal del daño (Vásquez & Mata, 2014).

*F. solani* también causó daños significativos en las brácteas, lo cual se debe probablemente al comportamiento necrotrófico de este patógeno. En Costa Rica hasta el momento, *F. solani* no ha sido considerado como de importancia en la producción del cultivo de piña, sin embargo, en países como China (Zhang et al., 2024) y Malasia (Ibrahim et al., 2015) esta especie se menciona como el agente causal de la mancha foliar y de las pudriciones en el fruto.

La menor patogenicidad de *F. ananatum* en las brácteas en comparación con el daño que ocasionó *F. oxysporum* podría estar relacionado con lo establecido en investigaciones anteriores donde *F. oxysporum* produce problemas en la parte aérea y raíces del cultivo, y *F. ananatum* es el causante de PCF (Barral et al., 2020; Vignassa et al., 2021). Sin embargo, la capacidad de este género de estar presente en diferentes tejidos de la planta sea causando daños o de forma asintomática, podría favorecer el aumento del inóculo (estructuras reproductivas) sobre la superficie de la fruta y en las pilas de lavado, lo que puede aumentar la severidad del daño en diferentes partes de la planta.

En el fruto, *F. ananatum*, *F. proliferatum* y *F. concolor* mostraron una mayor agresividad en el desarrollo de las lesiones internas, en la pulpa y en el pedúnculo del fruto, lo que evidencia el potencial de estas especies de causar síntomas no visibles en el exterior de la fruta. Esto dificulta que sean rechazadas durante el proceso de selección en las empacadoras, los microorganismos pueden ser detectados en los mercados de destino y esto puede ocasionar pérdidas económicas importantes (Willis et al., 1998).

En el presente estudio se comprobó que fue suficiente una concentración de  $1 \times 10^4$  conidios/mL para el desarrollo de lesiones en pulpa y zona del pedúnculo de la fruta, y para un 30 % de los aislamientos conforme se incrementó la concentración de conidios hubo un mayor daño provocado por la lesión en la pulpa, lo que coincide con estudios de patogenicidad de *F. ananatum* en inflorescencias en campo (Gu et al., 2015). Lo anterior evidencia la importancia de tratamientos de desinfección en poscosecha que permitan reducir la carga microbiana de organismos sobre la superficie de la fruta (Castro Chinchilla & Umaña Rojas, 2015).

La presencia de síntomas al inocular la especie *F. concolor* en el fruto, demuestra la posible permanencia y adaptación de este organismo al cultivo de piña. Este patógeno ha sido descrito como productor de micotoxinas y se ha recobrado de lesiones patogénicas en cultivos como cebada y trigo, donde algunas cepas del hongo se han asociado a una baja producción de moniliformina; sin embargo, se reportan diferencias en cuanto al nivel de producción de estos compuestos, en relación con el cultivo analizado (Jacobs et al., 2010; Montoya-Martínez et al., 2019). Estas micotoxinas, además, pueden actuar tanto como factores de virulencia, así como factores de patogenicidad, dándole una ventaja a los patógenos que las producen y afectan el estado de la planta para defenderse (Hof, 2008; Sweany et al., 2022).

El desarrollo de síntomas a partir del inóculo de *F. oxysporum* y *F. ananatum* proveniente de frutos aparentemente sanos podría tener relación con la capacidad de hongos, como *F. subglutinans* f.sp. ananas (denominado actualmente como *F. guttiforme*), de vivir en la superficie de la fruta de piña sin causar enfermedad (Dianese et al., 1981), y la única limitante que impide la entrada es la barrera de protección en la fruta compuesta por cutina, lignina, ceras y sustancias como polifenoles (Barral et al., 2019; Castro Chinchilla & Umaña Rojas, 2015). Estas barreras naturales son afectadas por insectos u otras plagas, y durante la cosecha y el transporte, por daños mecánicos como golpes o heridas. De ahí la importancia de tomar medidas preventivas, en campo para reducir el impacto por plagas y en poscosecha, con la aplicación de tratamientos que puedan reducir las poblaciones de patógenos sobre la cáscara de la fruta (Castro Chinchilla & Umaña Rojas, 2015).

Cuando el inóculo se inyectó en la cáscara, para facilitar la llegada de las esporas a los tejidos no se observaron síntomas en el exterior, pero fueron muy evidentes a nivel de la pulpa. Lo anterior parece corroborar que la cáscara presenta una barrera para el ingreso de los patógenos estudiados (Barral et al., 2019; Castro Chinchilla & Umaña Rojas, 2015).

En las inoculaciones con *Fusarium* spp. en el pedúnculo se observó de forma general, que el avance de la lesión fue por el eje central, lo cual podría ser indicador de que el hongo tiene la capacidad de entrar a partir de los haces vasculares y afectar el interior de la fruta. De acuerdo con estas observaciones, la herida que se hace al fruto de piña en el momento de la cosecha para separar a la fruta de la planta madre tiene un gran potencial de ingreso de patógenos. Lo anterior indica la necesidad de continuar estudios relacionadas a este tema.

En este estudio se encontró que la presencia del patógeno *F. oxysporum* es más común en los tejidos del tallo, de la base de la planta y en las raíces. Esta especie se ha reportado como causante de una muerte regresiva en la planta, provoca desecamiento de las hojas, una notable pérdida de vigor de la plantación y severas lesiones a nivel vascular, específicamente en el tallo (Rojas Valdiviezo, 2020; Vásquez & Mata, 2014; Vásquez Jiménez, 2009).

En Brasil, *F. oxysporum* actúa simultáneamente con *F. ananatum* y *F. guttiforme*, y su ingreso se da por la raíz ya que puede mantenerse en suelo por largos períodos de tiempo (Ventura et al., 2009). También se reportó su presencia en la variedad Cayena Lisa en Perú y se ha relacionado a clorosis, enrojecimiento progresivo de las hojas basales hacia las hojas superiores, muerte regresiva de la planta, encarrujamiento o retorcimiento de puntas y necrosis, frutos pequeños atrofiados, cloróticos y vuelco de los frutos por encorchamiento de los pedúnculos (Rojas Valdiviezo, 2020).

Al analizar la frecuencia de las especies estudiadas, *F. ananatum* tuvo mayor presencia seguida por *F. oxysporum* en las zonas de producción. La primera apareció en todas las regiones productoras evaluadas, a excepción de la Brunca, mientras que la segunda estuvo presente en las regiones Huetar Norte, Huetar Atlántica y Brunca.

El muestreo a nivel de campo fue más intensivo en la región Huetar Norte, seguido por la Huetar Atlántica. En las otras regiones la cantidad de muestras recolectadas fue menor, lo cual se debió en parte, a que la mayor cantidad de área sembrada se encuentra en las primeras regiones Norte y Atlántica (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña [CANAPEP], 2023).

En el caso de plantas enfermas, el muestreo se enfocó en plantas que mostraban síntomas de marchitez o quema de puntas y amarillamiento, condiciones que se intensifican con la humedad, la cual es mayor en las regiones Huetar Norte y Huetar Atlántica. En el caso de los aislamientos obtenidos a partir de la fruta es importante tener presente que estos se seleccionaron de tejidos sintomáticos como asintomáticos.

A pesar de la baja frecuencia en la que fueron detectadas *F. concolor* y *F. incarnatum*, estas se reportaron previamente en frutos de piña provenientes de diferentes países y muestreados en supermercados (Stępień et al., 2011), sin embargo, no se conocía si eran especies con potencial patogénico presentes en el cultivo. Este es el primer trabajo en que se comprueba la presencia en campo y la patogenicidad de *F. concolor* y *F. incarnatum* en piña.

*F. proliferatum*, hongo recuperado con la menor frecuencia, es un organismo de riesgo pues es capaz de sintetizar la mayoría de las micotoxinas producidas por todos los miembros del género *Fusarium* (Ibrahim et al., 2020). *F. proliferatum* fue recuperado e identificado como causante del moho en el pedúnculo de piña, y se ha encontrado en múltiples análisis de muestras de frutos de piña, así como en diferentes fases del proceso poscosecha (Castro Chinchilla & Umaña Rojas, 2015; Castro Chinchilla & Umaña Rojas, 2017).

Es importante resaltar la presencia de seis microorganismos en el país, cinco con características ampliamente conocidas de ser fitopatógenos, *F. oxysporum*, *F. ananatum*, *F. solani*, *F. concolor* y *F. incarnatum* (conocida también como *F. semitectum*), y una con la característica de ser posible productor de micotoxinas, *F. proliferatum*. Aunque la presencia de estas seis especies no se dio en todas las regiones del país, el seguimiento y manejo del cultivo requiere medidas que impidan la dispersión de estos a otras regiones productoras de piña.

Modificaciones recientes debidas al cambio climático (aumento de temperatura, sequía o inundaciones), están afectando no solo la evolución rápida de los patógenos, que se ven forzados a mutar por cambios drástico en el ambiente biótico y abiótico que los rodea, sino también, que provocan modificaciones en las interacciones entre plantas y patógenos favorecen la aparición de nuevas variantes patogénicas (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2018; Singh et al. 2023). Esto se une a la carencia de medidas efectivas en el manejo de patógenos localizados en

suelo, como *Fusarium*, y a una clara tendencia a reducir el uso de formulaciones químicas, y a patógenos cuyos ciclos de vida se tornan más eficientes y les permiten sobrepasar las defensas de la planta de forma más efectiva (Timmusk et al., 2020).

Los resultados generados en este estudio indican la necesidad de dar un cercano seguimiento a estas especies en un ambiente agrícola donde se utilizan agroquímicos (especialmente fungicidas) que poseen ingredientes activos de diferentes modos de acción y donde se implementan constantemente formas de manejo innovadoras. Cambios en las condiciones ambientales generan modificaciones alrededor del cultivo y una presión de selección que podría facilitar el desarrollo de patógenos que aún no se consideran de importancia en el país. Por ejemplo, se han hallado especies de *Fusarium* poco estudiadas causando daños similares a los observados en regiones piñeras de otras localidades (Ibrahim et al., 2016a; Ibrahim et al., 2016b).

Para el control de los patógenos mencionados en este artículo se debe implementar un manejo integrado enfocado en diferentes aspectos. Dar un seguimiento efectivo al movimiento de semilla entre fincas es importante para evitar la dispersión de los mismos a lugares donde aún no están presentes. Se debe dar importancia a la detección temprana del daño que ocurre en plantas, con síntomas como amarillamiento, marchitez y necrosis del tallo, y en la fruta, donde es probable que no se observen daños externos, pero de forma interna exista el desarrollo de una lesión.

A nivel poscosecha es importante enfocarse en la protección del área del corte del pedúnculo y evitar daños innecesarios a la cáscara del fruto, ya que esta es una barrera efectiva para impedir el ingreso de patógenos, también se podría utilizar el control biológico, algunos microorganismos como la bacteria *Bacillus* spp. y el hongo *Trichoderma* spp., que actúan como supresores en el desarrollo de patógenos de suelo.

Tomar medidas como el saneamiento en campo que tengan como objetivo restringir la propagación de inóculo, la eliminación de plantas o partes de plantas infectadas, la descontaminación de herramientas en campo y poscosecha, y un adecuado plan de manejo mediante agroquímicos que prevengan la infección a nivel de suelo, tomando en cuenta el modo de acción y el límite residual máximo permitido de los productos (Vásquez Jiménez, 2009; Zakaria, 2023).

Con los resultados de este estudio, se comprueba la patogenicidad de especies recuperadas a partir de diferentes tejidos de piña de la variedad MD-2, algunas con potencial de producir micotoxinas, lo que evidencia la importancia de estrategias para el manejo del cultivo que incrementen los mecanismos de defensa de la planta ante las enfermedades, con los que cuentan las variedades más resistentes (Barral et al., 2019; Barral et al., 2020).

## Conclusiones

Se determinó que algunas especies de *Fusarium* son habitantes comunes en tejidos de piña y tienen capacidad patogénica en brácteas y frutos. La presencia de *F. oxysporum*, *F. ananatum*, *F. solani*, *F. concolor*, *F. incarnatum* y *F. proliferatum* en el cultivo de piña evidencia la importancia de un adecuado manejo del cultivo con el fin de disminuir el impacto que pueden tener algunos factores en el incremento de las poblaciones de estos microorganismos en campo y poscosecha.

Conforme a los resultados obtenidos, la especie más patogénica a nivel de brácteas fue *F. oxysporum* lo que concuerda con la presencia de síntomas más agresivos en plantas de diferentes partes del país. En fruto se encontró que *F. ananatum* es la especie que está presente en mayor medida.

Las inoculaciones de las diferentes especies en estudio en los frutos de piña, demostraron, que *F. ananatum* es capaz de ingresar a los tejidos por los haces vasculares. De acuerdo con este estudio parece, que la cáscara del fruto es una excelente barrera que impide la entrada de estos microorganismos siempre y cuando no presente heridas que se conviertan en puertas de entrada.

Un aumento en la frecuencia de patógenos como *F. ananatum* y *F. oxysporum*; aunado a la aparición de otras especies con un potencial patogénico y de producción de micotoxinas, determinan la importancia de realizar muestreos periódicos que permitan conocer la dinámica poblacional de las especies del género *Fusarium*, y los posibles factores que puedan favorecer cambios, con el objetivo de lograr medidas precisas para el control de las enfermedades, el mantenimiento en la calidad de la piña, además de la salud del consumidor.

### Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el apoyo a la investigación a través del proyecto 813-B4-230. Al Dr. Felipe Arauz, por la revisión del documentos y acertadas sugerencias al mismo. Al Servicio Fitosanitario del Estado, por su colaboración en la recolección de muestras sintomáticas en el territorio costarricense.

### Conflicto de intereses

No existe ningún conflicto de intereses entre los autores de este artículo.

### Referencias

- Barral, B., Chillet, M., Doizy, A., Grassi, M., Ragot, L., Léchaudel, M., Durand, N., Rose, L. J., Viljoen, A., & Schorr-Galindo, S. (2020). Diversity and toxigenicity of fungi that cause pineapple fruitlet core rot. *Toxins*, 12(5), Article 339. <https://doi.org/10.3390/toxins12050339>
- Barral, B., Chillet, M., Léchaudel, M., Lartaud, M., Verdeil, J. L., Conéjéro, G., & Schorr-Galindo, S. (2019). An imaging approach to identify mechanisms of resistance to pineapple fruitlet core rot. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 1065. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01065>
- Barral, B., Chillet, M., Minier, J., Léchaudel, M., & Schorr-Galindo, S. (2017). Evaluating the response to *Fusarium ananatum* inoculation and antifungal activity of phenolic acids in pineapple. *Fungal Biology*, 121(12), 1045-1053. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.09.002>
- Blanco-Meneses, M., Castro-Zúñiga, O., & Umaña-Rojas, G. (2022). Estudio preliminar de especies de *Fusarium* presentes en piña (*Ananas comosus*) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 46(1), 47-64. <https://doi.org/10.15517/rac.v46i1.49867>
- Borrás, O., Santos, R., Matos, A. P., Cabral, R. S., & Arzola, M. (2001). A first attempt to use a *Fusarium subglutinans* culture filtrate for the selection of pineapple cultivars resistant to fusariosis disease. *Plant Breeding*, 120, 435-438. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2001.00626.x>
- Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña. (2023). Estadísticas. <https://canapep.com/estadisticas/>
- Cano Reinoso, D. M., Soesanto, L., Kharisun, K., & Wibowo, C. (2021). Review: Fruit collapse and heart rot disease in pineapple: pathogen characterization, ultrastructure infections of plant and cell mechanism resistance. *Biodiversitas*, 22(5), 2477-2488. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220504>

- Castro Chinchilla, J., & Umaña Rojas, G. (2015). Poblaciones e identificación de los hongos causantes de mohos poscosecha en el pedúnculo de la piña, en dos zonas de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 41(2), 17-25. <https://doi.org/10.15517/rac.v39i3.21792>
- Castro Chinchilla, J., & Umaña Rojas, G. (2017). Frecuencia de los hongos asociados al desarrollo de mohos poscosecha en el pedúnculo de la piña en dos zonas de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 39(3), 61-77. <https://doi.org/10.15517/rac.v41i2.31296>
- Chen, L. Y., VanBuren, R., Paris, M., Zhou, H., Zhang, X., Wai, C. M., Yan, H., Chen, S., Alonge, M., Ramakrishnan, S., Liao, Z., Liu, J., Lin, J., Yue, J., Fatima, M., Lin, Z., Zhang, J., Huang, L., Wang, H., Hwa, T., Kao, S., Choi, J. Y., Sharma, A., Song, J., Wang, L., Yim, W., Cushman, J., ... Ming, R. (2019). The bracteatus pineapple genome and domestication of clonally propagated crops. *Nature Genetics*, 51, 1549–1558. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0506-8>
- de Farias Viégas Aquije, G. M., Zorzal, P. B., Buss, D. S., Ventura, J. A., Fernandes, P. M., & Fernandes, A. A. (2010). Cell wall alterations in the leaves of fusariosis-resistant and susceptible pineapple cultivars. *Plant Cell Reports*, 29(10), 1109–1117. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0894-9>
- de Lira Júnior, J. S., Guimarães Tavares de Andrade, D. E., Fernandes Bezerra, J. E., Dos Santos Assunção, M., de Assis, T. C., Junghans, D. T., & Pires de Matos, A. (2023). Selection of F1 genotypes of pineapple and reaction to inoculation with a *Fusarium guttiforme* isolate. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 23(1), Article e43202315. <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332023v23n1a5>
- de Matos, A. P., & Mourichon, X. (1992) Occurrence of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* on pineapple in Bolivia. *Fruits*, 47, Article 33. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1993.334.46>
- Dianese, J. C., Bolkan, H. A., da Silva, C. B. & Couto, F. A. A. (1981). Pathogenicity of epiphytic population of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* pathogenic to pineapple. *Phytopathology*, 71, 1145–1149. <https://doi.org/10.1094/Phyto-71-1145>
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M., Robledo, C.W. (2020). InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Di Rienzo, J. A., Guzmán, A. W., & Casanoves, F. (2002). A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 7(2), 129–142. <http://www.jstor.org/stable/1400690>
- Fournier, P., Benneveau, A., Hardy, C., Chillet, M., & Lechaudel, M. (2015). A predictive model based on a pluviothermic index for leathery pocket and fruitlet core rot of pineapple cv. ‘Queen’. *European Journal of Plant Pathology*, 142, 449–460. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0625-8>
- French, E., & Herbert, T. (1980). Métodos de investigación fitopatológica. Editorial IICA.
- Gu, H., Zhan R., Zhang, L., Gong, Q., & Jia, Z. (2015). First report of *Fusarium ananatum* causing pineapple fruitlet core rot in China. *Plant Disease*, 99(11), Article 1653. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0279-PDN>
- Hof, H. (2008). Mycotoxins: pathogenicity factors or virulence factors? *Mycoses*, 51, 93-94. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01455.x>
- Ibrahim, N. F., Mohd, M. H., Izham-Mohamed, N. M., & Zakaria, L. (2020). Mycotoxigenic potential of *Fusarium* species associated with pineapple diseases. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(5-6), 217-229. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1736971>

- Ibrahim, N. F., Mohd, M. H., Izham-Mohamed, N. M., & Zakaria, L. (2016a). *Fusarium fujikuroi* causing fusariosis of pineapple in peninsular Malaysia. *Australasian Plant Disease Notes*, 11, article 21. <https://doi.org/10.1007/s13314-016-0206-5>
- Ibrahim, N. F., Mohd, M. H., Izham-Mohamed, N. M., & Zakaria, L. (2016b). Pathogenicity of *Fusarium semitectum* and *Fusarium chlamydosporum* associated with pineapple fusariosis. *Malaysian Journal of Microbiology*, 12(2), 164-170. <http://dx.doi.org/10.21161/mjm.78115>
- Ibrahim, N. F., Mohd, M. H., Nor, N. M. I. M., & Zakaria, L. (2015). First report of *Fusarium oxysporum* and *F. solani* associated with pineapple rot in Peninsular Malaysia. *Plant Disease*, 99(11), 1650-1650. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0227-PDN>
- Jacobs, A., Van Wyk, P. S., Marasas, W. F., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J., & Coutinho, T. A. (2010). *Fusarium ananatum* sp. nov. in the *Gibberella fujikuroi* species complex from pineapples with fruit rot in South Africa. *Fungal Biology*, 114(7), 515–527. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.03.013>
- Liang, Y. P., Lin, K. Y., Lai, S. Y., & Ni, H. F. (2024). Rapid identification and characterization of pineapple fruitlet core rot pathogens on the ‘TN20’ cultivar in Taiwan. *European Journal of Plant Pathology*, 168, 421–435. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02770-4>
- Lim, T. K., & Rohrbach, K. G. (1980). Role of *Penicillium funiculosum* strains in the development of pineapple fruit diseases. *Phytopathology*, 70, 663-665. <https://doi.org/10.1094/Phyto-70-663>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2018, marzo). Prácticas efectivas para la reducción de impactos por eventos climáticos, cultivo de piña en Costa Rica. <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-8166.pdf>
- Monitoreo de Cambio de Uso en Paisajes Productivos. (s.f.). Cultivo de piña en Costa Rica. Actualizaciones al 2019 tras análisis en el 2022. Recuperada 19 de marzo, 2024 de <https://mocupp.org/cultivo-pina/>
- Montealegre, J. R., & Luchsinger, L. E. (1990). Fungi associated to pineapple fruit rots marketed in Chile. *Acta Horticulturae*, 269, 515-518. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1990.269.67>
- Montoya-Martínez, A., Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, S., Proctor, R. H., Kim, H. & O'Donnell, K. (2019) Design and validation of a robust multiplex polymerase chain reaction assay for MAT idiomorph within the *Fusarium fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 111(5), 772-781. <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1649956>
- Nirenberg, H. I., & O'Donnell, K. (1998). New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90(3), 434-458. <https://doi.org/10.2307/3761403>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 2044-2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2023). Principales frutas tropicales: Análisis del mercado 2022. <https://www.fao.org/3/cc7108es/cc7108es.pdf>
- Pereira Arguedas, G. (2016). Indicadores de producción, cosecha y poscosecha en piña (*Ananas comosus*, var *comosus*) híbrido MD-2 en finca Exportaciones Norteñas, Río Cuarto de Grecia, 2016. [Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. Repositorio TEC del Instituto Tecnológico de Costa Rica. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/13327>
- Petty, G. J., Tustin, H. A., & Dicks, H. M. (2006). Control of black spot disease/fruitlet core rot in Queen pineapple with integrated mealybug, pineapple fruit mite and fungus control programmes. *Acta Horticulturae*, 702, 143-149. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.702.143>

[doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.702.17](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.702.17)

- Ratti, M. F., Asuncion, M. S., Landivar, J. J. & Goss, E. M. (2018). Pineapple heart rot isolates from Ecuador reveal a new genotype of *Phytophthora nicotianae*. *Plant Pathology*, 67(8), 1803-1813. <https://doi.org/10.1111/ppa.12885>
- Rojas Valdiviezo, J. E. (2020). Aislamiento, patogenicidad y caracterización molecular de *Fusarium oxysporum* Schldt, que afecta piña (*Ananas comosus*) en Poroto, La Libertad. [Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio de la Universidad de Trujillo, Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.14414/15813>
- Rohrbach, K. G. (1994). *Fusariosis*. Phytopathological Society Press.
- Sautour, M., Soares Mansur, C., Divies, C., Bensoussan M., & Dantigny, P. (2002). Comparison of the effects of temperature and water activity on growth rate of food spoilage moulds. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28, 311-315. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000248>
- Secretaria Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria. (2023, marzo). Desempeño del sector agropecuario 2023. [http://www.sepsa.go.cr/docs/2023-005-Desempenno\\_SectorAgro\\_2022.pdf](http://www.sepsa.go.cr/docs/2023-005-Desempenno_SectorAgro_2022.pdf)
- Singh, B. K., Delgado-Baquerizo, M., Egidí, E., Guirado, E., Leach J., Liu, H., & Trivedi, P. (2023). Climate change impacts on plant pathogens, food security and paths forward. *Nature Reviews Microbiology*, 21, 640–656. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00900-7>
- Stępień, L., Koczyk, G., & Waśkiewicz, A. (2011). Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. *Journal of Applied Genetics*, 52, 487–496. <https://doi.org/10.1007/s13353-011-0059-8>
- Sweany, R. R., Breunig, M., Opoku, J., Clay, K., Spatafora, J. W., Drott, M. T., Baldwin, T. T., & Fountain, J. C. (2022). Why do plant-pathogenic fungi produce mycotoxins? Potential roles for mycotoxins in the plant ecosystem. *Phytopathology*, 112(10), 2044-2051. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-22-0053-SYM>
- Timmusk, S., Nevo, E., Ayele, F., Noe, S., & Niinemets, Ü. (2020). Fighting *Fusarium* pathogens in the era of climate change: a Conceptual approach. *Pathogens*, 9, article 419. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060419>
- Vásquez, J., & Mata, X. (2014). Diagnosis of *Fusarium oxysporum* in the cultivation of pineapple *Ananas comosus* (L.) Merr. *Net Journal of Agricultural Science*, 2(3), 107-112. <https://www.netjournals.org/pdf/NJAS/2014/3/14-035.pdf>
- Vásquez Jiménez, J. (2009). Evaluación de la eficacia in vitro de sustancias químicas y microorganismos antagónicos del género *Trichoderma* spp., como herramienta para la toma de decisiones en el control de enfermedades “caso muerte descendente del cultivo de piña *Ananas comosus* (L) Merr. [Tesis licenciatura, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. Repositorio del TEC del Instituto Tecnológico de Costa Rica. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/4004>
- Ventura, J. A., Costa, H., Cabral, J. R. S., & Matos, A. P. (2009). “Vitória”: new pineapple cultivar resistant to Fusariosis. *Acta Horticulturae*, 822, 51-56. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.822.4>
- Vignassa, M., Meile, J. C., Chiroleu, F., Soria, C., Leneveu-Jenvrin, C., Schorr-Galindo, S., & Chillet, M. (2021). Pineapple mycobiome related to fruitlet core rot occurrence and the influence of fungal species dispersion patterns. *Journal of Fungi*, 7(3), article 175. <https://doi.org/10.3390/jof7030175>
- Zakaria, L. (2023). *Fusarium* species associated with diseases of major tropical fruit crops. *Horticulturae*, 9(3), Article 322. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>
- Zhang, Y., Ma, H. Y., Liu, S. H., Hu, H. Q., Ren, L. & Wang, Y. Y. (2024). First Report of Leaf Spot Disease on Pineapple Caused by *Fusarium solani* in China. *Plant Disease*, 108(2), Article 528. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-23-1791-PDN>