



Plan de contingencia ante un brote
de la raza 4 tropical de
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense*
En un país de la región del OIRSA



Plan de contingencia ante un brote
de la raza 4 tropical de
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense*
En un país de la región del OIRSA

Elaborado por:
Miguel Ángel Dita Rodríguez
Plutarco Elías Echegoyén Ramos
y
Luis Fernando Pérez Vicente

Una publicación del
ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD
AGROPECUARIA - OIRSA
San Salvador, El Salvador, julio de 2013.

Se autoriza la reproducción y difusión del material contenido en este documento para los propósitos que ha sido elaborado, con fines educativos y otros no comerciales, sin previa autorización escrita del OIRSA, siempre que se especifique claramente la fuente. Se prohíbe la reproducción de material contenido en este documento con fines comerciales sin previa autorización escrita del OIRSA. Las peticiones para obtener tal autorización deberán dirigirse a: Director Ejecutivo del OIRSA, Calle Ramón Belloso, final pasaje Isolde, Colonia Escalón, San Salvador, El Salvador, Centro América o por correo electrónico a oirsa@oirsa.org.

CONTENIDO

RECONOCIMIENTOS.....	viii
PRÓLOGO.....	ix
RESUMEN EJECUTIVO.....	xi
I. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
1.1 Objetivo del Plan.....	1
1.2 Aclaraciones.....	1
1.3 Contactos Principales.....	1
1.4 Programa de Seguridad.....	1
1.5 Definiciones.....	2
II. PROCEDIMIENTOS DE IDENTIFICACIÓN.....	3
2.1 Hallazgo inicial de un evento sospechoso.....	3
2.2 Diagnóstico preliminar.....	4
2.3 Confirmación del diagnóstico.....	5
III. FACTIBILIDAD TÉCNICA Y ECONÓMICA.....	6
3.1 Factibilidad Técnica de la Erradicación-Confinamiento.....	6
3.2 Factibilidad Económica de la Erradicación-Confinamiento.....	7
3.3 Factibilidad Técnica y Económica de un Programa Alternativo a la Erradicación.....	10
IV. PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS.....	11
4.1 Marco Legal sobre Emergencias Fitosanitarias.....	11
4.2 Acciones a Reglamentar.....	11
4.3 Evaluación del Cumplimiento.....	12
V. ORGANIZACIÓN PARA LA EJECUCIÓN.....	13
5.1 Activación de la Emergencia.....	13
5.2 Procedimientos para la Evaluación Preliminar.....	13
5.3 Respuestas Operacionales según la Condición.....	15
5.4 Implementación del Plan Operativo.....	17
5.5 Capacitación.....	19
5.6 Registros e Informes.....	19
5.7 Supervisión y Control de Calidad.....	20
5.8 Decisiones Posteriores a la Emergencia.....	20
5.9 Simulacro.....	21
VI. COMUNICACIÓN Y DIVULGACIÓN.....	22
6.1 Políticas y Estrategias de Comunicación y Divulgación.....	22
6.2 Comunicaciones Oficiales de Carácter Normativo.....	23

6.3 Comunicaciones de Carácter General: Relaciones Públicas	24
6.4 Divulgación	25
VII. RELACIONES DE COOPERACIÓN Y COORDINACIÓN	26
7.1 Colaboración con Sectores interesados	26
7.2 Posibles Áreas de Cooperación	26
7.3 Recomendaciones para las Relaciones de Cooperación	27
VIII. PROCEDIMIENTOS DE ENCUESTA	28
8.1 Tipos de Encuestas	28
8.1.1 Encuestas de detección	28
8.1.2 Encuestas de delimitación	29
8.1.3 Encuestas de monitoreo	30
8.2 Parámetros para Calcular el Tamaño de la Muestra	31
8.3 Plan para la Implementación de las Encuestas	32
8.4 Recopilación y Procesamiento de la Información de la Vigilancia	33
8.5 Recomendaciones Generales Sobre la Vigilancia	33
8.6 Requisitos Técnicos para los Servicios de Diagnóstico	34
IX. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL	35
9.1 Estrategia y técnicas de control para una posible Erradicación-Confinamiento de Foc R4T	36
9.1.1 Acciones pre-análisis en laboratorio antes de la confirmación del diagnóstico	37
9.1.2 Acciones post-análisis de laboratorio después de la confirmación del diagnóstico	39
9.2 Estrategias y técnicas de control para una posible Supresión-Contención	42
9.3 Recomendaciones en apoyo a los procedimientos de control	44
9.3.1 Control genético	44
9.3.2 Producción de material de plantación certificado libre de Foc R4T	44
9.4 Factibilidad de las Estrategias de Control	45
X. EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE EMERGENCIA	46
10.1 Evaluación del Programa Durante su Ejecución	46
10.2 Revisión de Programa de Emergencia	46
10.3 Acciones al Concluir la Ejecución del Programa	46
XI. FINANCIAMIENTO	47
11.1 Fuentes Internacionales de Financiamiento	47
11.2 Cálculo de los Costos	47
11.2.1 Costos directos	47
11.2.2 Costos indirectos	48
11.3 Metodología para la Estimación de los Costos (presupuesto)	48
11.4 Recomendaciones para un Mejor Uso de los Recursos Financieros	48
XII. BIBLIOGRAFÍA	49

APÉNDICES.....	51
APÉNDICE 1	52
HOJA DE DATOS DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen Raza 4 Tropical (Foc R4T)	
APÉNDICE 2.....	72
PROTOCOLO DE DIAGNÓSTICO DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> Raza 4 Tropical (Foc R4T)	
APÉNDICE 3.....	98
CONTACTOS EN CASO DE INCURSIONES O BROTES DE LA RAZA 4 TROPICAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i>	
APÉNDICE 4.....	103
LISTA AMPLIADA DE PLANTAS HOSPEDANTES DE LA MARCHITEZ POR <i>FUSARIUM</i> , RAZA 4 TROPICAL (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> , R4T)	
APÉNDICE 5.....	104
GLOSARIO	
APÉNDICE 6.....	110
MODELO DE DECRETO DE EMERGENCIA ANTE UN BROTE DE LA RAZA 4 TROPICAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i>	
APÉNDICE 7.....	114
PLANTILLA PARA INFORMAR AL PÚBLICO DE LA PRESENCIA, BROTE Y DISPERSIÓN DE LA RAZA 4 TROPICAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i>	
APÉNDICE 8.....	115
PROGRAMA DE CAPACITACIÓN	
APÉNDICE 9.....	116
ACCIONES DE ERRADICACIÓN-CONFINAMIENTO EN UN BROTE DE LA RAZA 4 TROPICAL DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i>	
APÉNDICE 10	
DISEÑO Y PLANIFICACIÓN DE ENCUESTAS CONTRA Foc R4T	119
APÉNDICE 11	143
FORMULARIOS (EJEMPLOS)	
APÉNDICE 12.....	149
AVANCES EN INVESTIGACIÓN Y PERSPECTIVAS EN <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> RAZA 4 TROPICAL (FOC R4T)	
APÉNDICE 13.....	152
FUENTES INTERNACIONALES DE FINANCIAMIENTO	

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 -	Posibles escenarios ante un brote de Foc R4T, según se favorezca la erradicación -confinamiento o la supresión-contención (medida alternativa).....	16
Cuadro 2 -	Lista ampliada de plantas hospedantes de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i> R4T.....	103
Cuadro 3 -	Acciones de erradicación-confinamiento en un brote de la raza 4 tropical de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i> según zonas.....	117
Cuadro 4 -	Tamaños de muestra calculados sin tomar en cuenta la precisión del método de muestreo.....	127
Cuadro 5 -	Ejemplos de cálculos de tamaños de muestra realizados con niveles de confianza del 95%	131
Cuadro 6 -	Programación de actividades de encuestas específicas contra Foc R4T	141
Cuadro 7 -	Presupuesto de encuestas específicas contra Foc R4T	142

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Estructuras reproductivas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i> . A. Macroconidios (Poseen longitud 27 - 55 x 3.3 - 5.5 μm , 4 - 8 células, forma de hoz, con células basales en forma de pie). B. Microconidios (Poseen longitud de 5 - 16 x 2.4 - 3.5 μm , 1 o 2 células, ovales en forma de riñón). C. Fialides y microconidios agrupados en falsas cabezas. D. Clamidosporas (Poseen de 7 - 11 μm diámetro, usualmente globosas formadas individuales o en cadenas). E. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i> raza 4 tropical en medio de cultivo PDA. F. Esporodocios de color naranja formados en la superficie medio de cultivo PDA. (Fotos: M.A. Dita y L. Pérez-Vicente).	60
Figura 2	Síntomas externos de la marchitez por <i>Fusarium</i> en banano. A. Planta mostrando clorosis generalizada en las hojas ("síndrome de la hoja amarilla") en estado avanzado de la enfermedad. B. Rajaduras en la base del pseudotallo. C. Planta afectada por la marchitez por <i>Fusarium</i> con hojas verdes ("síndrome de la hoja verde"). D. Detalles de quiebra de las hojas en la base del pecíolo. (Fotos: L. Pérez-Vicente y M. A. Dita.).	61
Figura 3	Síntomas internos de la marchitez por <i>Fusarium</i> en banano. A. Corte transversal en el cormo (rizoma) mostrando necrosis de los tejidos. B. Corte transversal del pseudotallo mostrando necrosis avanzada del tejido vascular. C. Corte longitudinal del pseudotallo mostrando necrosis a lo largo de los haces vasculares. (Fotos: M. A. Dita y L. Pérez-Vicente).	62
Figura 4	Síntomas externos de la marchitez por <i>Fusarium</i> en banano. A. Planta mostrando clorosis generalizada en las hojas ("síndrome de la hoja amarilla") en estado avanzado de la enfermedad. B. Rajaduras en la base del pseudotallo. C. Planta afectada por la marchitez por <i>Fusarium</i> con hojas verdes ("síndrome de la hoja verde"). D. Detalles de quiebra de las hojas en la base del pecíolo. (Fotos: L. Pérez-Vicente y M. A. Dita).	74
Figura 5	Síntomas internos de la marchitez por <i>Fusarium</i> en banano. A. Corte transversal en el cormo (rizoma) mostrando necrosis de los tejidos. B. Corte transversal del pseudotallo mostrando necrosis avanzada del tejido vascular. C. Corte longitudinal del pseudotallo mostrando necrosis a lo largo de los haces vasculares. (Fotos: M. A. Dita y L. Pérez-Vicente).	75
Figura 6	Estructuras reproductivas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i> . A. Macroconidios (Poseen longitud 27 - 55 x 3.3 - 5.5 μm , 4 - 8 células, forma de hoz, con células basales en forma de pie). B. Microconidios (Poseen longitud de 5 - 16 x 2.4 - 3.5 μm , 1 o 2 células, ovales en forma de riñón). C. Fialides y microconidios agrupados en falsas cabezas. D. Clamidosporas (Poseen de 7 - 11 μm diámetro, usualmente globosas formadas individuales o en cadenas). E. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i> raza 4 tropical en medio de cultivo PDA. F. Esporodocios de color naranja formados en la superficie medio de cultivo PDA. (Fotos: M.A. Dita y L. Pérez-Vicente).	76

Figura 7	Procedimiento para la recolección de muestras de tejidos de plantas de musáceas sospechosas de estar afectadas por la raza 4 tropical de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en áreas libres de la plaga. A y B Corte de un fragmento del pseudotallo. C Vista del fragmento del pseudotallo cortado mostrando los haces vasculares necrosados. D . Fragmentos de tejido afectados dentro de frasco cerrado herméticamente listo para ser enviado al laboratorio. E . Haces vasculares del pseudotallo diseccionados mostrando la necrosis ocasionada por el patógeno. F y G . Planta muestreada con la reposición del fragmento cortado en el lugar original y cubierto con cinta adhesiva para evitar la exposición de los tejidos y de los exudados al ambiente. (Procedimiento y fotos por P. E. Echegoyén).	79
Figura 8	Protocolo de aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .	81
Figura 9	Diagrama representativo del proceso de aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> a partir de muestras de pseudotallo afectados (Fotos: M.A Dita).	82
Figura 10	Procedimientos para el diagnóstico molecular de la raza 4 tropical de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .	90
Figura 11	Diagrama representativo del área controlada alrededor de un brote de la raza 4 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en un monocultivo de bananos. La planta en negro en el centro indica la planta enferma. La zona A representa la zona donde habría mayor probabilidad de la presencia de otras plantas infectadas, aún sin síntomas visuales. Para mayores detalles sobre las zonas consultar el Cuadro 3.	118
Figura 12	Brote hipotético de Foc R4T en la parte superior de una cuenca y las áreas aguas abajo (entre flechas anaranjadas) pueden considerarse con mayor probabilidad de presentar brotes secundarios de la plaga. (Adaptado de Wikipedia, Alfredobi).	124
Figura 13	Brote hipotético de Foc R4T cerca del cauce de un río, toda la subcuenca superior (parte sombreada) y las áreas aguas abajo (entre flechas anaranjadas) pueden considerarse con mayor probabilidad de presentar brotes de la plaga. (Adaptado de Wikipedia, Alfredobi).	124
Figura 14	Sistema de inspección en “Guarda griega” de plantaciones de banano o plátano para la detección de Foc R4T.	128
Figura 15	Sistema de inspección en bandas de plantaciones de banano o plátano para la detección de Foc R4T.	128
Figura 16	Esquema de la estrategia de muestreo en “W” para encuestas de detección de Foc R4T en un sitio cultivado de banano	129
Figura 17	Ilustración de la estrategia de muestreo en “Cinco de oros” en encuestas de monitoreo de Foc R4T. Debido a que el lugar (campo) tiene una superficie mayor de 10 ha (aproximadamente 32.5 ha), se han hecho 4 trazos de cinco de oros.	132
Figura 18	Ilustración de la estrategia de muestreo por transectos en encuestas de monitoreo de Foc R4T. En este caso los puntos de muestreo sobre el transecto están separados por 100 m entre sí y los transectos por 150 m entre sí.	133

RECONOCIMIENTOS

A la Dra. Hildegard Garming de Bioversity International por su aporte en los análisis de valoraciones económicas.

Al Dr. Agustín Molina de Bioversity International por compartir informaciones sobre el estado actual y estrategias para el manejo de Foc R4T en Asia.

Al Dr. Gert Haatje Jan Kema del Plant Research International, Holanda por sus aportes en aspectos técnicos de control de la enfermedad.

A los Licenciados David Brown y Daniela Lizano de Bioversity International por la colaboración en la revisión y formatación del documento.

Al Ing. Agr. Edgardo Wigberto Lara Rodríguez, Profesor de Fitopatología y Microbiología Agrícola, al Ing. Agr., MSc. Andrés Wilfredo Rivas Flores, Profesor de Fitopatología y MIP y a la Lic. Idalia Rosmery Erroa Ramos, Encargada del Laboratorio de Investigación y Diagnóstico del Departamento de Protección Vegetal, todos de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, por su apoyo en la selección del procedimiento de toma de muestra para aislamiento en laboratorio de Foc.

A Dinora A. Villeda del OIRSA por la revisión de estilo del documento.

Portada

A la izquierda: planta con síntomas externos de marchitez por *Fusarium*. A la derecha, de arriba hacia abajo: corte transversal del pseudotallo de banano mostrando síntomas internos de marchitez por *Fusarium*. Conidios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Clamidosporas formadas en hifas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Fotos. M.A. Dita.

Los autores

Miguel Aníbal Dita Rodríguez. PhD. Bioversity International, Programa *Commodity Systems and Genetic Resources*, Oficina Regional para América Latina y el Caribe, Turrialba, Costa Rica.

Plutarco Elías Echegoyén Ramos. Ing. Agr., MSc. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria-OIRSA, Sanidad Vegetal.

Luis F. Pérez Vicente Ph.D. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. MINAG. Cuba. Investigador Honorario de Bioversity International.

PRÓLOGO

En América Latina y el Caribe, aunque no es el centro de origen de los plátanos y bananos, se produce un 28% de la producción mundial. Aproximadamente 20 millones de toneladas (64% de la producción) son de consumo local y siete países de la región están entre los diez primeros países exportadores de banano. Además, el 99% de los plátanos exportados se producen en América Latina (FAOSTAT, 2009). Estas cifras demuestran el papel que los plátanos y bananos tienen en la economía y la seguridad alimentaria en el continente americano.

La marchitez por *Fusarium* de las musáceas, causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), ha sido la enfermedad más destructiva de las musáceas y está considerada entre las diez enfermedades más importantes en la historia de la agricultura. La raza 1 causó una epidemia que impactó la industria de exportación bananera de América basada en la variedad Gros Michel y provocó la desaparición de la mayoría de las plantaciones comerciales en la década de los años 50 a los 60 (Stover, 1962) con un impacto económico (solo estimado para las compañías exportadoras) de US \$2,300 millones. La única solución al problema fue reemplazar 'Gros Michel' por variedades resistentes del subgrupo Cavendish, que representan actualmente casi la totalidad del banano de exportación plantado actualmente en el continente.

Durante muchos años los clones del subgrupo Cavendish solo fueron afectados por Foc bajo condiciones de estrés nutricional y de bajas temperaturas como las que ocurren en los bananos cultivados en los subtropicos. Sin embargo, la aparición en el sudeste asiático a principios de los 90 de la raza 4 tropical (R4T), la cual ataca severamente a las variedades del subgrupo Cavendish en condiciones de los trópicos, constituye una seria amenaza para la industria bananera de América Latina y el Caribe. Un factor adicional que torna Foc R4T extremadamente severa es el hecho de que además de las variedades del grupo Cavendish afecta un grupo considerable de variedades importantes para la seguridad alimentaria y generación de ingresos, entre las se encuentran los plátanos (AAB), bananos de cocción tipo Bluggoe (ABB) así como otras variedades importantes para pequeños productores como Gros Michel (AAA), Prata (AAB) y Manzano (AAB). Con los antecedentes anteriormente expuestos, es evidente que una eventual entrada de Foc R4T en América tendría consecuencias devastadoras tanto económicas como en términos de seguridad alimentaria.

En el sudeste asiático grandes superficies plantadas con variedades del subgrupo Cavendish han sido afectadas por Foc R4T provocando pérdidas millonarias. Los daños no solo están vinculados con las pérdidas debido a plantas enfermas, sino también al costo de las medidas de manejo a implementar, así como a los cambios tecnológicos que tienen que ser introducidos para minimizar los impactos de la enfermedad.

La mejor opción para evitar el impacto de Foc R4T en la producción de musáceas en un país es la exclusión (evitar su entrada). Una vez que esta plaga invade un área, se necesita la implementación de medidas fitosanitarias severas para evitar el movimiento del patógeno de áreas infectadas a áreas libres. Estas estrictas medidas son costosas y demandan personal capacitado para reconocer la plaga y poder manejarla. Desafortunadamente en áreas libres como en los países miembros del OIRSA, existe carencia de fitopatólogos que trabajen en este patosistema, por lo que es de suma importancia que los países de la región creen capacidades tanto para identificar la enfermedad en el campo, como para dominar metodologías de aislamiento e identificación que permitan la inequívoca identificación del patógeno.

El presente documento tiene el objeto de facilitar, en el ámbito regional del OIRSA, la regulación y la asistencia técnica en el manejo oportuno de algún caso de incursión o brote de Foc R4T mediante la difusión del conocimiento sobre el diagnóstico de la enfermedad y las medidas a implementar encaminadas a disminuir el riesgo de dispersión si llegara a introducirse. Este documento se confeccionó atendiendo a las normas internacionales para medidas fitosanitarias, con el objetivo de asegurar una adecuada implementación del manejo de esta enfermedad.

Los Autores

RESUMEN EJECUTIVO

Este plan de contingencia tiene como objeto principal proporcionar las bases técnicas y reglamentarias para implementar las acciones encaminadas a identificar, erradicar, contener y/o manejar adecuadamente cualquier introducción o brote de la raza 4 tropical *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc R4T), agente causal de la Marchitez por *Fusarium* de las musáceas, que llegue a presentarse en un país de la región del OIRSA. Este plan se estructuró siguiendo diversas normas fitosanitarias, describiendo las etapas que se pueden seguir, si se detectara un caso sospechoso o confirmado de esta plaga. El documento describe, además, criterios que deben tenerse en cuenta para implementar un programa de erradicación-confinamiento y de un programa alternativo (contención-supresión), una vez que la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) haya identificado la presencia de Foc R4T en un área. Adicionalmente se ofrecen directrices sobre la forma de organizar y ejecutar estos programas. Es importante destacar que los programas de erradicación de plagas, y el que se propone en este documento no es una excepción, deben estar dentro de los marcos legales fitosanitarios de cada país, para que de esa forma las medidas y regulaciones a aplicar sean efectivas y de obligatorio cumplimiento. El programa de prevención y erradicación de Foc R4T tiene un carácter multidisciplinario y necesita de la formación de capacidades en la región para implementar una campaña de divulgación que alerte a los decisores, a los productores y al público en general sobre las formas de detección de la plaga y sobre algunas acciones oficiales que podrían implementarse para su control a fin de evitar daños económicos y/o ambientales de gran magnitud.

En este plan de contingencia se describen además, procedimientos de encuestas fitosanitarias (vigilancia específica), que representan la actividad más importante contra esta plaga. Adicionalmente, se detallan medidas de control de la plaga encaminadas a disminuir su dispersión, por ejemplo mediante regulaciones para el movimiento seguro de material de propagación de bananos y plátanos, así como para la implementación de medidas para la erradicación-confinamiento o alternativamente de contención-supresión, en caso de brotes.

Aspectos sobre la taxonomía de *Fusarium oxysporum*, su diferenciación de otras especies de *Fusarium* frecuentemente encontradas en *Musa* spp., las características biológicas del hongo, las principales razas patogénicas y su relación con sus hospedantes fueron también incluidos con el objeto de permitir al lector documentarse sobre el género *Fusarium* y los procedimientos para la diferenciación de las razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* que afectan a las musáceas.

El documento recoge aspectos de los principales métodos de exclusión, y medidas de control químico, biológico, y culturales encaminadas a prevenir y contener la dispersión de Foc R4T, así como la capacitación de técnicos y productores. Dentro de estos métodos de exclusión se hace énfasis en la importancia de la producción y empleo de semilla (en este caso material vegetativo) para plantación libre de la enfermedad y otras medidas fitosanitarias encaminadas a disminuir la dispersión de la plaga tales como la desinfección y tratamientos en viveros, el uso de productos químicos, incluyendo los procedimientos para la erradicación-confinamiento de brotes de la plaga.

El documento incluye un glosario de los términos utilizados y un dispositivo legal de emergencia para erradicar un brote de Foc R4T, que podría servir de guía para cualquier país de la región del OIRSA.

I. INFORMACIÓN GENERAL

1.1 Objetivo del Plan

Proporcionar las bases técnicas y de procedimientos para la implementación de acciones fitosanitarias para erradicar, contener o suprimir en forma apropiada posibles brotes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical, en los países de la región del OIRSA.

1.2 Aclaraciones

Este plan se ha concebido como un documento versátil sujeto a modificaciones y adaptable a cada situación, que puede ser enriquecido por las Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria (ONPF) de cada país y por los diferentes sectores y grupos de interés en el cultivo de musáceas. Su aplicación no tiene implícita la garantía del éxito en la erradicación-confinamiento, supresión-contención o manejo de la plaga, pero se pretende que sea un documento útil de carácter técnico. Las opiniones expresadas en el mismo son de los autores y no reflejan necesariamente los puntos de vista del OIRSA ni de otras instituciones, salvo las referencias explícitas que se hacen de las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF).

1.3 Contactos Principales

Los contactos principales en cada país para notificar incursiones o brotes de Foc R4T son las ONPF, instituciones oficiales que normalmente dependen de los Ministerios/Secretarías de Agricultura de los países. En el Apéndice 3, se incluyen los datos para contacto de las ONPF de cada uno de los países miembros del OIRSA. También pueden hacerse notificaciones de brotes de Foc R4T en países de la región del OIRSA a la sede del OIRSA o a sus representaciones en los países miembros. Toda notificación sobre incursiones o brotes que se reciba en estas oficinas, se canalizará directa y exclusivamente a la ONPF del país que corresponda. En el Apéndice 3, también se incluyen los datos de contacto de la sede del OIRSA y los de sus representaciones en cada uno de los países. Las notificaciones de incursiones o brotes de Foc R4T pueden hacerse a otras instituciones (por ejemplo, a Facultades de Agronomía de Universidades, a Escuelas Agrícolas) o estructuras gubernamentales (comités estatales o departamentales de sanidad vegetal, oficinas de extensión agrícola, institutos nacionales de investigación) siempre y cuando estas instituciones formen parte del Sistema Nacional de Vigilancia de Plagas del país.

Otros contactos de utilidad pueden ser los laboratorios de referencia que se autoricen o acrediten para la identificación de Foc R4T y los especialistas en esta plaga. En el Apéndice 3 se incluyen algunos de estos contactos.

1.4 Programa de Seguridad

Para mantener la seguridad del personal que participa en la ejecución de las labores de campo del Plan Operativo de Emergencia, se deben acatar, entre otras, las siguientes medidas:

- a) en lugares aislados, al menos dos personas deben realizar las encuestas;
- b) mantener siempre disponible un equipo de primeros auxilios para casos de mordeduras, picaduras, heridas e intoxicaciones; y
- c) si se emplean equipos pesados o peligrosos, verificar que el personal operador cuente con el debido entrenamiento y el resto del personal deberá acatar todas las medidas de seguridad aconsejadas.

Dado que las medidas de erradicación y supresión de la plaga, se basan en el uso de fumigantes de alta toxicidad, deberán seguirse las prácticas recomendadas para el manejo y uso seguro de plaguicidas, para la protección de la salud de las personas, de animales y del medio ambiente. El personal encargado de su aplicación, deberá recibir un entrenamiento básico antes de iniciar las actividades.

1.5 Definiciones

Para favorecer la comprensión de las especificaciones y demás información contenida en este documento, en el Apéndice 5 se incluye un glosario. La mayoría de términos comprendidos en éste se han extraído de la NIMF N° 5 *Glosario de términos fitosanitarios*, Roma (2012).

II. PROCEDIMIENTOS DE IDENTIFICACIÓN

2.1 Hallazgo inicial de un evento sospechoso

El hallazgo de uno o más casos sospechosos de incursiones o brotes de Foc R4T podrá realizarlo tanto el sistema de vigilancia de plagas de la ONPF como un ente no oficial (por ejemplo un productor, un investigador independiente, etc.). **En principio, el hallazgo en países miembros del OIRSA de cualquier planta perteneciente a variedades del subgrupo Cavendish (AAA) o a plátanos de cocción (AAB) con síntomas típicos de marchitez por *Fusarium*, debe ser considerado como un evento sospechoso de Foc R4T.**

Es recomendable elaborar un informe breve sobre este evento en el menor tiempo posible, a fin de que pueda someterse de inmediato a la ONPF, de preferencia, en un plazo no mayor de 48 horas después del hallazgo. De esta forma, la ONPF a su vez, podrá hacer los arreglos para contactar los laboratorios de diagnóstico o los expertos de ser necesario (ver apartado 2.2). Entre los datos que deberá incluir el informe sobre la detección inicial están los siguientes:

- a) Nombre común y científico de la plaga;
- b) Nombre e información de contacto del identificador del evento sospechoso y/o de la plaga;
- c) Nombre común y científico (si es posible) del hospedante u hospedantes en los que se encontró la plaga y el clon o variedad;
- d) Localización de la detección:
 - Nombre del campo de cultivo;
 - Nombre del lugar de producción;
 - Caserío, aldea o cantón;
 - Municipio, departamento o provincia,
 - País; y
 - Georreferenciación del sitio (de ser posible) y descripción de las marcas dejadas en las plantas o en el lugar;
- e) Fecha de detección;
- f) Fecha del informe;
- g) Institución u organización (servicio de vigilancia, centro de investigación, oficina de extensión agrícola) y persona (productor, investigador, etc.) responsable del informe de detección;
- h) Si fuese posible, el probable origen de la incursión de la plaga y su vía de introducción. Esta información es útil no sólo para la toma de decisiones con relación a la erradicación, sino también para identificar las debilidades en los sistemas de exclusión de la plaga que pudieron haber contribuido a la introducción de la misma y así corregirlas;
- i) Descripción del brote incluyendo:
 - posible fecha de la incursión de la plaga;

- método de detección (observación de plantas con síntomas típicos de la enfermedad en hojas, pseudotallo y rizoma, diagnóstico presuntivo en laboratorio, muestreo aleatorio, etc.):
 - procedimiento de identificación de la plaga;
 - síntomas en el hospedante (incluir fotografías si es posible);
 - estimación de la extensión, incidencia y severidad del brote observado;
 - probabilidades de establecimiento y dispersión de la plaga en el lugar del brote;
 - estimación del área potencial de riesgo de dispersión de la plaga en el lugar del brote.
- j) Detalles de cualquier medida que se haya tomado en el lugar de la incursión de la plaga a la fecha del informe (tratamiento o destrucción del material hospedante, establecimiento de áreas bajo cuarentena y/o restricciones, rastreo de circunstancias anteriores y posteriores a la detección del brote).

El hallazgo de un evento sospechoso es motivo para que se inicie una fase de alerta de protección fitosanitaria contra un probable brote de una plaga cuarentenaria.

2.2 Diagnóstico preliminar

Si los procedimientos para el diagnóstico de Foc R4T no han sido realizados por personal capacitado y mediante prueba en un laboratorio especializado de referencia, tendrá que recurrirse a expertos en la plaga, cuya participación activa con los técnicos oficiales será beneficiosa para establecer un diagnóstico preliminar que será determinante en el curso a seguir. Si los expertos descartan la presencia de la plaga, las acciones de emergencia se detendrán en este punto. Si amerita darle seguimiento, se requerirá el envío de muestras a un laboratorio (o a más de uno) especializado o de referencia para la confirmación del diagnóstico.

La falta de confirmación del diagnóstico no será obstáculo para que con base en el diagnóstico preliminar se implementen acciones de emergencia contempladas, especialmente las que estén orientadas a la contención y erradicación de la plaga, por ejemplo:

- Eliminación de hospedantes con síntomas y/o potencialmente infectados;
- Establecimiento de área o áreas bajo cuarentena que implica la restricción de movilización de vías de dispersión de Foc R4T desde el (o las) área(s) infestada (s).

Si se aplican de inmediato medidas de erradicación, deberán tomarse muestras de las plantas que se eliminen a fin de obtener una confirmación posterior de la plaga, siguiendo el procedimiento descrito en el Apéndice 2 para la toma y envío de muestras. Es de suma importancia tener en cuenta que para la toma, manipulación y transporte de las muestras deben acatarse las medidas de bioseguridad necesarias para evitar la dispersión de la plaga.

Si se detectaran brotes sospechosos de Foc R4T de forma simultánea o durante un período corto en lugares diferentes, los resultados de los laboratorios involucrados en la identificación deberán compararse para llegar a un diagnóstico más fiable del agente causal. Es altamente indicado que antes de desencadenar un proceso de erradicación-confinamiento se realicen estas comparaciones. Las ONPF, si lo estiman conveniente junto al OIRSA, deberán identificar

los laboratorios de diagnóstico y verificar que reúnan las condiciones para desarrollar los procedimientos operacionales establecidos para este fin.

Es conveniente que en la toma de muestras de un brote sospechoso se designe a personal previamente entrenado o con experiencia en este tipo de actividades y que haya leído la instrucción relativa a la toma y manejo de muestras del Apéndice 2.

2.3 Confirmación del diagnóstico

En el Apéndice 2 se especifican todas las medidas de bioseguridad que deben adoptarse para la toma, manejo y transporte de muestras sospechosas de Foc R4T hacia el laboratorio para evitar la dispersión del patógeno como consecuencia de esta actividad. Es importante, asegurarse además, de que los laboratorios donde se envíen las muestras cumplan con estándares de bioseguridad para el manejo de muestras de plagas cuarentenarias.

Si la ONPF no tiene disponibilidad inmediata de laboratorios con la seguridad biológica requerida y con capacidad apropiada para realizar la confirmación del diagnóstico, es recomendable que esta confirmación se haga mediante un laboratorio de referencia, procedimiento que podrá ser acompañado por el OIRSA. La confirmación del diagnóstico de la plaga es necesaria para fundamentar con base técnica, las medidas fitosanitarias que se promulguen y para conferir seguridad a las notificaciones oficiales sobre el brote de la plaga.

Para el envío de muestras de plantas o cualquier material involucrado en el diagnóstico de Foc R4T a laboratorios de referencia, se establece como procedimiento habitual la entrega de las muestras a las respectivas representaciones del OIRSA en los países, acompañadas con una solicitud de envío de muestras dirigida al Representante y suscrita por una autoridad oficial de sanidad vegetal del país. Las muestras entregadas tendrán que estar debidamente preparadas (etiquetadas y empacadas) para el envío, conforme al Apéndice 2 de este documento. La designación de los laboratorios de referencia y el establecimiento del procedimiento habitual no limitan de ninguna manera al país en el envío de muestras para confirmación de diagnóstico a otros laboratorios y/o especialistas con reconocimiento en el ámbito internacional.

Si los resultados en esta fase de confirmación del diagnóstico son negativos (no es Foc R4T), se detendrá el proceso de emergencia y se harán las notificaciones necesarias para comunicar que la amenaza del brote ya no existe o que se trató de una falsa alarma.

III. FACTIBILIDAD TÉCNICA Y ECONÓMICA

Antes de establecer un programa de erradicación-confinamiento de plagas es recomendable consultar las directrices ya establecidas sobre este tema en las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF), por ejemplo, la NIMF 9 (NIMF 9, 1998)

La justificación de la implementación de un programa de erradicación de Foc R4T es una aproximación ex-ante. Sin embargo, será posible analizar la factibilidad técnica y económica teniendo en cuenta al menos algunos elementos de importancia: 1) el legado histórico de la raza 1 de Foc que fue la causante de la destrucción de miles de ha de la variedad Gros Michel en América entre 1890 y 1960 así como de la casi completa desaparición del clon Manzano, con pérdidas estimadas para la industria de exportación de más de 2,300 millones de dólares; 2) la situación actual de los sectores bananeros afectados por Foc R4T en Asia y Oceanía. Se estima que existen más de 100,000 ha de plantaciones del sub grupo Cavendish contaminadas; 3) las capacidades de las ONPF; 4) las características de la incursión.

Los dos primeros elementos señalados antes indican el impacto económico potencial de la plaga en los países del OIRSA, lo cual motiva y justifica la inversión de los recursos financieros requeridos para la erradicación-confinamiento o contención - supresión mencionados en este documento.

En el Apéndice 1 (Descripción de la plaga), se presenta información concerniente a la biología y posibles consecuencias económicas por la introducción de la plaga.

En los países afectados por Foc R4T, el impacto no solo ha sido determinado por la limitación en la producción de Cavendish, sino también porque ha implicado importantes cambios en la tecnología de cultivo, pasando del cultivo permanente a plantaciones anuales de altas densidades. Adicionalmente, ha implicado la adopción de medidas de vigilancia y saneamiento que afectan apreciablemente los costos de producción.

3.1 Factibilidad Técnica de la Erradicación-Confinamiento

La erradicación de una plaga cuarentenaria se refiere a la aplicación de medidas fitosanitarias para eliminar dicha plaga de un área específica (NIMF 9, 1998).

Para la evaluación de la factibilidad técnica de la erradicación – confinamiento de Foc R4T un aspecto importante a tener en cuenta es el origen del brote y sus antecedentes. Si el brote es comprobadamente un evento aislado de introducción a un área, la probabilidad de éxito de la erradicación-confinamiento es mayor que cuando se debe a una introducción múltiple o a la dispersión después de una introducción. Sin embargo, debe siempre tenerse en cuenta que la adopción de una estrategia alternativa a la erradicación-confinamiento basada en medidas de supresión-contención, puede a largo plazo, tener un impacto socioeconómico mayor. Es importante resaltar que dadas las características de Foc (hongo del suelo que produce estructuras de sobrevivencia altamente resistentes – ver Apéndice 1), es posible que las medidas de erradicación-confinamiento no sean exitosas y se tenga que implementar el programa alternativo de supresión-contención.

Otro aspecto a considerar son las informaciones sobre la eficacia comprobada de las medidas a aplicar, la envergadura de las operaciones a realizar y la complejidad en términos de demanda de capacitación de éstas.

La decisión de implementar un programa de erradicación-confinamiento dependerá, entre otros factores, de: a) la prontitud con que se realice la detección e identificación del patógeno después de su introducción a un área libre; b) el conocimiento de la fecha de su introducción al área; c) extensión y características del área del brote (si el brote ocurrió en un monocultivo de musáceas o en musáceas asociadas con café, cacao o forestales, donde la adopción de un programa de erradicación-confinamiento con restricciones fitosanitarias, también afectaría directa o indirectamente al cultivo asociado); d) severidad del ataque y si es un caso aislado en el área del brote o ya ha existido una dispersión de la plaga; e) el apoyo que podría esperarse de los agricultores o dueños de las plantaciones; f) el nivel de aislamiento relativo del área para implementar la restricción del acceso al área de personas, equipos y animales; g) la topografía del lugar que puede coadyuvar al movimiento del agua de escorrentía así como la necesidad o no y factibilidad de implementar obras de ingeniería para limitar este movimiento; h) la existencia de fuentes de agua que pudieran mover el inóculo; i) la posibilidad de implementar movimiento seguro de material de propagación, y la utilización posterior del suelo para otros fines.

Hasta la fecha no se ha informado ningún caso de éxito en la erradicación Foc R4T. En Australia, se logró aparentemente un retardo en la evolución de la epidemia mediante actividades de vigilancia fitosanitaria, la práctica del saneamiento, eliminación de las plantas afectadas, desinfección del suelo, eliminación de malezas en el sitio y medidas fitosanitarias de contención tales como: prohibición de uso de material de plantación, desinfección de equipos y herramientas y reglamentaciones que impiden el acceso al área de los brotes (confinamiento). Sin embargo, no hay datos oficiales de que se haya erradicado Foc R4T en los territorios del norte de Australia, que es donde se encuentra la plaga en ese país.

Hay medidas técnicas que podrían permitir la erradicación, pero su éxito dependerá de las características del brote (Apartado 9). Por otro lado, se necesitan más investigaciones, sobre la capacidad y efectividad de detección de estructuras viables Foc R4T en suelo después de haber aplicado medidas de erradicación.

Para el éxito de un programa de emergencia contra Foc R4T en el ámbito regional, es importante la aplicación de medidas de erradicación-confinamiento o supresión-contención en cualquiera de los países miembros del OIRSA donde ocurra una introducción, aun cuando las musáceas no tengan un gran papel en sus economías.

3.2 Factibilidad Económica de la Erradicación-Confinamiento

Para coadyuvar a la toma de decisiones en las acciones de respuesta, es necesario realizar un análisis beneficio/costo de las opciones propuestas. Los beneficios representan el ahorro directo de costos en que, de otra forma, se habría incurrido si el programa no se hubiese implementado. Los costos de una campaña de erradicación reflejan usualmente los costos directos e indirectos asociados con la implementación y ejecución del programa. Hay también costos y beneficios secundarios que ocurren como consecuencia de los efectos del programa (Plant Health, 2010).

Estimación de los beneficios

La estimación de los beneficios es muy dependiente de la habilidad o posibilidad de predecir los impactos que se hubiesen tenido si un brote de Foc R4T no fuese controlado. Los datos del impacto que la plaga ha tenido en los países donde se ha establecido son útiles, pero no definitivos.

En los países donde Foc R4T está presente, se ha tenido un impacto negativo directo sobre la industria de exportación bananera al disminuir la vida productiva de las plantaciones, aumentar significativamente los costos de producción en regiones históricamente ligadas al cultivo de musáceas y la adopción de nuevos sistemas de producción. Sin embargo, las plagas introducidas pueden comportarse de forma diferente en un nuevo ambiente en comparación con el ambiente original.

Beneficios primarios:

- Prevención de pérdidas futuras de cosecha en el cultivo por la plaga;
- Valor de las pérdidas económicas para el país debido a restricciones de acceso a los mercados si la plaga estuviese presente; y
- Costo de las medidas de control de la plaga que no se harían.

Beneficios secundarios:

- Ahorro de daños a la propiedad privada, jardines privados, daño a la naturaleza o a la tierra no cultivada;
- Ahorro de los costos de ajustes estructurales en la industria afectada;
- Ahorro de costos a los sectores asociados; y
- Prevención de los impactos negativos al ambiente de trabajo/esparcimiento y las opciones de empleo.

Otros aspectos a considerar para el cálculo de los beneficios:

La información del impacto de la plaga en otros lugares debe ser reevaluada tomando en consideración las condiciones del país en cuestión, tales como:

- Clima;
- Susceptibilidad de las variedades;
- Rango de las plantas hospedantes potenciales;
- Regímenes de tratamientos;
- La capacidad potencial de adaptación al nuevo ambiente (sobre la base del conocimiento del rango geográfico); y
- Las actividades agrícolas alternativas disponibles en el caso de abandono del rubro de musáceas.

Para estimar el impacto de la plaga es también necesario un buen conocimiento de la industria bajo amenaza. Considerar:

- Hospedantes en riesgo;
- Valor de los hospedantes;
- Características socioeconómicas;
- Lugares de las áreas de producción principales y secundarias;

- Variedades cultivadas (y su susceptibilidad a la plaga);
- Cifras de producción (valor y volumen);
- Cifras de comercio (mercados internos y de exportación); y
- Medidas fitosanitarias aplicadas a las importaciones (en caso de que hubiesen).

La estimación de los beneficios del programa será determinada en relación con el impacto que tendría en un país el establecimiento y dispersión de Foc R4T.

Estimación de costos

Costos primarios:

Éstos incluyen rubros como:

- Costos operacionales del establecimiento del grupo básico de trabajo (GBT);
- Costos de detección y diagnóstico de la plaga;
- Costos de erradicación-confinamiento de la plaga. Es importante considerar que las plantas con síntomas y sus hijos (que ya están infectados, aunque no muestren síntomas), son fuentes importantes de inóculo por lo deberán eliminarse. Por este motivo deben incluirse los costos de eliminación del plantón completo y el tratamiento de desinfección del suelo y restos vegetales;
- Probabilidad de reintroducciones;
- Salarios de los funcionarios encargados de la ONPF, de consultores y trabajadores durante la acción;
- Viajes y transporte;
- Comunicación, divulgación y administración;
- Equipamiento/maquinaria y vehículos;
- Materiales y equipo de aplicación de agroquímicos (insumos)
- Insumos (plaguicidas, desinfectantes, etc.)
- Alquileres, mantenimiento de instalaciones;
- Inversiones en la finca para el cumplimiento de las medidas de contención.
- Costos debido al establecimiento de barbechos prolongados;
- Alerta y percepción pública/programas de educación y relaciones públicas;
- Aranceles y tarifas legales;
- Procesamiento y análisis de datos; y
- Contratación y/otros costos administrativos incurridos por los servicios de la ONPF.

Costos secundarios:

- Efectos adversos posibles del programa de erradicación sobre la salud humana, otras especies no objetivo, y el ambiente; y

- Costos al (los) agricultor(es) afectado(s), incluyendo pérdidas de ingresos, valor de la reducción de los activos personales, costos incurridos como resultado de las restricciones cuarentenarias y/el impacto en los estilos de vida.

Para la estimación de los costos específicos es útil agruparlos según las actividades:

Vigilancia:

- Encuestas de detección, delimitación y monitoreo de la plaga.

Investigación sobre el hallazgo

- Trabajo del CESV y GBT;
- Investigación sobre posibles rutas de ingreso y dispersión de la plaga.

Erradicación confinamiento

- Tratamiento de plantas hospedantes
- Establecimiento y mantenimiento de la cuarentena

Evaluación y documentación de la plaga

- Documentación

Además debe considerarse la estimación de costos para los involucrados: las ONPF, sector privado, productores, negociantes, exportadores, importadores, proveedores, etc.

3.3 Factibilidad Técnica y Económica de un Programa Alternativo a la Erradicación

Como ya se mencionó, la erradicación de Foc R4T una vez establecido es difícil, sobre todo si consideramos que no depende solo de las acciones ejecutadas por el hombre, sino también de otros factores fuera de su control, por ejemplo, distribución en malezas, dispersión de estructuras reproductivas en el agua de escorrentía superficial, topografía del sitio y la complejidad agrícola del mismo. Si se actúa rápidamente y de forma eficaz, aunque no se logre la erradicación de la plaga se puede contener, limitar y atrasar su dispersión a través de medidas de supresión-contención de brotes, permitiendo con ello más tiempo para organizarse mejor e incrementar aún más las posibilidades de retrasar el impacto económico de dispersión de la misma. Sin embargo, los costos de un programa de supresión - contención podrán ser más altos por el hecho de que este programa incluye actividades continuas para limitar los impactos de la plaga.

Para calcular los costos de un programa de supresión-contención se deben considerar los mismos conceptos antes mencionados para el programa de erradicación – confinamiento, los cuales son muy similares ya que prácticamente comprenden los mismos componentes. En el mismo, varían esencialmente el área donde se eliminarán las plantas y suelo a desinfectar cuando se presentan casos de marchitez por *Fusarium* y los ingredientes activos a utilizar en el programa para la desinfección del suelo (ver el Apartado 9.2).

IV. PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS

4.1 Marco Legal sobre Emergencias Fitosanitarias

Para la implementación de un posible programa de emergencia basado en el presente Plan de Contingencia contra Foc R4T, es preciso que se cuente con un marco jurídico adecuado, que dé soporte legal a todas las medidas que sean aplicadas por las ONPF. La reglamentación fitosanitaria nacional a elaborar para enfrentar esta plaga deberá estar armonizada con la normativa internacional y con las normas regionales en sanidad vegetal (NRSV) del OIRSA.

Cada país debería de contar en su legislación fitosanitaria con disposiciones que concedan autoridad legal a las ONPF, a fin de que puedan proceder mediante reglamentaciones nacionales específicas de emergencia, ante la incursión de plagas cuarentenarias de notificación obligatoria tales como Foc R4T. Si no es así, se sugiere iniciar con la mayor brevedad, una revisión de su legislación fitosanitaria. Se recomienda enfáticamente contar con disposiciones legales para el establecimiento de cuarentenas internas y procedimientos para la producción de semilla certificada libre de la plaga (certificación de viveros).

4.2 Acciones a Reglamentar

Los elementos necesarios a considerar en una reglamentación fitosanitaria en caso de una emergencia por un brote de Foc R4T, tendiente a la erradicación o contención de la plaga, se mencionan a continuación:

- Ingreso a propiedades con el propósito de inspección en el marco de una posible emergencia fitosanitaria;
- Investigación de plantas sospechosas y toma de muestras de ellas;
- Establecimiento y mantenimiento de áreas bajo cuarentena en los lugares donde ocurran los brotes;
- Emisión de órdenes para la destrucción de plantas y materiales vegetales infectados;
- Eliminación de las hierbas en el lugar del brote y de ser posible en un radio más extenso;
- Restricción del movimiento de plantas, productos, equipos, vehículos y otras fuentes potenciales de contaminación y dispersión;
- Requerimientos a los propietarios de los sitios afectados para que implementen las medidas fitosanitarias de cuarentena y de erradicación.

En los países miembros del OIRSA, no existen reglamentaciones contra ninguna de las razas de Foc, con la excepción de Panamá, que publicó uno sobre la raza 4 tropical (MIDA, 2008). Con el propósito de contribuir con una guía para que en cada país puedan desarrollarse reglamentaciones contra Foc R4T en caso de una posible introducción, acorde con las necesidades y condiciones específicas, se incluye en el Apéndice 6 un modelo de decreto de emergencia. El reglamento modelo cubre diferentes temas. **En lo general:** el objetivo, campo de aplicación, las regulaciones y sus alcances. **En lo particular:** los poderes del Ministro de Agricultura para emitir decretos;

acciones para evitar la introducción y la dispersión de plagas; tratamiento y erradicación de plagas; aviso de aparición de una plaga; aspectos de cuarentena; nombramiento de inspectores, sus poderes y limitaciones; derechos de los propietarios; emisión de notificaciones, decretos, así como violaciones al reglamento y penalizaciones.

4.3 Evaluación del Cumplimiento

Durante el desarrollo del programa de emergencia deben identificarse y evaluarse periódicamente las deficiencias en las reglamentaciones fitosanitarias nacionales vigentes específicas o aplicables a Foc R4T. Serán objeto de la evaluación todos los actores involucrados, incluyendo los gubernamentales. Es necesario hacer énfasis en los elementos de la reglamentación que son clave para el éxito del programa de erradicación – confinamiento o los de supresión-contención (como son los señalados en el apartado 4.2).

Con base en los resultados de las evaluaciones podrán sugerirse modificaciones a las reglamentaciones y en la operación técnica del programa, así como en los procedimientos empleados para asegurar el cumplimiento de las reglamentaciones fitosanitarias y para determinar el grado de su cumplimiento (conformidad).

V. ORGANIZACIÓN PARA LA EJECUCIÓN

Es conveniente que en todos los países miembros del OIRSA existan mecanismos apropiados para afrontar la incursión de plagas cuarentenarias. Lo recomendable es mantener organizado un equipo multidisciplinario de carácter consultivo, como por ejemplo, un Comité de Emergencia de Sanidad Vegetal (CESV), que podría reunirse mediante convocatoria del jefe de la ONPF cuando se presenten los eventos (brotes con diagnóstico preliminar confiable de plagas cuarentenarias). La composición, objetivos, facultades, responsabilidades y forma de operación de este Comité deberán estar especificados en el decreto u ordenanza de su creación. Entre otras responsabilidades, del CESV, pueden considerarse: a) evaluar el brote y recomendar las medidas que deben tomarse (erradicación, contención manejo de la plaga); b) elaborar el decreto de emergencia fitosanitaria; c) designar el grupo básico de trabajo (GBT) y establecer sus funciones; d) revisar y aprobar el plan operativo de emergencia elaborado por el GBT; e) colaborar con la gestión de financiamiento del plan operativo de emergencia; f) convocar a grupos multidisciplinarios de especialistas (protección vegetal, economía, impacto ambiental) para su asistencia (recomendaciones técnicas) en el proceso de toma de decisiones y h) evaluar el plan operativo de emergencia en cualquier etapa de ejecución a fin de decidir sobre la continuidad del mismo o sobre cambios en las estrategias (erradicación – confinamiento) a medidas alternativas (supresión – contención) o viceversa, considerando para esto la factibilidad técnica y económica.

5.1 Activación de la Emergencia

La emergencia se activa con la detección de un caso sospechoso de Foc R4T. Aunque no se desarrolle todo el sistema, la logística para llegar hasta el diagnóstico preliminar debe estar asegurada. Las siguientes fases deben estar preparadas: a) confirmación del diagnóstico y b) declaratoria (norma, decreto o resuelto) de emergencia. Dependiendo del juicio experto, pueden recomendarse acciones precautorias de emergencia desde el momento de la detección de un caso sospechoso de brote de Foc R4T (ver Apartado 2.2).

Es preciso aclarar que las acciones precautorias de emergencia deben aplicarse en concordancia con las disposiciones del marco legal vigente en cada país miembro del OIRSA, para evitar en lo posible que los funcionarios oficiales incurran en abusos de autoridad.

Es conveniente que la declaratoria (norma, decreto o resuelto) de emergencia se haga una vez recibida la confirmación del diagnóstico, por un especialista o por el laboratorio de referencia. Sin embargo, si el diagnóstico preliminar es confiable y se considera necesaria la implementación rápida de acciones de erradicación o contención, con repercusiones considerables en los interesados/ afectados, tendrá que declararse la emergencia oficialmente mediante los procedimientos establecidos, a fin de respaldar legalmente las acciones a implementar.

5.2 Procedimientos para la Evaluación Preliminar

Los datos obtenidos en la detección inicial del evento sospechoso, el diagnóstico preliminar y la confirmación del diagnóstico (apartados 2.1; 2.2 y 2.3) y la demás informaciones que hayan sido recopiladas sobre la condición del brote constituirán la información básica con la que el CESV u otro ente o persona, realice la evaluación preliminar del caso.

El grupo o persona encargado de la evaluación preliminar del caso, debe tener disponible, por lo menos, la información básica siguiente:

- a) Ubicación geográfica del (o los) brote(s) con detalles del sitio como: propietario, dirección o descripción de la ruta de acceso, ubicación en un mapa [si es posible incluir latitud, longitud (georreferenciación) y altitud];
- b) Hospedantes infestados en el lugar (localización, especies, estados fenológicos, descripción de síntomas y partes de las plantas afectadas);
- c) Extensión aproximada e impacto observado (descripción de los daños, grado de incidencia y severidad, condiciones de las plantas infectadas, de ser posible documentados mediante imágenes);
- d) Forma en que la plaga fue detectada e identificada;
- e) Importaciones recientes de plantas y productos vegetales;
- f) Historia de la plaga en el campo, lugar de producción o área (cuándo y cómo se observó la plaga por primera vez, posibles vías por las cuales el Foc R4T pudo haberse introducido al lugar);
- g) Descripción o registros del movimiento (hacia adentro y hacia afuera) de personas, productos (principalmente plantas y partes de las mismas), equipos y medios de transporte en el sitio de detección o presencia;
- h) Mecanismos de dispersión más probables en el área del brote;
- i) Condiciones climáticas prevalecientes, accesibilidad, fisiografía, disponibilidad de hospedantes, grado de aislamiento del área infestada; y
- j) Prácticas de cultivo.

La información básica recopilada deberá proporcionar los elementos para que el CESV o la(s) persona(s) que haga(n) la evaluación preliminar, pueda(n) determinar las acciones que deberán emprenderse para afrontar la emergencia.

Mediante el estudio de la condición de la plaga, deberá hacerse una estimación sobre:

- a) El posible impacto de Foc R4T en el agro-ecosistema o hábitat vegetal;
- b) La posible extensión y distribución actual en el país;
- c) Oportunidad y viabilidad de la erradicación (ver posibles escenarios en el Cuadro 1);
- d) Necesidad de implementar acciones inmediatas de supresión, contención y/o erradicación;
- e) Necesidad de un reglamento y plan operativo de emergencia;
- f) Disponibilidad en el mercado de productos químicos efectivos para erradicar el Foc R4T;
- g) Necesidad de recursos financieros;
- h) Factibilidades técnicas y económicas; e
- i) Indicación sobre la necesidad de informaciones suplementarias.

Las cuestiones clave que se aborden en la evaluación preliminar ayudarán a determinar si el brote puede ser efectivamente erradicado y contenido, o si existe la posibilidad de que se disperse rápidamente, dando lugar a pérdidas económicas y/ o ambientales. Para algunos casos de incursiones o brotes de Foc R4T puede ser necesario pasar rápidamente a la fase operacional para llevar a cabo acciones de emergencia a fin de aprovechar oportunidades y evitar mayores consecuencias (ver apartado 2.1).

5.3 Respuestas Operacionales según la Condición

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* es una plaga de difícil erradicación una vez establecida (ver descripción de la plaga en el Apéndice 1), por lo que deberá realizarse un análisis minucioso de la información recopilada a fin de reducir las posibilidades de fracasos por deficiencias en el análisis o por vacíos en la información obtenida.

Entre las respuestas operacionales posibles ante un brote de Foc R4T pueden señalarse:

- Confinar o contener la plaga (en áreas infestadas bajo cuarentena);
- Erradicar la plaga con las técnicas apropiadas para este fin (tener en cuenta que las mejores opciones son las que interrumpen inmediatamente la dispersión del patógeno y destruyen los tejidos colonizados por el mismo);
- Manejar la plaga, empleando diferentes técnicas [control cultural, exclusión a través de semilla sana, control mecánico, control genético (sustitución de variedades susceptibles por tolerantes o resistentes), todas apoyadas con reglamentación fitosanitaria], a fin de evitar y disminuir los daños, tanto económicos como ambientales;
- Obtener con prontitud mayor información en caso de que la disponible sea considerada insuficiente para la toma de decisiones;
- No realizar ninguna acción (el desarrollo del programa de emergencia no es práctico o es inviable).

Entre las informaciones sobre Foc R4T que deberían considerarse en la toma de decisiones sobre las respuestas operacionales (decisión final), se pueden mencionar:

- a) Existen experiencias de manejo con la sustitución de variedades, como por ejemplo, lo que ocurrió en América Latina y el Caribe con la variedad Gros Michel y la raza 1 cuando fue sustituida por clones del subgrupo Cavendish. Sin embargo, en el caso de R4T y los Cavendish, esto no es hasta el momento una opción factible. Foc R4T afecta los clones que ocupan el 80% de la superficie mundial plantada de plátanos y bananos. En Taiwán y algunos países asiáticos, se ha sustituido el Cavendish por somaclones obtenidos de este clon por cultivo de tejidos, como por ejemplo el GCTCV-119, los cuales han mostrado retardo del progreso de la enfermedad, posibilitando su siembra comercial en campos infestados con Foc R4T (Molina *et al.*, 2011). No obstante se desconoce su aceptabilidad agronómica en las Américas
- b) La dispersión natural de la plaga ocurre asociada con el agua de escorrentía superficial entre plantas y el movimiento de suelo por el viento, zapatos de los trabajadores de las plantaciones y/o maquinarias e implementos agrícolas;

- c) La plaga también puede dispersarse de forma artificial (por el ser humano) a grandes distancias, especialmente en hijuelos asintomáticos pero infectados. De hecho, este ha sido el principal factor de dispersión de la enfermedad tanto en el caso de la epidemia de Foc R1 en el Gros Michel a principios del pasado siglo, como en la actualidad con Foc R4T;
- d) El plan de manejo de Foc R4T, debe comenzar por la delimitación y caracterización del área afectada, contención de la plaga y organización de un programa de semilla sana certificada para establecer nuevas plantaciones;
- e) Foc R4T puede estar asociado con malezas que portan el patógeno pero no muestran síntomas (ver lista de hospedantes en el Apéndice 4);
- f) El control químico no es una opción para prevención de las infecciones de Foc R4T en las plantaciones de producción, pero es una medida a considerar para la erradicación de los brotes mediante la eliminación de plantas infectadas y la desinfección de suelos donde estaban las plantas afectadas y las colindantes. El uso de agentes de control biológico ha tenido resultados prometedores en estudios *in vitro* e invernadero, pero no ha sido eficiente de manera general en campos de producción como medida aislada y a largo plazo. El uso de ciertos agentes de biocontrol como los del género *Trichoderma* spp. con acción comprobada contra Foc podría ser una opción de manejo de la enfermedad si fuese utilizado junto a la siembra de vitropalantas o material de siembra certificado;
- g) Aunque las medidas individuales para el control de Foc R4T no sean suficientemente exitosas si son utilizadas individualmente, en un plan de manejo integrado de la plaga pueden ser relevantes para lograr el éxito (ver Apartado 9).

En el Cuadro 1 se presentan posibles escenarios que podrían facilitar el proceso de toma de decisiones. Estos escenarios son apenas ejemplos, pues los casos pueden ser diferentes, por lo que el análisis deberá hacerse según cada caso.

Cuadro 1 - Posibles escenarios ante un brote de Foc R4T, según se favorezca la erradicación -confinamiento o la supresión-contención (medida alternativa)

Factores a favor de la erradicación – confinamiento	Factores a favor de la supresión-contención
El área del brote es pequeña, se encuentra aislada por barreras naturales y hay certeza de que la plaga no ha sido dispersada por cualquier medio factible fuera de la misma (la plaga se encuentra confinada).	El área del brote, aunque es pequeña, no se encuentra completamente aislada. Hay probabilidad de escape de la plaga a otras áreas.
Las medidas disponibles para la erradicación o confinamiento de Foc R4T pueden aplicarse en el área del brote.	No es factible la aplicación eficaz de medidas para la erradicación o confinamiento, aunque sí para la supresión del brote en el área.
Se detectó solamente un brote y se tiene certeza (por investigación de antecedentes) que este brote es el resultado directo de una sola introducción al país (no ha ocurrido dispersión secundaria).	*Se detectaron varios brotes en lugares distantes, por lo que es muy probable que se trate de una dispersión después del establecimiento de la plaga en el país. No fue posible establecer la ruta, vía o procedencia de la plaga.
El sitio o área del brote es de fácil acceso y permite una adecuada y eficaz aplicación de las medidas de control tendientes a la contención, erradicación y posterior vigilancia de la plaga para verificar si ocurren rebrotes.	El sitio o área del brote es inaccesible o no permite que se apliquen medidas de erradicación o supresión de la plaga, no obstante medidas de contención podrían implementarse aunque en un área extensa

*En este caso las medidas de supresión-contención podrían no ser eficaces por lo que la implementación de medidas orientadas al manejo de la plaga será un asunto a considerar.

5.4 Implementación del Plan Operativo

Después de haber tomado la decisión final del tipo de respuesta operacional, se debe determinar cómo organizar la implementación del plan operativo (para aspectos técnicos a desarrollar en el plan, consultar los apartados VIII y IX y proceder según aplique para cada caso).

En caso de que la respuesta operacional sea la de erradicación-confinamiento o la supresión-contención de Foc R4T, es recomendable que el CESV u otra entidad encargada de atender la emergencia, organice la activación de un grupo básico de trabajo (GBT) y designe a un coordinador. Este grupo funcionará en calidad de comando central de control de la plaga, dirigido por un experto en protección vegetal y actuará conforme a las políticas emitidas por el CESV. El tamaño del GBT variará dependiendo del alcance del programa y de los recursos de la ONPF disponibles. Los programas grandes pueden requerir un comité directivo o un grupo de consejeros, incluyendo los diferentes grupos de interés que puedan estar afectados. En caso de que el programa abarque varios países, habrá que considerar un comité directivo regional. Es recomendable que el GBT se establezca cerca, aunque no dentro, del área afectada, a menos que sea un área urbana densamente poblada. El lugar debe contar con todos los recursos básicos necesarios (líneas telefónicas, energía eléctrica, agua, etc.) y ofrecer condiciones de funcionamiento seguras. La cantidad de personal directivo, administrativo y operativo dependerá de la envergadura de la campaña. El GBT deberá actuar tanto en las medidas erradicación – confinamiento como en caso que se opte por la supresión-contención y tendrá, entre otras, las responsabilidades siguientes:

- a) Elaborar o ejecutar el plan operativo del programa de emergencia contra Foc R4T y modificarlo si es necesario, según indicaciones del CESV;
- b) Asegurar que el programa de erradicación-confinamiento o supresión-contención a corto plazo cumpla con los requisitos de una campaña de control exitosa;
- c) Designar y definir las obligaciones de los operadores, asegurando que éstos comprendan sus responsabilidades y documenten sus actividades;
- d) Conducir en forma apropiada las labores de vigilancia de la plaga;
- e) Erradicar - confinar o suprimir – contener los brotes de Foc R4T aplicando las técnicas disponibles y autorizadas:
 - Control químico: aplicación de herbicidas para eliminar las plantas infectadas y aplicación de productos químicos desinfectantes al suelo
 - Control biológico: empleo de agentes de control biológico
 - Control físico o mecánico: corte y remoción y destrucción por incineración de plantas y partes de plantas afectadas;
 - Cuarentena vegetal (delimitación de áreas, establecimiento de puntos de control o puestos de cuarentena interna, restricción al movimiento de vías de la plaga, aplicación de tratamientos u otras acciones de emergencia a vías de la plaga en los puntos de control);
- f) Implementar un sistema de comunicaciones apropiado, incluyendo un programa de divulgación y relaciones públicas;

- g) Consultar e involucrar a las partes afectadas, por ejemplo, productores, comerciantes, otras oficinas gubernamentales y organizaciones no gubernamentales en lo relativo a las actividades del programa de emergencia;
- h) Mantener la coordinación interinstitucional necesaria para el buen desarrollo del programa;
- i) Implementar un sistema de manejo de la información que incluya mecanismos para registro (elaborar hojas de cálculo, para llenado de datos de muestreo o evaluaciones) y documentación adecuada de los datos;
- j) Verificar y evaluar constantemente las acciones en los puntos críticos del programa;
- k) Realizar las evaluaciones de riesgo (establecimiento y dispersión después del establecimiento) de la plaga, realizar el análisis de los datos sobre la vigilancia y el control (incluyendo erradicación-confinamiento) de la plaga;
- l) Evaluar periódicamente todo el programa, para lo cual, en programas fitosanitarios se establece un Comité de Regulación y Seguimiento, que evalúa quincenal o mensualmente los informes técnicos y financieros del programa, para modificar o avalar cualquier actividad y revisar la condición de la plaga sobre los diferentes cultivos.

Dentro de las atribuciones del Coordinador del GBT pueden estar:

- Coordinar las diferentes acciones fitosanitarias que se realicen para afrontar la plaga (encuestas, tomas de muestras, tratamientos, controles, revisar funcionamiento adecuado del equipo, etc.);
- Velar por el buen empleo de los recursos disponibles;
- Coordinar las actividades de capacitación y divulgación que se ejecuten;
- Verificar que los operadores del programa tengan la autoridad y preparación apropiada (capacitación) para llevar a cabo sus responsabilidades;
- Revisar constantemente la información generada para verificar si el programa de emergencia se está llevando a cabo en forma apropiada y si se están obteniendo los resultados esperados;
- Sugerir las modificaciones tanto operativas como organizacionales que sean necesarias para la adecuada ejecución del programa, incluyendo sugerencias y justificaciones sobre su continuidad o suspensión;
- Incorporar los cambios que sean necesarios dentro del programa, según lo haya aprobado el CESV;
- Indicar el personal y los recursos necesarios para la ejecución de las diferentes actividades consideradas en el programa de emergencia;
- Designar coordinadores de los diferentes equipos de trabajo y establecer sus responsabilidades;
- Concertar reuniones informativas de avances del programa con directivos del sector oficial fitosanitario y productores agrícolas.

Si después de un examen de la condición del Foc R4T en el área (o áreas) infestada(s) o después de un programa de erradicación – confinamiento que no logró su objetivo, se decide implementar un programa de supresión-contención (Cuadro 1), es recomendable que el CESV u otra entidad encargada de atender el caso, determine el mecanismo para elaborar dicho programa teniendo en cuenta las reglamentaciones y programas previos que estén disponibles. En ese caso, el GBT trabajará hasta establecer efectivamente las medidas de contención. En caso de que la plaga adquiera amplia dispersión y se considere que la contención no tiene más objeto, el plan operativo finalizará dando lugar a un programa de manejo de la plaga.

5.5 Capacitación

El personal que se involucre en el programa debe estar adecuadamente capacitado para realizar las actividades asignadas y, cuando sea apropiado, debería evaluarse su desempeño. La capacitación de personal nuevo que se incorpore en las diferentes labores que contemple el plan operativo de emergencia, debe estar a cargo de especialistas o personal previamente entrenado y apto para impartirla. Esta capacitación podría comprender temas sobre la realización de encuestas (detección, delimitación, monitoreo de Foc R4T), técnicas para la toma y envío de muestras al laboratorio, uso de materiales y equipo para estas labores), biología, síntomas y daños del Foc R4T, reconocimiento (identificación) de hospedantes, evaluación de la severidad de los síntomas, toma de fotografías y análisis de laboratorio para la identificación de posibles brotes sospechosos de Foc R4T (en el Apéndice 8 se proponen los temas para un programa de capacitación).

5.6 Registros e Informes

La NIMF N° 8, *Determinación de la situación de una plaga en un área*, proporciona orientación sobre las buenas prácticas de presentación de informes y sobre el contenido de un registro de una plaga. Las acciones que conlleven a un registro de la plaga deben contar con los datos que especifica la NIMF N° 8. Las personas u organizaciones involucradas en reunir información de brotes de Foc R4T, deben suministrar al CESV y a otras autoridades oficiales e instituciones detalles precisos y completos, a fin de facilitar la toma de decisiones y difundir información de manera general que sea confiable y de calidad. Para elaboración de informes y registros deberán tenerse en cuenta los siguientes puntos:

- Especificar claramente los destinatarios de los informes realizados. Entre las personas que deberán estar informadas están: a) Jefe del Grupo Básico de Trabajo; b) Comité de Emergencia en Sanidad Vegetal; c) Autoridades oficiales en el ramo (Ministro o Secretario, Director, Jefe o Encargado de la ONPF, Directores o Jefes de Programas);
- Elaborar, actualizar y mantener los registros de manera que se pueda contar con información detallada que permita visualizar el histórico de la plaga;
- Basar las determinaciones de la condición de un brote sospechoso de Foc R4T en un área conforme a la información más confiable y oportuna disponible;
- Informar tan pronto como sea posible al OIRSA sobre la existencia de un brote sospechoso de Foc R4T;

- Mantener informado al OIRSA de los cambios relevantes en la condición del brote, de la aparición de nuevos brotes sospechosos, o de la determinación de que el brote no sea de Foc R4T y que no represente emergencia fitosanitaria;
- Cuando haya registros erróneos, corregirlos lo antes posible, dejando evidencias claras de que se efectuó la corrección y los detalles corregidos.

Si el programa de emergencia adquiere una dimensión que implique la generación de una gran cantidad de datos, se debe organizar un equipo dedicado a la recopilación y procesamiento de datos, que al mismo tiempo realice y/o apoye la elaboración de los informes, proporcionando la información requerida para los mismos.

5.7 Supervisión y Control de Calidad

Para asegurar el éxito de un programa de emergencia, son necesarios la supervisión y control de la calidad, especialmente de las actividades críticas como la implementación de la cuarentena, la realización de encuestas y la supresión de brotes.

Una supervisión adecuada tendrá una incidencia positiva en:

- El cumplimiento de la reglamentación fitosanitaria y de las disposiciones en materia de seguridad ocupacional;
- La planificación adecuada del trabajo;
- La optimización en el uso de los recursos;
- La identificación de los procesos a mejorar;
- El control de los estándares de calidad;
- La capacitación del personal;

Por otro lado, el control de calidad concederá:

- Fiabilidad e integridad a la información que se recopile (por ejemplo a los registros de la cuarentena y a los datos de las encuestas de detección, delimitación y monitoreo);
- Fiabilidad a procesos en los que se demanda precisión (por ejemplo en la supresión de la plaga) y,
- Facilidad para identificar los problemas principales.

5.8 Decisiones Posteriores a la Emergencia

Estas decisiones están relacionadas con la terminación del programa debido a que la plaga se erradicó, o con la continuidad del programa, mediante la conversión del programa de emergencia en uno de más larga duración que implique actividades de manejo y vigilancia de la plaga. Los resultados obtenidos durante el programa de emergencia tendrán mucha influencia en el tipo de decisiones que se tomen a su término. Por ejemplo, si se logra la erradicación, será muy importante mantener el sistema de vigilancia operando óptimamente e iniciar, tan pronto como sea posible, programas de replantación y establecimiento de huertas para material de propagación

sano preferiblemente resistente a Foc R4T. Si no se logra la erradicación o contención, podrá ser necesario continuar con las acciones de manejo de los brotes.

5.9 Simulacro

La realización de simulacros de brotes de Foc R4T podrá cumplir con los propósitos siguientes:

- Mejorar la capacidades de la ONPF para afrontar casos reales de brotes de Foc R4T en un país donde la plaga no esté presente;
- Identificar puntos débiles o aspectos aún por cubrir, o realizar adecuaciones debido a las condiciones particulares del país;
- Con la información generada, realizar los análisis de factibilidad con bases más sólidas;
- Capacitar al personal de la ONPF en emergencias fitosanitarias.

Los simulacros podrán realizarse solamente para probar parte del plan (simulacro parcial) o para hacerlo en su integridad (simulacro total). En el primer caso debe definirse el o los componentes del plan que se desee someter a prueba.

Los aspectos a considerar en un simulacro de emergencia por una incursión de plagas cuarentenarias a un país son entre otros:

- Designación de los equipos de planeación, coordinación y evaluación;
- Fecha y lugar de realización;
- Objetivo;
- Guión;
- Instrucciones para los participantes;
- Organización del apoyo logístico;
- Preparación del sitio y las características del evento a representar;
- Coordinación interinstitucional (las que participarán);
- Listas de chequeo de responsabilidades y asignación de roles a los participantes según el esquema organizacional del sistema fitosanitario nacional;
- Definición de los parámetros a evaluar;
- Secuencia lógica de acciones a ejecutar.

El guión del simulacro podrá iniciar desde la detección de un caso sospechoso de Foc R4T, y describirá de manera esquemática y cronológica la secuencia de acciones que determinan la participación de los simuladores (personas) y de instituciones.

Los evaluadores deben tener conocimiento de lo establecido en el plan de contingencia, ya que deberán observar y destacar las fortalezas y debilidades del proceso con énfasis en los aspectos a mejorar en el plan y en futuros ejercicios.

VI. COMUNICACIÓN Y DIVULGACIÓN

6.1 Políticas y Estrategias de Comunicación y Divulgación

La implementación de un programa de emergencia contra Foc R4T debe considerar desde su inicio, el desarrollo de una campaña de comunicación y divulgación que alerte a los agricultores y al público en general sobre la detección de la plaga en el área y sobre ciertas acciones fitosanitarias oficiales. Esta campaña debe considerar todos los niveles de interés incluyendo ministerios, industrias, empresas, gobiernos municipales, agricultores y la comunidad en general.

Los contenidos de los mensajes tanto de comunicación como de divulgación deben orientarse según se trate de una comunicación al público general o se trate de aspectos específicos sobre el brote de la plaga para un público objetivo en particular. Los contenidos de las notificaciones de carácter normativo sobre el brote de la plaga a otros países e instituciones deben hacerse de acuerdo con las normas (leyes y reglamentos) nacionales, regionales e internacionales.

Debe asegurarse que las comunicaciones sobre el programa sean apropiadas, precisas y oportunas, de tal forma que: a) se propicie la aceptación del programa y la colaboración, b) se estimule la atención para el reconocimiento y reporte inmediato de la presencia de la plaga; c) se aumente el conocimiento sobre las restricciones al movimiento de vías potenciales de la plaga y sobre las acciones fitosanitarias que se realizan, d) se estimule el interés y las expectativas sobre nueva información acerca del programa y e) se mantenga el interés y participación de medios de comunicación.

La NIMF N° 17, *Notificación de plagas*, señala las responsabilidades de la ONPF y los requisitos para notificar la presencia, el brote y la dispersión de plagas. Del mismo modo, proporciona las pautas para notificar el éxito en la erradicación de plagas y el establecimiento de Áreas Libres de Plagas (ALP). La ONPF debería asegurarse de que se mantengan registros de datos en apoyo de todas las etapas del proceso del manejo de Foc R4T. Es esencial que la ONPF mantenga tal documentación, en el caso de que se requiera de información para respaldar declaraciones sobre la condición de la plaga. Los informes redactados con precisión constituyen una parte esencial de la cooperación internacional, que es fundamental para facilitar el manejo integral del brote sospechoso. La omisión en informar sobre brotes de Foc R4T, o el hecho de presentar informes inexactos, incompletos, atrasados o que puedan ser mal interpretados, propicia el establecimiento de obstáculos injustificados y la introducción o dispersión de la plaga.

Las personas u organizaciones involucradas en reunir información de brotes de Foc R4T deben suministrar al CESV y a otras autoridades oficiales e instituciones detalles precisos y completos, a fin de facilitar la toma de decisiones y difundir información de manera general confiable y de calidad. Entre las buenas prácticas de presentación de informes que deberán observarse se encuentran:

- Basar las determinaciones de la condición de un brote sospechoso de Foc R4T en un área conforme a la información más confiable y oportuna disponible;
- Informar tan pronto como sea posible al OIRSA sobre la existencia de un brote sospechoso de Foc R4T;

- Mantener informado al OIRSA de los cambios relevantes en la condición del brote, de la aparición de nuevos brotes sospechosos, o de la determinación de que el brote no sea de Foc R4T y que no representa emergencia fitosanitaria;
- Corregir registros erróneos lo antes posible.

En la NIMF No. 9, “*Directrices para los programas de erradicación de plagas*” (CIPF-FAO, 2006d), en lo relativo al intercambio de información, se sugiere que antes de la realización de un programa de erradicación de plagas, se consideren campañas de información – divulgación al público (agricultores, residentes y o municipalidades), para promover el conocimiento y aceptación del programa. Debe tenerse en cuenta que la divulgación para la concienciación tiene dos objetivos principales: 1) informar a la audiencia sobre la plaga; y 2) suministrar instrucciones sobre cómo podría ayudar.

El CESV podrá diseñar una estrategia nacional de manejo de la información y de relación con los medios de comunicación. Inicialmente la campaña podrá enfocarse en informar al público sobre la incursión de la plaga, empleando los medios que en el área del brote se consideren más eficientes (avisos en los medios de comunicación, noticias en periódicos, televisión y radio).

Deberá mantenerse una excelente relación con los medios de comunicación y procurar que la información fluya adecuadamente. Toda información que sea facilitada a los medios debe ser oficial y por ningún motivo debe fomentarse generar situaciones que den lugar a la especulación. Es fundamental que todas las acciones de comunicación, tanto en el ámbito nacional como internacional, se basen en el uso de datos precisos y confiables de los registros de plagas. Compartir oportunamente la información sobre la condición de la plaga, respetando los intereses legítimos de todas las partes interesadas y tomando en cuenta lo dispuesto en la normativa internacional debe ser una tónica de la estrategia de comunicación. Si se considera necesario, podrá designarse personal para que se dedique exclusivamente a la comunicación–divulgación del programa de emergencia.

6.2 Comunicaciones Oficiales de Carácter Normativo

Son considerados oficiales los comunicados o notificaciones con carácter formal que envía la institución u organización gubernamental (ONPF) a personas, organizaciones o instituciones del país, de otros países y a organizaciones internacionales. Los comunicados o notificaciones con carácter formal u oficial poseen connotaciones legales que implican cumplimiento. Estos comunicados, comprenden los que se dirigen a individuos, empresas o grupos de personas para dar a conocer acciones fitosanitarias que se emprenderán y que directa o indirectamente pueden afectarlos.

Las comunicaciones oficiales internacionales deberán hacerse principalmente para cumplir con los compromisos contraídos por el país con los socios comerciales o con los establecidos en acuerdos, convenios y normas internacionales (por ejemplo: CIPF-FAO, 2006a; CIPF-FAO, 2006b), tal como en ellos se especifica.

De acuerdo con la NIMF N° 17, el objetivo principal de la notificación de plagas es comunicar el peligro inmediato o potencial que deriva de la presencia, el brote o la dispersión de una plaga

que es cuarentenaria en el país en que se detecta, o que es plaga cuarentenaria para los países vecinos y para aquellos con los que se mantienen relaciones comerciales. La presentación de la notificación de plagas de manera confiable y rápida facilita el funcionamiento eficaz de los sistemas de vigilancia y de notificación dentro de los países.

Las notificaciones de incursiones de Foc R4T tal como lo establece la NIMF N° 17, deben indicar con claridad lo siguiente:

- Identidad de la plaga con el nombre científico [para el caso, nombre de la plaga: Marchitez por *Fusarium* de los bananos y plátanos raza 4 tropical (nombre científico del agente causal: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* R4T)];
- Fecha de la notificación;
- El o los hospedantes o artículos reglamentados (según el caso);
- Condición de la plaga según la NIMF N° 8;
- Distribución geográfica de la plaga (incluso un mapa de ser pertinente);
- Naturaleza del peligro inmediato o potencial u otra razón que justifique la notificación.

Las notificaciones de plagas, que en virtud de la CIPF son obligatorias, pueden hacerse directamente a los puntos de contacto oficiales de los países, pueden también publicarse en un sitio Web nacional y oficial de libre acceso, o remitirse para que se publiquen en el Portal Fitosanitario Internacional (PFI) de la CIPF.

Las ONPF u otras organizaciones o personas involucradas en registrar la presencia, ausencia o transitoriedad de las plagas, deberán adoptar prácticas de información adecuadas con el fin de facilitar la cooperación internacional y poder cumplir con la obligación de informar sobre la presencia, el brote o la dispersión de la plaga.

6.3 Comunicaciones de Carácter General: Relaciones Públicas

Este tipo de comunicación es aquella dirigida al público general y que a la vez puede tener carácter divulgativo. La comunicación efectiva a la población es un factor clave para el éxito de un programa de emergencia y no debe descuidarse en favor de las comunicaciones oficiales que son de hecho normativas. La comunicación y relación con el público de interés es fundamental para garantizar el éxito, principalmente cuando se haya optado por la erradicación – confinamiento de Foc R4T.

Las comunicaciones al público pueden ser resúmenes de acciones, comunicados de prensa, hojas informativas, informes básicos de actividades, etc. Es recomendable que estas comunicaciones estén bajo el control de la organización oficial responsable del programa y, que sean elaboradas por personal autorizado con conocimientos técnicos sobre Foc R4T

En la NIMF N° 9, *Directrices para los programas de erradicación de plagas*, en lo relativo a intercambio de información, se sugiere que antes de la realización de un programa de erradicación de plagas se consideren programas de información – divulgación al público y para grupos particulares que pudieran ser afectados, como agricultores, industria turística, transportistas, residentes, municipalidades, ONG, etc., con el fin de aumentar el nivel de conocimiento y comprensión del programa que se llevará a cabo.

Inicialmente la campaña podrá enfocarse en informar al público sobre la incursión de la plaga, empleando los medios que en el área del brote se consideren más eficientes (avisos en los medios de comunicación, noticias en periódicos, televisión y radio). El uso de materiales impresos, reuniones con agricultores o líderes comunales, conferencias a técnicos agrícolas, podrán ser útiles para favorecer el acatamiento de medidas fitosanitarias (incluyendo las de cuarentena), y estimularán la participación en la detección temprana de nuevos brotes de la plaga. En las cercanías de las área bajo cuarentena y controladas podrá ser necesaria una campaña intensiva de concienciación, para informar sobre las prácticas de control y restricciones que se aplicarán en dichas áreas. Una campaña similar será también de importancia para el área reglamentada.

Si ya se ha informado a la población de interés sobre la incursión de la plaga; las características de la misma y además se le han solicitado consultas o notificaciones sobre casos sospechosos, deberá contarse con una estructura que proporcione atención y dé respuesta adecuada a las consultas que surjan y que recopile los casos que ameriten seguimiento. Algunas opciones que pueden usarse son: a) Servicios telefónicos de llamada gratuita a tiempo completo o con horarios establecidos, atendidos por personal técnico calificado; b) mensajes de texto a una base de datos central (por correo ordinario, electrónico o por fax, cuyos datos hayan sido suministrados previamente); c) Notas informativas o entrevistas en vivo realizadas por técnicos calificados en programas locales de radio o de televisión.

6.4 Divulgación

Aunque la divulgación esté implícita en las acciones de comunicación, principalmente aquellas dirigidas al público en general, la misma juega un papel fundamental para garantizar el éxito.

Son medios eficientes de divulgación: panfletos, afiches, hojas técnicas, comunicados de radio y de televisión, carteles, perifoneo y otros medios destinados a la popularización de la información entre el público general, como los comunicados de prensa. Los comunicados de prensa normalmente son pequeños resúmenes de actividades o datos relevantes para el público. No obstante, podrá ser necesario redactar comunicados de prensa más extensos con informaciones relevantes que puedan servir de consulta, alerta y estimulen la reacción y concienciación de otros sectores. Entre las informaciones que estos comunicados pueden tratar en conjunto, o de manera separada están: a) localización general de la incursión, incluyendo las áreas a ser alertadas en caso de dispersión (por razones de confidencialidad no deberían incluirse detalles personales de los agricultores); b) la forma en que se localizó la plaga; c) si se determinó una posible vía de entrada; d) quién está conduciendo las investigaciones sobre los mecanismos de entrada; e) cuál es el estado del diagnóstico de la plaga; f) información relevante sobre la plaga; g) efectos potenciales a la industria y en el ambiente; h) si hay implicaciones en la salud pública; i) peligros a la economía y gravedad de la situación; j) las organizaciones que están involucradas (incluyendo sus responsabilidades); k) restricciones fitosanitarias relevantes y áreas bajo cuarentena; l) implicaciones internacionales en el comercio debido a restricciones por la plaga; y m) contactos para obtener u ofrecer información.

Los materiales que se elaboren deben ser claros, precisos, de fácil entendimiento y distribución y que no den lugar a la ambigüedad o generen expectativas equivocadas sobre el programa de emergencia.

VII. RELACIONES DE COOPERACIÓN Y COORDINACIÓN

7.1 Colaboración con Sectores interesados

El diseño e implementación de un plan operativo de emergencia basado en este plan de contingencia requieren de la participación de los diferentes sectores interesados que puedan contribuir. En el ámbito nacional, por ejemplo: sector público, sector productivo (productores, industriales, comercializadores, etc.), medios de comunicación, instituciones de investigación y grupos mixtos relevantes. En el ámbito internacional: organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) de otros países, organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF), Secretaría de la CIPF, FAO, Bioversity International y otras organizaciones regionales e internacionales de cooperación, tanto agrícolas como financieras.

7.2 Posibles Áreas de Cooperación

El programa de emergencia para una posible incursión de Foc R4T es de interés regional por lo que convendrá establecer las relaciones de cooperación y coordinación en áreas que se consideren clave. Algunas de las áreas que deberán considerarse se detallan a continuación:

Vigilancia y Control. Las actividades de vigilancia son fundamentales para la pronta detección de nuevos brotes de Foc R4T y en forma subsiguiente, las de control, para evitar la dispersión de la plaga. Por esto, es necesario establecer acuerdos de cooperación con los potenciales afectados primarios: los productores. Los acuerdos de cooperación con productores son importantes por cuestiones operativas y podrán establecerse con productores ya organizados, o que se organicen mediante gestión de la ONPF. Otros cooperantes para la vigilancia y control pueden ser ciertas autoridades civiles (alcaldes, gobernadores provinciales o departamentales, policía, cuerpos de emergencia) y militares (el ejército en todas sus ramas). Pueden introducirse mejoras en la vigilancia y control con el apoyo de especialistas, institutos de investigación y otras instituciones.

Reconocimiento y diagnóstico. La cooperación de especialistas puede ser necesaria desde las primeras fases de la emergencia, por ejemplo para un diagnóstico preliminar confiable. De igual manera, la cooperación técnica, cuando es requerida, puede coadyuvar en la implementación de un programa de emergencia, por ejemplo en la confirmación del diagnóstico. Las instituciones de investigación pueden cooperar en el estudio del patógeno, por ejemplo, para clasificar con más precisión los patotipos aislados. Por otro lado, la investigación será importante para desarrollar nuevas técnicas o mejorar las actuales para identificar la plaga, por ejemplo, métodos para la detección temprana del patógeno (antes de la aparición de síntomas).

Comunicación y divulgación. Las acciones de comunicación y divulgación son más eficientes si se realizan de manera coordinada y aprovechando el máximo las capacidades regionales para dicho fin. Los medios de comunicación y divulgación pueden funcionar de una manera más efectiva, a través del desarrollo de alianzas estratégicas entre organizaciones públicas y privadas de las diferentes regiones interesadas.

Cooperación económica. Debido a la importancia económica de las musáceas en los países miembros del OIRSA y al impacto económico potencial que tendría la entrada de Foc R4T en la región, es de máximo interés que un eventual brote de esta plaga sea erradicado o confinado en el lugar del hallazgo. No obstante, un programa eficiente de erradicación-confinamiento de esta plaga puede ser costoso, por lo que deben ser diseñadas y acordadas relaciones de cooperación económica estratégicas que permitan su implementación inmediata. Se sugiere la creación de un fondo de emergencia.

7.3 Recomendaciones para las Relaciones de Cooperación

Para establecer una interacción bien definida y conducirla adecuadamente, será necesario preparar acuerdos de cooperación o cartas de entendimiento entre los sectores. Para ello, se requerirá de coordinadores encargados de atender la interacción entre los sectores. Por ejemplo, entre diferentes secretarías o ministerios; entre instancias internas dentro de cada una de éstas; entre comités en el ámbito regional y en el ámbito local. Habrá que definir los aspectos de comunicación y cooperación prioritarios y atenderlos adecuadamente.

La consulta con grupos de los diferentes sectores será de utilidad para fomentar el entendimiento y aceptación de las decisiones reglamentarias por parte del sector privado, y además con frecuencia resultan útiles para mejorar los reglamentos.

VIII. PROCEDIMIENTOS DE ENCUESTA

Los procedimientos de encuesta sobre la plaga son acciones de emergencia que deben establecerse inmediatamente después de detectar una incursión de Foc R4T. Si las circunstancias lo ameritan, podrán también realizarse encuestas específicas sobre hospedantes. Aunque en este plan se describan únicamente encuestas específicas, de aplicación ante una incursión de Foc R4T en musáceas, no debe descartarse la vigilancia general, ya que puede ser de utilidad para la detección de otros brotes de la plaga, en este caso, bajo responsabilidad de personas o instituciones no oficiales (no pertenecientes o diferentes a la ONPF).

Es importante señalar que la presencia de Foc R4T no puede ser confirmada por inspección visual, pues la sintomatología de esta raza es similar a las demás razas de Foc ya presentes en los países miembros del OIRSA (ver Apéndice 1). De esta forma es necesario confirmar el diagnóstico en el laboratorio para la validación de los resultados de las encuestas. Los procedimientos de diagnóstico de Foc R4T son descritos en el Apéndice 2.

8.1 Tipos de Encuestas

Teniendo en cuenta la NIMF N° 6, *Directrices para la vigilancia*, las encuestas a realizar sobre Foc R4T después de un brote o incursión, pueden ser: de *detección* (para determinar la posible existencia de nuevos brotes de Foc R4T en el área o país), de *delimitación* (para establecer los límites hasta donde se ha expandido Foc R4T después de la incursión, en diferentes direcciones (área con hospedantes infestados) y de *monitoreo*, para caracterizar la incidencia de Foc R4T en las áreas infestadas. A continuación se describen estas encuestas y en el Apéndice 10 se incluyen los procedimientos para su realización.

8.1.1 Encuestas de detección

El propósito de la encuesta de detección es comprobar si Foc R4T está presente en un área determinada, después de detectar una primera incursión de la plaga. Antes de realizarla es recomendable hacer una predicción sobre las áreas que presentan más probabilidades de estar infestadas. Estas áreas tendrán prioridad para desarrollar en ellas este tipo de encuestas. Se procederá a la inspección visual, seguida de recolección de muestras para análisis en laboratorio en caso de que sean detectados otros eventos sospechosos.

La selección de los lugares a encuestar puede estar en relación con puntos de ingreso y vías de dispersión posibles. Áreas con plantaciones de musáceas con antecedentes históricos de incidencia de las razas 1 y 2 de Foc son considerados sitios objetivo para la realización de encuestas de detección de Foc R4T, pues las condiciones favorables para la manifestación de síntomas de estas razas son similares. La selección de procedimientos para desarrollar la encuesta dependerá de las especies de musáceas, la superficie que ocupan y su distribución, si son plantaciones y fincas de producción o huertos y jardines de casas.

Las encuestas de detección también son útiles para informar a otras organizaciones, tales como otras ONPF, las ORPF y la CIPF sobre la condición de la plaga y apoyar las declaratorias de la ONPF sobre áreas libres de plagas.

En el caso de Foc, por presentar un patrón de distribución agregada y por tener la enfermedad un carácter sistémico, las encuestas deben incluir la inspección visual de la mayor parte posible de las plantas de la plantación o huerto. En el Apéndice 10 se ofrecen mayores detalles para la realización de estas encuestas.

8.1.2 Encuestas de delimitación

Por lo general, el objetivo de las encuestas de delimitación es establecer las fronteras de un área considerada infestada; por tanto, las inspecciones en este tipo de encuestas estarán enfocadas, en primer lugar, a determinar hasta dónde se ha extendido la plaga. Además de ser un instrumento para localizar y determinar la extensión del brote, las encuestas de delimitación son útiles para establecer el área bajo cuarentena, la zona tampón y el área controlada en los casos en que se decida por la contención o erradicación.

Los procedimientos para realizar las encuestas de delimitación deben considerar el tamaño del área y las condiciones de acceso a la misma. Asimismo se deberán incluir aspectos relacionados con el flujo de operaciones que conlleven en alguna medida transporte de material vegetal o suelo, personas animales o equipos que mueven suelo, eventualmente contaminado con Foc R4T. Para determinar la extensión de la incursión, deben observarse estándares mínimos para la realización de las encuestas de delimitación, ya que los datos recopilados de estas encuestas se usarán para establecer la primera área bajo cuarentena.

El área o áreas a encuestar pueden ser determinadas teniendo en cuenta la topografía del terreno, la escorrentía, las rutas de movilización de maquinaria agrícola (particularmente la maquinaria que se empleó en la preparación del terreno donde apareció el brote), accesos potenciales de animales y vías de acceso que aumenten los riesgos de dispersión de la plaga. El concepto de cuencas y subcuencas hidrográficas podría ser útil para ayudar a determinar los límites hasta donde debería extenderse el área reglamentada o las áreas reglamentadas; considerando, que la escorrentía (natural o artificial) es una de las vías más eficientes para la dispersión de la plaga.

El tamaño del área a reglamentar que se determine como necesario para prevenir la dispersión del Foc R4T, dependerá de factores tales como localización de la incursión, vías de acceso (principalmente carreteras), accidentes geográficos circundantes o que atraviesan el área (cordilleras, desiertos, lagos, montañas, ríos, etc.), biología de la plaga, proximidad del área infestada con otras áreas infestadas, presencia y distribución de hospedantes, los sistemas de drenajes y escorrentía entre lotes y campos, entre otros.

Durante las encuestas de delimitación, es recomendable conducir una retrospectiva para determinar de dónde provino Foc R4T y una proyección al futuro, para identificar las áreas más probables hacia donde la plaga podría dispersarse (áreas en peligro) y causar daño. Las consultas con los propietarios de las áreas infestadas o administradores de las explotaciones agrícolas afectadas, podrían ayudar a determinar las rutas de movilización de las vías de la plaga (plantas y productos vegetales, materiales y equipo agrícola, medios de transporte, trabajadores, medios naturales de dispersión, etc.; ver Apéndice 1). Es importante tener en cuenta además la dirección del flujo de agua de los sistemas de drenaje naturales o artificiales, la existencia de ríos y la dirección de su curso (ver el Apéndice 10 para más información).

Las restricciones para la movilización de vías (artículos reglamentados) se implementarán principalmente en la zona tampón (por ejemplo inspección, prohibición, etc.), y se mantendrán mientras estas restricciones sean técnica y económicamente justificables.

Con base en la información generada en las encuestas de delimitación, las ONPF podrán proporcionar una descripción más detallada de la condición de Foc R4T en sus respectivos países, de acuerdo con lo especificado en las NIMF (NIMF No 8, 1998; NIMF No. 17, 2002).

Los equipos de encuesta pueden estar compuestos por el personal de los departamentos estatales y territoriales y deberán ser coordinados por técnicos especializados.

Terminada la delimitación de las áreas con presencia de la plaga se establecerán las áreas bajo cuarentena, controladas y reglamentadas y las zonas tampón (ver Apéndice 5 Glosario de Términos; Cuadro 3 y Figura 11).

En el Apéndice 10 se ofrecen mayores detalles para la realización de estas encuestas.

8.1.3 Encuestas de monitoreo

El propósito de las encuestas de monitoreo es caracterizar la evolución de Foc R4T en las áreas que se consideren con presencia de la plaga dentro del área reglamentada. Esto significa determinar, entre otras características, su incidencia en forma cuantitativa, las variaciones de la misma a través del tiempo, el apareamiento de nuevos brotes dentro del área reglamentada y la eficacia de las acciones de contención, supresión y erradicación aplicadas dentro de la misma.

Debe darse atención especial a casos que puedan comprometer los resultados como lugares dificultosos de encuestar, nivel de capacitación del encuestador y o errores en el muestreo. Como los síntomas de Foc R4T son idénticos a aquellos causados por otras razas de Foc que ya están presentes en los países del OIRSA, todos los muestreos de la encuesta de monitoreo deberán ir acompañados de toma de muestras para posterior análisis y confirmación del diagnóstico en el laboratorio de los casos de Foc observados. En caso de que la variedad afectada en el brote inicial sea del subgrupo Cavendish o de plátanos de cocción (resistentes a las razas 1 y 2, pero susceptibles a R4T), la presencia de plantas con síntomas típicos de la enfermedad podrá ser considerada como fuerte indicio de que se trata de Foc R4T, por lo que deberán tomarse todas las previsiones acordadas para un brote de la plaga.

Se debe mantener un monitoreo permanente en toda el área reglamentada a fin de detectar en forma temprana la aparición de nuevas plantas enfermas o con síntomas, la frecuencia estará en función de la epidemiología de la plaga, pero no menos de dos veces por año. Los monitoreos deben hacerse durante la ejecución del programa o plan operativo de emergencia. El monitoreo deberá ser más intenso y frecuente en las áreas controladas¹. Esto último para ayudar a determinar si se tuvo éxito en la erradicación-confinamiento o en la supresión-contención del brote, o si por el contrario, aparecieron nuevos casos en el mismo campo o lugar de producción o en campos y lugares de producción vecinos. El área o áreas a monitorear (área o áreas reglamentadas) se determinarán mediante encuestas de delimitación.

¹ Para este plan, el área controlada es el área que contiene al área bajo cuarentena establecida, puede estar integrada por uno o varios campos o por uno o varios lugares de producción en las vecindades del brote (su delimitación estará en función de la probabilidad de dispersión a corta distancia que se haya calculado para Foc R4T a partir del brote en todos los rumbos).

Por definición (NIMF No.5), las encuestas de monitoreo se aplican donde se conoce que la plaga está presente y se planifican para examinar aspectos de la población de plaga tales como su incidencia y los cambios de la incidencia a través del tiempo. A fin de realizar una evaluación precisa de estos aspectos y debido a que en muchos casos no podrá examinarse toda la población, tendrá que recurrirse al muestreo, para ello es conveniente utilizar métodos que prevengan posibles sesgos. Entre los métodos de muestreo recomendados está el completamente al azar, que podría combinarse con otros para mejorar su aplicabilidad, por ejemplo el estratificado y el sistemático. Para determinar el tamaño de la muestra, primero debe de tenerse conocimiento, al menos en forma conceptual, de parámetros que pueden emplearse, y así explicar en mejor forma los requerimientos a personas conocedoras de estadística para efectos de cálculo. En el Apartado 8.2 se describen parámetros que pueden emplearse para determinar el tamaño de la muestra y en el Apéndice 10 se incluye un ejemplo de cálculo del tamaño de la muestra para encuestas de monitoreo.

8.2 Parámetros para Calcular el Tamaño de la Muestra

Para calcular el tamaño de la muestra es necesario comprender, al menos conceptualmente, los parámetros básicos que interactúan. A continuación se describen estos parámetros a fin de que pueda proporcionarse al estadístico la información necesaria para obtener su asistencia. Los parámetros principales (expresados en porcentaje excepto para el tamaño de la muestra que se expresa en números enteros), son los siguientes:

- a) *Incidencia actual*. Es la proporción verdadera de unidades (por ejemplo, sitios, hospedantes, partes de hospedantes) en un campo, área u otra población definida, infestadas por la plaga.
- b) *Incidencia de diseño*. Usualmente se basa en una encuesta preliminar, consiste en la incidencia más probable de la plaga en el campo (se usa para determinar el tamaño de la muestra). En un área libre, esta incidencia de la plaga se espera sea cercana a cero. Para encuestas de monitoreo, que sirven para caracterizar una población que se sabe está presente, la incidencia de diseño puede variar desde un valor cercano a cero hasta el 100%. En encuestas de detección, si la incidencia de diseño sobrestima en gran medida la incidencia actual o real, el tamaño calculado de la muestra será muy pequeño para detectar la plaga (sub muestreo); en caso contrario, si la incidencia de diseño subestima la incidencia actual, entonces el tamaño de la muestra será más grande del necesario para detectar la plaga (sobre muestreo). Hay diversas formas para cuantificar este parámetro (incidencia de diseño). Si no es factible predecir una incidencia de diseño representativa, habrá que escoger un nivel de incidencia de diseño que sea aceptable para todos.
- c) *Incidencia calculada*. Es la incidencia que se determina mediante la encuesta y se pretende que estime la incidencia actual. Si se cometen errores en el proceso de encuesta, puede ser que la incidencia calculada no refleje la incidencia actual.
- d) *Confianza (certidumbre)*. La confianza estadística es la probabilidad de que la incidencia actual esté dentro de los límites de la incidencia calculada. Si no se encontró la plaga objetivo después de haber encuestado, no podrá asegurarse con el 100% de certidumbre

que la plaga no está presente sin haber examinado cada hospedante o cada parte del hospedante de la población (total) definida. En lugar de esto, se aceptará un grado de incertidumbre por las plantas o partes de plantas hospedantes o poblaciones definidas que no se examinaron. La interrelación entre la confianza y el tamaño de muestra es simple: entre más unidades de la población definida o poblaciones definidas se encuesten, más certeza habrá sobre la precisión de la incidencia general calculada. Como regla general, se considera aceptable un umbral (nivel) de 95% de confianza (certidumbre) en cuanto a que la incidencia actual esté dentro de ciertos límites de la incidencia calculada. En algunos casos podrá ser necesaria una confianza del 99.9%. La certidumbre para la incidencia usualmente se expresa para un intervalo de confianza (IC), formado por un rango de valores dentro del cual es más probable que ocurra la incidencia actual, con el nivel de confianza escogido. Por ejemplo, una incidencia de 46.5% con una certidumbre del 95%, puede expresarse de la forma siguiente: 46.5% (95% IC: 44.2-48.8%). La incidencia calculada usualmente se ubica en forma equidistante dentro del rango de valores, a este rango se le denomina *amplitud del intervalo de confianza*.

- e) *Precisión de métodos (sensibilidad)*. Es recomendable considerar esto para la estimación del tamaño de la muestra, especialmente cuando la certeza del método no es cercana al 100%.
- f) *Tamaño de muestra*. El tamaño de la muestra estará constituido por el número de unidades de muestreo que es necesario encuestar para detectar la plaga o para determinar la proporción de infestación de la plaga con un nivel de confianza específico, a la incidencia de diseño establecida. En el Apéndice 10 se incluyen sugerencias para calcular el tamaño de la muestra en encuestas de detección y de monitoreo de Foc R4T.

8.3 Plan para la Implementación de las Encuestas

Las encuestas específicas que se realicen para Foc R4T como son de carácter oficial, deberán seguir un plan aprobado por la ONPF (*Directrices para la vigilancia*, 1998. NIMF N° 6, FAO, Roma). Este plan de encuestas deberá incluir:

- a) Definición del propósito de las encuestas (por ejemplo detección temprana, certidumbres para áreas libres de plagas), apoyándose en las reglamentaciones fitosanitarias que se hayan promulgado;
- b) Identificación de la plaga de interés;
- c) Identificación del alcance (por ejemplo área geográfica, sistema de producción, estación);
- d) Identificación del momento oportuno (fechas, frecuencia, duración)
- e) Indicación de la base estadística (p.ej. nivel de confianza, número de muestras, selección y número de sitios, frecuencia del muestreo, suposiciones)
- f) Descripción de la metodología de la encuesta y administración de calidad, incluyendo una explicación sobre:
 - Procedimientos de muestreo (p.ej. muestreo de plantas completas, inspección visual, recolección de muestras y análisis en laboratorio). El procedimiento debe ser orientado con base en la biología de la plaga y/o el propósito de la encuesta;

- Procedimientos de diagnóstico;
- Procedimientos de informe.

En el Apéndice 10 se describen procedimientos para desarrollar un plan de implementación de encuestas específicas contra Foc R4T

8.4 Recopilación y Procesamiento de la Información de la Vigilancia

La información derivada de las encuestas deberá ser recopilada para estimaciones estadísticas, generación de mapas de muestreo, distribución e incidencia de la plaga controles de plaga y sus resultados. En el Formulario 3 del Apéndice 11, se incluyen informaciones que deberán registrarse.

Tener en cuenta que la ONPF, a petición de los interesados, debe distribuir informes sobre la presencia de brotes de Foc R4T, distribución o su ausencia, emanados de la vigilancia general y las encuestas específicas, en estos informes se deben indicar las fuentes (NIMF 6, 1997).

Para el levantamiento de registros de FOC R4T a partir de la información de vigilancia es necesario recopilar los datos especificados en la NIMF No. 8, *Determinación de la situación de una plaga en un área*.

Cuando sea necesario, deben especificarse adecuadamente las unidades de medida empleadas. Si las unidades de medida son de sistema, debe emplearse el sistema métrico. Si se emplean valores que corresponden a una escala, debe ofrecerse una explicación sobre la escala. Cuando se trate de encuestas de detección y la plaga no se encuentre, debe cuantificarse el esfuerzo hecho, por ejemplo: número de plantas examinadas por cada lugar de muestreo, localidades encuestadas donde no se observó o no se detectó la plaga, etc.

8.5 Recomendaciones Generales Sobre la Vigilancia

Las personas involucradas en encuestas específicas deben ser capacitadas adecuadamente en los campos apropiados de la protección vegetal y manejo de datos, además deben conocer o tener experiencia comprobada en los métodos de muestreo, conservación y transporte de muestras y en el mantenimiento de registros asociados con las muestras. El equipo apropiado y los suministros se deben utilizar y mantener adecuadamente. La metodología utilizada deberá ser técnicamente válida (NIMF No. 6, 1997).

Si no se emplean los formularios para registrar los datos de campo, es recomendable que cada encuestador cuente con una libreta de campo con hojas foliadas (que no se desprendan con facilidad) para apuntar y no mantener los datos memorizados. En esta libreta se tomarán los datos necesarios para llenar el o los formularios correspondientes y otros datos que sean útiles para posibles verificaciones (por ejemplo, tipo de marcas que se dejaron, en los sitios de muestreo; diagramas sobre recorridos; puntos de referencias para localización del sitio; descripción de la disposición de las plantas; distintivos topográficos; nombres y otros datos de las personas de contacto).

También la ONPF puede mejorar los canales de comunicación sobre incursiones de la plaga mediante el establecimiento de incentivos para informar, tales como:

- Obligaciones legislativas (para el público en general o agencias específicas);
- Acuerdos cooperativos (entre la ONPF y agencias específicas);
- Uso de personal de enlace para mejorar los canales de comunicación hacia y desde la ONPF;
- Programas de educación/concienciación pública (NIMF No. 6, 1998).

Es importante considerar que si el personal encargado de la ejecución de las encuestas trabaja jornadas muy largas, podría disminuir la eficacia en el reconocimiento de la plaga; por lo que es recomendable considerar rotaciones de personal, realización de trabajo de campo solamente en una parte del día (por ejemplo, por la mañana), y el tiempo restante dedicarlo a otras actividades (por ejemplo, para procesamiento electrónico de información, coordinación de actividades del día siguiente, etc.).

Probablemente, la información sobre una incursión o brote nuevo de Foc R4T se origine en fuentes no oficiales (vigilancia general), por esta razón es recomendable que la ONPF recolecte la información proveniente de diversas fuentes y la verifique adecuadamente. Para esto, el personal técnico encargado de la vigilancia deberá poseer los conocimientos básicos para emprender labores de reconocimiento de esta plaga, en cualquier momento.

La información recogida a través de la vigilancia general puede ser utilizada para:

- Apoyar las declaraciones de la ONPF acerca de áreas libres de brotes de Foc R4T;
- Ayudar a la detección temprana de nuevos brotes;
- Informar a otras organizaciones tales como las ORPF y el CIPF;
- Compilar listas de hospedantes, brotes y registros de distribución de brotes.

8.6 Requisitos Técnicos para los Servicios de Diagnóstico

En la NIMF No. 6 (1997) se especifica que la ONPF debe garantizar la disponibilidad o acceso a servicios de diagnóstico apropiados, para apoyar la vigilancia general y las actividades de encuestas específicas. Las características de los servicios de diagnóstico incluyen:

- Experiencia en disciplinas relacionadas con la identificación del Foc R4T y hospedantes;
- Instalaciones y equipos adecuados;
- Acceso a especialistas para verificación, cuando sea necesario;
- Mantenimiento de registros;
- Instalaciones para curación y almacenamiento de muestras de comprobación;
- Utilización de procedimientos normalizados de operación, cuando sean apropiados y disponibles.

La verificación de la solidez del servicio de diagnóstico por parte de otras autoridades reconocidas proporcionará una mayor confianza en los resultados.

IX. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL

Las marchiteces causadas por *formae speciales* de *Fusarium oxysporum* en plantas son ampliamente conocidas por ser de difícil control y el caso de las musáceas no es una excepción.

El éxito en el control de un brote de Foc R4T depende de muchos factores que pueden variar según las condiciones de cada caso. De esta forma, es fundamental tener una estrategia general que pueda ser adecuada de acuerdo con el contexto donde se presente el brote. Esta estrategia debe contemplar la contención del brote para evitar su dispersión, mientras se investiga la viabilidad de la erradicación-confinamiento (ver Cuadro 1, Apartado 5). Los procedimientos de control serán coordinados por el GBT, que seguirá la estrategia de control aprobada y la implementará de inmediato en la zona afectada.

En el Plant Health Australia (2010) se detallan un conjunto de informaciones útiles para auxiliar el diagnóstico temprano y la adopción de medidas extras de precaución que aumentan la probabilidad de erradicación de una plaga. A continuación se detallan algunas de estas informaciones consideradas relevantes para Foc R4T:

- Datos sobre el sitio del brote (propiedad, localización geográfica latitud, longitud, altitud etc.);
- Mapa y delimitación del área a tratar;
- Detalles del hospedante: variedad, edad, estado del desarrollo;
- Daños, descripción de síntomas, incidencia y severidad de la plaga;
- Posible origen del brote (rastreadibilidad) y determinación de otras posibles áreas en riesgo de brote;
- Medidas de descontaminación establecidas para las personas, productos y equipos que hayan dejado el sitio recientemente;
- Registro de productos o movimiento de material de propagación hacia o desde el sitio de detección;
- Procedimientos para la destrucción de restos de plantas y desinfección del suelo;
- Riesgos de dispersión de la plaga;
- Criterios para establecimiento de los puntos de cuarentena;
- Criterios para el establecimiento y delimitación de áreas sujetas a medidas fitosanitarias;
- Vías de dispersión;
- Posibles violaciones de la normativa de emergencia;
- Condiciones a crear para asegurar la eficacia de los tratamientos;

Para definir la estrategia de control es importante considerar que la erradicación y confinamiento de Foc R4T dependen de:

- Detección temprana de la plaga;

- La eliminación de musáceas y demás plantas hospedantes infectadas o con probabilidad de estarlo (ver procedimientos eliminación de plantas en el apartado 9.1.1 y lista de hospedantes en el Apéndice 4);
- La prevención de la movilización por cualquier medio de partes de plantas infectadas, suelo y cualquier otro artículo que pueda transportar la plaga hacia afuera del sitio del brote (ver Apéndice 1);
- La eliminación de plantas espontáneas en el sitio del brote para evitar la permanencia del inóculo del patógeno en las mismas;
- La restricción del acceso a personas no autorizadas y equipos al sitio que puedan acarrear partículas de suelo hacia afuera del sitio del brote; y
- La limitación del escurrimiento superficial de agua entre plantas infectadas y sanas.

9.1 Estrategia y técnicas de control para una posible Erradicación-Confinamiento de Foc R4T

Independientemente de la vía de introducción de Foc R4T a un área libre, es muy probable que transcurra un largo período entre la introducción y la detección, debido al período de incubación largo de esta plaga. Por esta razón, el éxito de la estrategia de erradicación - confinamiento será grandemente determinado en función de si la introducción de la plaga ha ocurrido en un solo o en pocos lugares y si se han detectado todos los brotes.

Para la erradicación de un brote de Foc R4T se requiere actuar lo más pronto posible. Para ello es deseable la destrucción de las plantas infectadas que muestren síntomas que puedan tener un diagnóstico presuntivo o preliminar: esto podría incluir a otras especies hospedantes como las malezas presentes en el sitio del brote (ver Apéndice 4, lista de hospedantes).

Después de tomar las muestras de las plantas sintomáticas de acuerdo con el procedimiento descrito en el Apéndice 2 y confirmado que se trata de Foc R4T, se procederá a:

1. Determinación preliminar del área o las áreas bajo cuarentena (ver Apéndice 9)².
2. La eliminación de las plantas infectadas; y
3. El establecimiento de zonas de seguridad o de protección cuyas dimensiones es recomendable determinar después de realizar una delimitación del brote.

Para establecer las zonas de seguridad debe tenerse en cuenta la distribución de los escurrimientos superficiales y el flujo interno (dentro del suelo) de agua con posible arrastre de estructuras infectivas del patógeno. Además deben considerarse las probabilidades de que estas estructuras infectivas hayan entrado en contacto con hospedantes cultivados, silvestres o malezas presentes en el área (para esto considerar la topografía del terreno)³;

Una dificultad para llevar a cabo la eliminación de plantas infectadas y de las circundantes, es que se requiere confirmación del diagnóstico de Foc R4T en el brote, para que se autorice esta acción,

² Los límites del brote podrán considerarse hasta donde se detecten los hospedantes infectados (cultivados o silvestres) o hasta donde se defina que el patógeno tuvo alta probabilidad de haberse dispersado a partir de los hospedantes infectados.

³ Puede asumirse que la presencia del patógeno en el área del brote (zona infestada) es abundante, lo que permite detectarlo en cualquier sustrato; en cambio, en el área o zona de protección o de seguridad, la presencia del patógeno puede ser baja o inexistente, razón por la cual no es posible detectarlo.

si es que existe legislación que lo permita. Desafortunadamente, puede no ser fácil proceder rápidamente, pues en dependencia de la infraestructura disponible, el diagnóstico confirmado con análisis moleculares en el laboratorio, podría tomar días o semanas entre la detección del brote y la obtención del resultado del análisis. En ese tiempo la dispersión puede aumentar y con esto se reduce la probabilidad de erradicar o de contener el brote. Una forma alternativa de proceder es obtener la autorización del propietario para eliminar la(s) planta(s) enferma(s), así como las presentes en la zona que se considera infestada con el patógeno. Sin embargo, si esto no se logra, es posible realizar acciones que permitan detener o reducir la velocidad de la dispersión, dando tiempo para confirmar el diagnóstico y obtener la autorización. Estas acciones pueden dividirse en acciones preanálisis o posanálisis de laboratorio y se describen a continuación:

9.1.1 Acciones preanálisis en laboratorio antes de la confirmación del diagnóstico

1. Implementación de medidas de cuarentena vegetal. Se implementarán medidas de precaución tan pronto como sea posible después de la información de un brote presuntivo de Foc R4T. La ONPF implantará medidas provisionales de cuarentena sobre la (s) propiedad (es) o área (s) afectada (s) mientras se realizan los análisis de diagnóstico e implementará procedimientos para minimizar la posibilidad de la dispersión de la plaga. Las medidas restrictivas se aplicarán al movimiento de vehículos, equipamiento y material vegetal desde y hacia al sitio afectado y el establecimiento de zonas de seguridad alrededor de las zonas infestadas. En el Apéndice 9 (Cuadro 3, Figura 11) se presentan detalles sobre las zonas y áreas de delimitación.

Deberán quedar bajo cuarentena:

- El o las áreas sospechosas de una incursión de Foc R4T;
- Las áreas que a partir de las informaciones existentes se consideren con alta probabilidad de estar infestadas con el patógeno.

Son productos de movilización prohibida (hacia afuera del área controlada):

- Las musáceas y otros hospedantes potenciales (Apéndice 4) del patógeno, plantas de vivero o cualquier otro material que pueda eventualmente mover tejido vegetal infectado o suelo.

Los medios de transporte (vehículos, maquinaria agrícola y contenedores) que se movilicen desde el o las áreas controladas hacia otras áreas, deben desinfectarse con una solución de hipoclorito de sodio al 2% o productos a base de amonio cuaternario.

Deberá disponerse de entradas únicas con badenes con solución desinfectante para la desinfección del calzado de los trabajadores y ruedas de equipos que accedan al área controlada.

2. Muestreo y análisis a realizarse en la zona “A” incluyendo las plantas enfermas. En el ejemplo ilustrado (Figura 11) esta zona contiene aproximadamente 40 plantas, pero este número es variable en dependencia del marco de plantación y la disposición de las plantas en el campo;

3. Eliminación de plantas. Lo más recomendable es eliminar todas las plantas de la zona “A” aún sin tener los resultados del diagnóstico cuando haya indicativos fuertes de que se puede tratar de Foc R4T (ver apartado 2.1, Acápito 2). De no ser posible, deberán eliminarse al menos la o las que presenten síntomas. La eliminación puede realizarse cortando las plantas y quemando los restos o mediante la inyección de un herbicida total a la planta para que mueran hasta las raíces (ver detalles en el Apartado 9.1.2).
4. Aplicación de herbicidas a malezas en las zonas “A” y “B” con el propósito de eliminar los posibles hospedantes secundarios.
5. Mantener barbecho en el o las áreas bajo cuarentena (Cuadro 3, Apéndice 9). Éste finalizará cuando, debido a la dispersión alcanzada por la plaga, se decida pasarla a un sistema de manejo o se verifique que la misma ha sido erradicada totalmente;
6. Construir zanjas de 20 x 20 cm de profundidad alrededor de las plantas afectadas para limitar la escorrentía superficial de agua desde éstas a plantas vecinas y al resto de la plantación. Si la pendiente es muy elevada se deben cavar zanjas que retengan la escorrentía en los puntos más bajos de la pendiente;
7. Tratar con desinfectantes a vehículos, herramientas y objetos en general procedentes del área delimitada como sospechosa de estar infestada de Foc R4T;
8. Aislamiento de la zona C mediante cercado u otro tipo de barrera, establecimiento de puntos de acceso únicos al área y de badenes sanitarios con desinfectantes para manos y calzados. Los badenes sanitarios pueden ser huecos cubiertos de una carpa plástica de una longitud tal, que obligue a caminar sobre el mismo. Se colocará sobre el plástico un material esponjoso saturado de una solución desinfectante a base de amonio cuaternario (Nel et al., 2007) a la dosis recomendada por el fabricante. Se recomienda la adición de un colorante a la solución para facilitar la visualización del tratamiento. A continuación se mencionan algunos de los productos existentes en el mercado que pueden ser utilizados como desinfectantes en los badenes :
 - Sal de amonio cuaternario es en forma de cloruro de benzalconio que contenga 400 gramos i.a./litro (la solución se prepara utilizando 64 ml del producto comercial para 1 l (6.4 l/100 l). La concentración final debe ser de 2.56%.
 - Sal de amonio cuaternario del cloruro de fenil metilo 50% + alcohol isopropílico 2.7%. Se prepara una solución con 50 ml del producto comercial para 1l de solución final (5 litros para 100 litros). La concentración final debe ser de 2.5%.

Es recomendable proteger los badenes de la lluvia y el sol con un techo rústico que debe de estar a una altura y anchura que permita el paso de equipos o personas según sea el caso. El mantenimiento de los badenes debe ser periódico eliminando el suelo o lodo que pueda acumularse en los mismos y limpiando el plástico absorbente o reemplazándolo si muestra un gran deterioro. La solución desinfectante y el colorante deben ser periódicamente renovados de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

9.1.2 Acciones post-análisis de laboratorio después de la confirmación del diagnóstico

Una vez que el resultado del análisis confirme la presencia de Foc R4T, se debe proceder de inmediato a la implementación de las medidas de erradicación - confinamiento de la plaga. Es importante hacer ver al dueño del área que, aunque no presenten síntomas, si las plantas del área bajo cuarentena no se destruyen, las probabilidades de perderlas por la enfermedad son altas y que además el patógeno podría dispersarse más fácilmente al resto de la plantación. Dado que la plaga tiene una importancia para la economía agrícola y la seguridad alimentaria de carácter nacional, es recomendable que exista una estrategia de compensación por las pérdidas que estas acciones representen para el dueño de la propiedad afectada.

Para la erradicación-confinamiento de Foc R4T se recomiendan las siguientes medidas específicas:

1. Eliminar las musáceas en una superficie circular con un radio aproximado de 7.5 m (15 m o más de diámetro, dependiendo del número de plantas infectadas en el brote) a partir de la(s) planta(s) infectada(s) (Zona A Figura 11). En función de la disposición de las plantas (línea simple, dobles líneas, hexagonal, triángulo equilátero y las distancias de plantación), el promedio estará en aproximadamente 40 plantas que, serán presumiblemente, las que mayor posibilidad tengan de estar infectadas aún sin mostrar síntomas (hay carencia de datos sobre la dinámica y la distribución espacial de Foc a partir de una planta enferma). En el Apéndice 9 se presenta un esquema que ilustra esta zona y las zonas circundantes (B y C), consideradas para el manejo del brote. La eliminación de musáceas eventualmente puede tomar todo el campo en función del tamaño y distribución del brote y la complejidad del escenario. Si el brote se da en un huerto familiar con distribución irregular de musáceas y con presencia de otras especies, por ejemplo arbóreas, la zona de eliminación de plantas de musáceas tendrá el mismo radio, debiendo eliminarse también otros hospedantes de la plaga que eventualmente estén presentes (ver Apéndice 4, Lista de hospedantes). Se procederá a eliminar todas las plantas desde el extremo del perímetro hacia el centro (la o las últimas en eliminarse serán, las plantas infectadas con síntomas). **No se debe, bajo ninguna circunstancia, cortar las plantas y dejar los tejidos expuestos.**
2. Las plantas serán eliminadas con fuego incluyendo las plantas asintomáticas del mismo plantón (macolla). El procedimiento consiste en aislar la(s) planta(s) con láminas de aluminio o zinc galvanizado y proceder a la quema de la(s) misma(s) hasta el rizoma. La eliminación puede realizarse además inyectando herbicidas a la planta con el objeto de matar la planta hasta sus raíces (no con el objeto de matar al patógeno). Es conveniente que antes de la aplicación de fumigantes, todas las plantas tratadas con herbicidas estén totalmente muertas y con cantidad mínima de agua en sus tejidos⁴.

Para la eliminación de plantas con herbicidas puede utilizarse:

Solución de glifosato (36.7% de equivalente ácido) al 10%. Esto equivale a una parte del producto formulado por nueve partes de agua.

⁴La acción de fumigantes puede verse limitada por la presencia de agua, por lo que antes de proceder a su aplicación todas las plantas a las que se les ha aplicado herbicida, deben estar muertas y deshidratadas (secas o con muy poca agua). Esto es especialmente importante para el caso de los pseudotallos de musáceas que son suculentos.

El procedimiento y cantidad de producto a aplicar depende del tipo de planta y su fase de desarrollo. Se deben seguir las indicaciones que aparecen a continuación:

Tipo de planta	No. de sitios de inyección	Volumen total
Planta madre	3	45 ml
Pseudotallo cosechado	4	20 ml
Hijos menos de 1 m	2	20 ml
Hijos de más de 1 m	3	30 ml
Hijos de más de 2 m	3	45 ml

Los puntos de inyección se deben realizar en espiral, comenzando a 50 cm de la base hacia arriba. A los 21 días se realiza una reaplicación en los rebrotes.

- En el área donde se realiza la eliminación de plantas se cava una zanja de 20-30 cm de profundidad alrededor del perímetro a fumigar. Esta zanja facilitará la colocación de la carpa de fumigación al permitir sellar sus bordes con suelo y al mismo tiempo evitará la escorrentía superficial en caso de lluvias. La zanja debe ser construida de manera que la planta considerada como centro del brote quede en el centro del área a fumigar.
- Proceder a la desinfección del suelo y los residuos de plantas por fumigación en un diámetro de 15 m, Zona A (Figura 11).

El procedimiento de fumigación es el siguiente:

- Los trabajadores a cargo de la desinfección deben usar botas plásticas desechables o botas de goma, para trabajar en el área infectada;
- Los residuos de musáceas incluyendo hijuelos, pseudotallos y frutos deben cortarse en fracciones de 30-60 cm. Las cepas, rizomas y raíces de las plantas se extraen, se cortan en pedazos y se disponen en una sola capa sobre el suelo. En caso de que aun persistan malezas en el área, se procederá de la misma forma;
- El área a fumigar se cubre con una carpa plástica de 6-10 mm de grosor que se extienda sobre la superficie donde se encuentran los residuos de plantas cortadas. La carpa debe extenderse fuera del perímetro delimitado por la zanja. Debe verificarse que la carpa no posea perforaciones que permitan escapes de gas. Si hay alguna perforación ésta debe de sellarse. El extremo de la carpa sobre las zanjas se cubre con el suelo extraído de las mismas para garantizar el sellado;
- Se aplicará Bromuro de Metilo (BM) cuyo uso suele ser permitido para la erradicación de plagas cuarentenarias⁵. Este producto no debe ser usado sin consultar antes las regulaciones vigentes en el país del brote.

⁵ Las excepciones de uso del bromuro de metilo para cuarentena y previas al envío (preembarque) se declaran como lo establece el Protocolo de Montreal (UNEP 2009) relativo a las sustancias que agotan la capa de ozono. Disponible en Internet: http://www.unep.ch/ozone/Publications/MP_Handbook/MP-Handbook-2009.pdf

Nota: Si el BM se encuentra en un tanque grande, la manguera de conducción deberá colocarse cerca del centro del círculo cubierto con la carpa próxima al centro del brote. En caso de que el BM se encuentre en frascos de ½ kg, estos se fijarán a una tabla con clavos en su alrededor para fijar la lata y con clavos por la parte inferior de la misma, para posteriormente lograr la perforación de ésta y la liberación del gas. Las tablas con las latas de BM se colocarán en los sitios donde estaba(n) la(s) planta(s) afectada(s). Independientemente del envase de BM, la proporción a utilizar será de 1.0 kg de BM por 10 m² de superficie a tratar.

- Para la aplicación del BM deben mantenerse todas las medidas de protección y seguridad del personal y utilizarse caretas antigás con filtros adecuados al propósito de la fumigación. Los equipos de protección individual deben ser utilizados de manera estricta;
- Las botas plásticas desechables utilizadas en las labores de eliminación de plantas se colocan previamente en el interior de la carpa. Las botas de goma deben ser tratadas con el desinfectante, previo a abandonar el área infestada por el personal de desinfección, ya que en las botas puede acarrear al patógeno hacia afuera del área. Para tal fin debe de disponerse de una bomba de mochila con desinfectante de amonio cuaternario;
- Una vez realizado el tratamiento de fumigación y previo marcado del lugar indicando que se está usando gas venenoso, el área debe abandonarse. El tratamiento de fumigación se mantiene durante 7 a 10 días. En caso de que el suelo haya estado demasiado húmedo, la carpa se dejará por un período de 15 días. Las fechas de inicio y conclusión del tratamiento deben quedar claramente registradas. Después de retirada, la carpa puede conservarse para una eventual reutilización.
- Si por la distribución del brote se fuera a tratar más de un caso en una sola área, todos deben ser preparados antes de liberar el gas bajo las carpas o toldos. El BM es inodoro y usualmente contiene una mezcla de un 2% de cloropicrina como indicador del escape. Olores similares a “cebolla podrida” indican escape y debe abandonarse el área en caso de su presencia.
- Alternativamente, debe verificarse la disponibilidad de productos con igual eficiencia al BM, pues el mismo es de alta toxicidad y está señalado dentro de las sustancias que agotan la capa de ozono⁶.
- En el caso de los brotes a menos de 100 m de distancia de viviendas e instalaciones con personal y animales, las medidas a tomar serán las ya descritas con excepción de que en estos casos, la desinfección con BM u otros productos altamente tóxicos como el dazomet, no son factibles. En este caso, todos los residuos de plantas, incluidas las raíces y los rizomas, deberán ser preferiblemente incinerados. En el centro del brote se deberá aplicar directamente al suelo 5 l de una solución de formol comercial al 40%. El área debe ser cubierta con una carpa durante una semana.
- Posteriormente a los tratamientos de fumigación (7-15 días), se levantará la carpa y se removerá el suelo para facilitar el escape del gas durante 72 horas. Como estos gases son tóxicos a personas y animales, durante este período el acceso al área es prohibido y los trabajadores involucrados en esta labor deben usar los equipos de protección.

⁶ En la Tercera reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) se adoptó la recomendación de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) sobre el reemplazo o reducción del uso de bromuro de metilo como medida fitosanitaria. Disponible en Internet: https://www.ipcc.int/file_uploaded/1249889153113_K2620Spanish_CPM3_Rev2009_06.pdf

- Se deben realizar visitas periódicas para detectar la presencia de rebrotes de plantas y nuevos casos de Foc R4T.
 - En todos los casos, el personal que realiza estas operaciones debe mantener todas las medidas de protección establecidas para los tratamientos con fumigantes.
5. Establecimiento de un período de barbecho libre de plantas o rotación con otro cultivo no hospedante de Foc R4T (no incluye viveros o cultivos que puedan durante la cosecha o comercialización contribuir a la dispersión del patógeno con el movimiento de suelos y residuos). Para este fin se debe establecer un protocolo de desinfección de equipamiento y de los materiales y productos que entran y salen del área.

Esterilización de utensilios y herramientas:

Pueden utilizarse los productos descritos en el punto 8 (Apartado 9.1.1)

Seguimiento

Si posterior al tratamiento-apareciesen nuevos casos de marchitez por *Fusarium*, sea en área bajo cuarentena o en la controlada (Cuadro 3, Figura 11) se repiten los procedimientos de control antes descritos, para lo cual se reestablecen los límites de cada una de las zonas. Si finalmente no fuese posible la erradicación-confinamiento, este procedimiento será el indicado para proseguir con la supresión-contención de la enfermedad (apartado 9.1.2), en caso de que se decidiese continuar la producción de musáceas. Sin embargo, lo más recomendable para lograr una disminución del inóculo del suelo, es rotar con especies no hospedantes de Foc. Es importante mantener las restricciones de acceso al área y las regulaciones al ingreso y salida de productos o equipos que pudiesen reingresar el patógeno, así como mantener las actividades de control sobre posibles hospedantes de Foc R4T.

Cualquier planta de musáceas, sospechosa de estar infectada o de otros hospedantes potenciales (ver Apéndice 4, Lista de Hospedantes) en el área o en la vecindad de la plantación, debe ser eliminada según los procedimientos previamente explicados (apartado 9.1.1). Las inyecciones de glifosato pueden ser realizadas con una jeringuilla apropiada de administración de dosis múltiples. Las plantas deben ser marcadas y re-inspeccionadas para evaluar la necesidad de repetir la aplicación del herbicida.

9.2 Estrategias y técnicas de control para una posible Supresión-Contención

En caso de que no se logre la erradicación o que las condiciones del o de los brotes no se adecúen a los procedimientos descritos para la erradicación-confinamiento, se optará por la supresión - contención de la plaga. En este caso, la estrategia integra diferentes acciones encaminadas a suprimir y/o contener la plaga en el o los sitios del brote.

Fumigación del suelo

Las acciones generales para el uso de fumigantes para la supresión - contención son similares a las indicadas en el apartado 9.1. En este caso la diferencia radica en el uso de dazomet en sustitución del bromuro de metilo (BM).

Los procedimientos del uso del dazomet en el proceso de supresión - contención, son similares a los ya explicados para el BM, debiendo adoptarse el resto de las acciones indicadas para la estrategia de erradicación-confinamiento (apartado 9.1.2). A continuación se detallan las acciones específicas para la aplicación de dazomet:

- Se aplicará dazomet granulado (98.0-100%). Se utiliza una dosis de 120-150 gramos/m² distribuidos preferencialmente donde estaban la o las plantas afectadas. Una vez depositado el producto granulado en el suelo, se aplican de 1-5 l de agua para facilitar la liberación del gas. Para la aplicación del dazomet deben mantenerse todas las medidas de protección y seguridad del personal y utilizarse caretas antigás con filtros adecuados al propósito de la fumigación.
- El área fumigada se mantiene cubierta durante 7 días. En caso de que el suelo haya estado demasiado húmedo, la carpa se dejará por un período de 15 días. Una vez levantada la carpa se remueve el suelo dejando liberar los gases durante 15 días.
- Se deben realizar visitas periódicas para inspeccionar el área tratada y verificar la presencia de rebrotes de plantas y nuevos casos de Foc R4T.

Rotación de cultivos

La rotación de cultivos con plantas no hospedantes de Foc ha sido utilizada con el propósito de reducir la población del hongo en el suelo. Se han utilizado rotaciones con caña de azúcar (Sequeira, 1962) y con arroz (Hwang, 1982), lo que ha permitido reducir la población del patógeno y la reintroducción de clones susceptibles. Hay informaciones de que la rotación del cultivo en China con *Allium tuberosum* reduce el nivel de las poblaciones de Foc R4T (Yi, 2011). Hay también informaciones de que en Indonesia la rotación con yuca (*Manihot sculentum*) reduce las poblaciones de Foc (Buddenhagen, 2009).

Uso del control biológico

Existen evidencias experimentales de que *Trichoderma* spp., *Fusarium oxysporum* no patogénicos y algunas especies de bacterias tienen potencial para el control biológico de Foc. Sin embargo, estas evidencias han sido obtenidas en estudios realizados *in vitro* e invernadero y no contemplan la evaluación de su eficacia en la reducción de la enfermedad en campo. Pérez-Vicente *et al.*, (2003) reportaron que el uso combinado de material de siembra (vitroplantas) libre de la enfermedad y *Trichoderma harzianum* en Cuba, permitió un manejo sostenible de las razas 1 y 2 de Foc por períodos de hasta cinco años en áreas donde la enfermedad tenía una alta incidencia. Independientemente de la falta de estudios conclusivos sobre el control biológico de Foc, se recomienda, como parte una estrategia de manejo integrado de la enfermedad, el uso de *Trichoderma* spp. u otros microorganismos que estimulen la actividad microbiológica del suelo y aumenten la supresividad de éstos.

Manejo de la nutrición y pH de los suelos

Hay informaciones sobre la influencia de diferentes elementos nutritivos y el pH del suelo en el desarrollo de la marchitez por *Fusarium* que deben ser consideradas como parte de las medidas de supresión-contención. Entre estas se encuentran:

- **Nitrógeno.** Huber y Watson (1974) reportaron que el incremento de NO₃ en el suelo disminuye el desarrollo de la enfermedad; mientras que Domínguez *et al.*, (1995) informaron que el aumento de NH₄ favorece el desarrollo de enfermedad. Existe un

consenso entre los productores, de que el uso de urea favorece notablemente la enfermedad.

- **Calcio.** El encalado incrementa la supresividad de los suelos y reduce la germinación de clamidosporas (Höper *et al.*, 1995; Peng *et al.*, 1999).
- **Hierro.** Una reducción de su disponibilidad aumenta la supresividad de los suelos (Scher y Baker, 1982) y reduce la germinación de clamidosporas (Peng *et al.*, 1999).
- **pH del suelo.** El pH cercano a 7 es menos óptimo para las marchiteces por *Fusarium* (Domínguez *et al.*, 2001). Los suelos supresivos poseen en general pH altos. Cuando se reduce el pH a menos de 6.5 se incrementa la incidencia de la enfermedad (Peng *et al.*, 1999).

Los procedimientos de control, ya sea relacionados con la erradicación-confinamiento o con la supresión-contención, finalizarán una vez verificado que los mismos han sido exitosos (no hay nuevos casos en un período mínimo de 1 ½ años), o cuando las evaluaciones indiquen que la plaga se ha dispersado, de tal manera que no tiene sentido práctico en términos epidemiológicos y de costo/beneficio, continuar con las acciones. Para ambos casos se deben establecer disposiciones para la derogación de las reglamentaciones establecidas.

9.3 Recomendaciones en apoyo a los procedimientos de control

9.3.1 Control genético

El control genético se refiere al uso de variedades resistentes. Hasta el momento, la medida individual más eficaz para enfrentar al Foc R4T sería la replantación con variedades resistentes. Foc R4T afecta a los principales clones de musáceas cultivados que ocupan el 80% de la superficie mundial (Ploetz, 2009). En el caso del subgrupo Cavendish, solo se han obtenido somaclones con resistencia parcial que retrasan la epidemia (Hwang y Ko, 2004; Molina, 2009). Este tipo de resistencia permite aumentar la vida útil del cultivo, pero a largo plazo no es económicamente sostenible en sistemas de producción convencionales. Debido a esto, el uso de estos somaclones tendría que estar acompañado del cambio del sistema de producción a cultivo anual (o de un número reducido de ciclos) a altas densidades (ejemplo: >3000 plantas/ha). Esta medida debe estar acompañada de un sistema de producción de semillas certificadas libres de Foc R4T.

9.3.2 Producción de material de plantación certificado libre de Foc R4T

El material de plantación constituye una de las principales vías de dispersión del patógeno. Disponer de un programa de semilla certificada libre de patógenos es un elemento esencial para evitar la dispersión de la enfermedad y una condición imprescindible para la sostenibilidad de la producción cuando el patógeno esté presente.

De esta forma, tan pronto sea confirmada la presencia de un caso de Foc R4T en cualquier país miembro del OIRSA, es técnicamente recomendable iniciar un programa de generación de semillas certificadas libres de patógenos y la propagación de variedades resistentes en caso de que estén disponibles y sean aceptadas por los consumidores.

El cultivo de tejidos es una herramienta factible y eficiente de exclusión del patógeno por lo que un programa de producción de semillas certificadas puede tener como punto de partida la utilización de vitroplantas certificadas como libres de patógenos. El desarrollo de viveros a partir de vitroplantas sanas debe ser realizado en áreas libres de FocR4T.

9.4 Factibilidad de las Estrategias de Control

Dada la envergadura económica de un programa de control de un brote de Foc R4T, es importante tener en cuenta una serie de aspectos para garantizar la ejecución y continuidad sostenible de las actividades del programa. Se deben verificar las legislaciones existentes, disponibilidad de recursos, acceso al financiamiento, capacidades técnicas así como el nivel de coordinación y colaboración entre los grupos involucrados

Debe hacerse una revisión detallada de la disponibilidad de materiales, equipos, y herramientas necesarias para la ejecución de las acciones a implementar en cada caso. Adicionalmente, debe determinarse si se dispone de los conocimientos técnicos y habilidades específicas para el desarrollo de los procedimientos y tecnologías requeridas

X. EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE EMERGENCIA

10.1 Evaluación del Programa Durante su Ejecución

Las evaluaciones del plan operativo de emergencia establecido deben hacerse utilizando indicadores cuantificables en la medida de lo posible. Mediante las evaluaciones se podrán detectar desviaciones, facilitando su enmienda a tiempo. Se recomienda que estas evaluaciones sean hechas por un equipo de expertos seleccionado por el CESV. Puede incluirse la participación de expertos internacionales.

10.2 Revisión de Programa de Emergencia

En la NIMF N° 9, *Directrices para los programas de erradicación de plagas*, se establece que el programa de emergencia debe someterse a una revisión periódica con el fin de analizar y verificar las informaciones recolectadas, controlar que estén lográndose los objetivos, o determinar si es necesario hacer algunos cambios.

Las revisiones deberán efectuarse:

- En cualquier momento en el que surjan circunstancias imprevistas que puedan afectar el programa;
- En intervalos programados;
- En la conclusión del programa.

Habrá que revisar el plan de erradicación y verificar si los criterios aplicados para el mismo no han sido observados. Esta revisión deberá tomar en cuenta cualquier conocimiento nuevo adquirido que podría haber contribuido a alcanzar el objetivo del programa. Habrá que revisar factores de costos-beneficios y detalles del ejercicio, con el fin de identificar inconsistencias con las predicciones iniciales. Según el resultado obtenido, podrá desarrollarse o alterarse un nuevo plan de erradicación para convertirlo en un programa de supresión o de manejo de plagas.

10.3 Acciones al Concluir la Ejecución del Programa

Una vez concluida la ejecución del programa se deberán realizar otras acciones como:

- Notificar de los resultados a todas las partes interesadas;
- Llevar a cabo una revisión detallada de todo el proceso a fin de identificar todos los aspectos que puedan ser útiles para ocasiones futuras;
- Preparar el informe final; y
- Revisar el informe y emitir conclusiones.

XI. FINANCIAMIENTO

Para reaccionar de forma apropiada ante una emergencia fitosanitaria, mediante un programa o plan operativo de emergencia, se requiere de financiamiento, por ejemplo, para el diseño del programa, implementación del plan operativo de emergencia, infraestructura básica, equipo, entrenamiento de personal, costo del personal de vigilancia, etc. Los fondos para cubrir estas necesidades pueden resultar cuantiosos, por lo que es importante contar con fuentes de recursos regulares disponibles como las fiscales del país de la ONPF. Es también importante poder contar con fondos de agencias internacionales de financiamiento.

11.1 Fuentes Internacionales de Financiamiento

En el Apéndice 13 se listan agencias internacionales de financiamiento, así como organizaciones que ayudan a buscar fondos.

11.2 Cálculo de los Costos

Para la estimación de los costos de organización y ejecución del plan de emergencia es importante considerar los siguientes costos directos e indirectos:

11.2.1 Costos directos

- Inspección y monitoreo;
- Investigación y diagnóstico;
- Consultoría de expertos;
- Equipo, maquinaria y vehículos;
- Materiales y productos químicos;
- Mantenimiento;
- Programas de divulgación, educación, y relaciones públicas;
- Salarios;
- Viáticos y transportación;
- Honorarios de consultorías legales;
- Manejo de información;
- Subcontratación y costos administrativos;
- Compensaciones por pérdida de los cultivos afectados;
- Compensaciones por pérdidas de mercado, manejo y procesamiento.

11.2.2 Costos indirectos

- Efectos adversos de los programas de erradicación en salud humana, otras especies de plantas afectadas indirectamente, efectos en alimentación y medio ambiente;
- Daños por efecto de cuarentenas, reducción de la cotización de sus propiedades y otros.

La dimensión de los costos, así como los rubros específicos, variará en función de que se atienda el caso sólo para erradicación, o se requiera realizar contención y supresión, si la erradicación no fuera exitosa.

11.3 Metodología para la Estimación de los Costos (presupuesto)

La estimación de los costos debe basarse en la planificación de las actividades según la fase de ejecución. Para cada fase de ejecución se identifican los rubros de costos, según el ejemplo del Formulario 5 (Apéndice 11). Para cada rubro de costos se agregarán sub-rubros, por ejemplo para especificar los costos de salarios para los diferentes cargos involucrados, o las cantidades y los precios de diferentes productos químicos que se utilizarán. Es recomendable utilizar la estructura de ese formulario en una hoja de cálculo electrónica. Los costos indirectos pueden tener implicaciones para posibles compensaciones a pagar. Por esto, se recomienda revisar la información recopilada durante la fase de investigación y diagnóstico que pueda ser relevante para verificar eventuales costos indirectos como la descripción del terreno, infraestructura y accesibilidad u otras características que puedan ser afectadas por la implementación del plan de erradicación-confinamiento y medidas fitosanitarias de cuarentena. Es importante reiterar la importancia de la capacitación a todo personal que manipulará plaguicidas, herbicidas y fumigantes para la prevención de daños en la salud humana y de contaminación del medio ambiente, y de esta forma también reducir costos indirectos.

11.4 Recomendaciones para un Mejor Uso de los Recursos Financieros

Para poder hacer un mejor uso de los recursos financieros es necesario tener un programa de emergencia bien estructurado que garantice la coordinación y ejecución de todas las actividades de manera sólida. El esquema de organización y coordinación adoptado debe permitir la toma de decisiones adecuadas en tiempo y forma.

XII. BIBLIOGRAFÍA

- Buddenhagen, I. 2009. Understanding strain diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and history of introduction of 'tropical race 4' to better manage banana production. ISHS Acta Horticulturae 828: International Symposium on Recent Advances in Banana Crop Protection for Sustainable Production and Improved Livelihoods.
- CABI (CAB International). 2007. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK.
- CIPF-FAO. 2006a. Determinación de la Situación de una Plaga en una Área. NIMF No. 8. Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF). FAO
- CIPF-FAO. 2006b. Notificación de Plagas. NIMF No. 17. Secretaría para la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF). FAO.
- Domínguez, J.; Negrín, MA.; Rodríguez, CM. 2001. Aggregate water stability, particle size and soil solution properties in conducive and suppressive soils to *Fusarium* wilt of banana from Canary Islands. *Soil Biology and Biochemistry* 33; 349-455.
- Domínguez, J.; Rodríguez, CM, Hernández-Moreno, JM. (1995). Iron and *Fusarium* wilts in banana crops and Andic soils. In: Abadia, J. (Ed.), *Iron nutrition in soils and plants* Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, pp 255-258.
- Herbert, J.A.; Marx, D. 1990. Short term control of Panama disease in South Africa. *Phytopathologica* 22: 339-340.
- Höper, H.; Steinberg, C.; Alabouvette, C. 1995. Involvement of clay type and pH in the mechanism of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of flax. *Soil biology and Biochemistry* 27; 955-967.
- Huber, DM.; Watson, RD. 1974. Nitrogen form and plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 12; 139-165.
- Hwang, Sc. 1985. Ecology and control of fusarial wilt of banana. *Plant Protection Bulletin (Taiwan)* 27: 233-345.
- Hwang, SH.; Ko, WH. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* Wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant Disease* 88: 580-588
- Leslie, J.; Summerell, BA. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Iowa, EU. Blackwell Publishing Co. 376 p.
- Masdek, N.; Mahmood, M.; Molina, A.; Hwang, SC.; Dimiyati, A.; Tangaveli, RO. 2003. Global significance of *Fusarium* wilt: Asia. In *International Symposium on Fusarium wilt on banana (2nd., Salvador de Bahía, Brazil)*. Abstracts of Papers. PROMUSA-INIBAP/EMBRAPA. P.
- Meng, LY.; Leng, T.; Kim Ping, O. 2001. *Fusarium* wilt of Cavendish banana and its control in Malaysia. In Molina AB.; Masdek, NH. and Liew, KW. Eds. *Banana Fusarium wilt management: towards sustainable cultivation*. INIBAP-ASPNET, Los Baños. p 252-259.
- MIDA, 2008. Resuelto No. DAL-048-ADM-08 PANAMÁ 18 DE JULIO DE 2008. Ministerio de Desarrollo Agropecuario de Panamá, PA. Gaceta Oficial Digital No. 26130.
- Molina, AB. 2009. Estado de la incidencia en Asia del marchitamiento por Raza 4 tropical de *Fusarium* en el cultivo del banano. In *Reunión de Grupos de Interés sobre los Riesgos de la Raza 4 tropical de Fusarium, BBTv y otras Plagas de Musáceas, OIRSA (2009, San Salvador, El Salvador)*. Resúmenes. 71 p.
- Molina AB.; Fabregar, EG.; Sinohin, V.; Fourie, G.; Viljoen, A. 2008. Tropical Race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing new Panama wilt epidemics in Cavendish varieties in the Philippines. *Phytopathology* 98: S108.
- Nasdir, N. 2003. *Fusarium* wilt race 4 in Indonesia. Research Institute for Fruits west Sumatra, Indonesia. In *International Symposium on Fusarium wilt on banana (2nd., Salvador de Bahía, Brazil)*. Abstracts of Papers. PROMUSA-INIBAP/EMBRAPA. p.

- Nel B.; Steinberg, C.; Labuschagne, N.; Viljoen, A. 2007. Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. *Crop Protection* 26: 697–705
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2005. Glosario de términos fitosanitarios. Roma, IT. CIPF. (NIMF no. 5).
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 1997. Directrices para la vigilancia. Roma, IT. CIPF. (NIMF no. 6).
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 1998. Directrices para los programas de erradicación de plagas. Roma, IT. CIPF. (NIMF no. 9).
- Peng HX.; Sivasithampam, K.; Turner, DW. 1999. Chlamydospore germination and *Fusarium* wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1363-1374.
- Pérez-Vicente, L. 2004. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas: an updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent. In ACORBAT (XV, 2004, Oaxaca, México). Memorias. p. 1-14.
- PHA (Plant Health Australia). 2010. PLANT PLAN: Australian Emergency Plant Pest Response Plan. Version 2. Canberra, AU. p. 187.
- Pérez-Vicente, L.; Batlle, A., Fonseca, J. 2003. *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* en Cuba: biología de las poblaciones, reacción de los clones híbridos de la FHIA y biocontrol. En Rivas, G y Rosales, F. (Ed.) Actas del Taller "Manejo Convencional y Alternativo de Sigatoka Negra, Nematodos y Otras Plagas Asociadas al Cultivo de Musáceas en los Trópicos. INIBAP. Guayaquil Ecuador 11-13 de agosto. Pp 141-155.
- Ploetz, RC. 2007. Assessing threats that are posed by destructive banana pathogens. In ISHS *ProMusa* Symposium (2007, White River, South Africa). Recent advances in Banana Crop Protection for Sustainable Production and Improved Livelihoods. 88 p.
- Scher, FM.; Baker, R. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathology* 72: 1567-1773.
- Sequeira, L. 1962. Influence of organic amendments on survival of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* in soil. *Phytopathology* 52: 976-982.
- Stover, Rh., 1972. Banana, plantain and abaca diseases. Surrey, UK. CMI. 316 p.
- Thangavelu, R.; Mustafa, MM. 2010. First report on the occurrence of a virulent strain of *Fusarium* wilt pathogen (Race-1) infecting Cavendish (AAA) group of bananas in India. *Plant Disease* 94 (11): 1379.
- Yi. G. 2011. Potential strategy to manage *Fusarium* wilt in banana. BAPNET Bulletin Vol. 17 No. 1

APÉNDICES

APÉNDICE I

OIRSA

Hoja de Datos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N.

Hansen Raza 4 Tropical (Foc R4T)

San Salvador, El Salvador, 2013. Primera edición

Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA).
Hojas de Datos sobre Plagas Cuarentenarias

IDENTIDAD

Nombre

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen Raza 4 Tropical⁷

Posición taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Hongos

Phylum: Ascomycota

Clase: Ascomycetes

Subclase: Sordariomycetidae

Orden: Hypocreales

Nombres comunes (CABI 2007)

Español:

Marchitez por *Fusarium* de los bananos y plátanos

⁷ La raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc R4T) posee características semejantes a las demás razas ya presentes en la región del OIRSA con la diferencia de que es patogénica a las variedades del subgrupo Cavendish en condiciones tropicales y que pertenece a un Grupo de Compatibilidad Vegetativa que no está presente en la región del OIRSA. Estas diferencias son suficientemente significativas para afectar la condición de la plaga (presencia o ausencia en un área). La información biológica presentada en esta hoja de datos aunque no haya sido tomada estrictamente de estudios realizados con Foc R4T es fielmente aplicable a esta raza.

Mal de Panamá

Inglés:

Fusarium wilt of banana

Panama disease of banana

Fusarium vascular wilt of banana and abaca;

Banana wilt

Francés:

Maladie de Panama

Fusariose du bananier

Alemán:

Panama-Krankheit

Banane Welke

Java:

Javanese vascular wilt

Notas sobre taxonomía y nomenclatura

Fusarium oxysporum es un complejo de especies de hongos filamentosos anamórficos morfológicamente indiferenciables (O'Donnell y Cigelnick, 1998), en el que figuran saprófitos, antagonistas y patógenos a plantas, animales y humanos, que, en el caso de los patógenos de plantas, en su mayoría causan marchitez, ahogamiento de plántulas conocida también como “*damping off*” y necrosis de órganos y raíces. Es el taxón más importante en *Fusarium* desde el punto de vista agrícola y económico (Ploetz, 2006).

La especialización de la patogenicidad a géneros y familias dio lugar a la clasificación en *formae specialis* de Snyder y Hansen (1940). Se han identificado más de 100 *formae speciales* con patogenicidad única o a un número de hospedantes estrechamente relacionados.

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* no puede ser distinguido morfológicamente de otras *formae speciales* de *Fusarium oxysporum*, endófitos no patógenos y saprófitos y antagonistas (Snyder y Hansen, 1940; Messiaen y Cassini, 1968; Booth, 1972; Leslie y Summerell, 2006). La *forma specialis* designada como *cubense* es aplicada solamente sobre la evidencia de pruebas de patogenicidad.

La historia de la taxonomía de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ha sido resumida por Stover (1962), Ploetz y Pegg, (2000), Pérez-Vicente, (2004) y Ploetz (2005).

Bancroft (1876), aisló por primera vez un organismo de naturaleza fungosa en plantas enfermas de marchitez. Higgins (1904), hizo notar una asociación fungosa en las plantas de bananos que padecían de una marchitez letal. Smith en 1908 (Smith, 1910) realizó el primer aislamiento del hongo a partir de muestras de plantas enfermas de Cuba y designó a la especie *Fusarium cubense*. Ashby (1913), realizó la primera descripción detallada en cultivo del agente causal y Brandes (1919), confirmó los postulados de Koch y la patogenicidad no solo en Gros Michel

(AAA) y Manzano (AAB) sino también en el clon Bluggoe (ABB). En 1935, H. W. Wollenweber y O. A. Reinking (Wollenweber y Reinking, 1935), reconocieron que *Fusarium cubense* era una variante del casi omnipresente *Fusarium oxysporum*. Snyder y Hansen (1940), al crear el sistema de *formae specialis*, renombraron al patógeno como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* a todas las especies del complejo *Fusarium oxysporum* capaces de provocar síntomas de marchitez en musáceas.

Estudios filogenéticos han demostrado que *F. oxysporum* f. sp. *cubense* es un hongo asexual polifilético, compuesto por varios linajes producto de una evolución convergente (Bentley *et al.*, 1998; O'Donnell *et al.*, 1998; Ploetz, 2006; Fourie *et al.*, 2011).

HOSPEDANTES

- a) Hospedantes primarios (cultivados o silvestres). En condiciones de campo, Foc R4T está principalmente confinado a los géneros *Musa* [*Musa* spp., *Musa textilis*, *Musa acuminata*, *Musa balbisiana* (Stover, 1962; CABI, 2007)] y *Heliconia* [*Heliconia* spp., *H. caribaea*, *H. psittacorum*, *H. mariae* (Stover, 1962; CABI, 2007)].
- b) Otros hospedantes (cultivados o silvestres). Además se ha informado como presente en diferentes especies silvestres, algunas de las cuales son malezas de los bananales, tales como:
 - *Chloris inflata* sin. *Chloris barbata* (zacate borrego)(CABI, 2006; Hennessy *et al.*, 2003);
 - *Commelina diffusa* (canutillo)(Wardlaw, 1972),
 - *Ensete ventricosum* (Ensete)(Wardlaw, 1972),
 - *Euphorbia heterophylla*, (leche vana, lechosa, leche de sapo) (CABI, 2007; Hennessy *et al.*, 2003)
 - *Tridax procumbens* (CABI, 2007; Hennessy *et al.*, 2003).

En todos los casos la infección estará restringida al sistema vascular de las raíces y tallos.

La importancia epidemiológica de los hospedantes no pertenecientes a *Musa* y *Heliconia* ha sido poco documentada.

Vías de la plaga en el comercio

Las vías de la plaga en el comercio son:

- Plantas para plantar;
- Partes de plantas no destinadas para la siembra, ;
- Partes de plantas utilizadas como empaque;
- Suelo;
- Suelo que se moviliza como contaminante en otros artículos (productos vegetales, maquinaria, contenedores, herramientas agrícolas, aperos de labranza, calzado, gomas de equipos de transporte, etc.).

Hasta el presente no existen evidencias de la dispersión de Foc R4T en frutos de bananos. La principal forma de dispersión internacional de las razas de Foc, incluida la historia más reciente de Foc R4T, ha sido a través del movimiento de hijuelos de *Musa* spp. y en materiales de propagación de *Heliconia* spp. asintomáticos infectados. Aproximadamente entre el 30 y el 40% de los hijos obtenidos de un rizoma de banano Cavendish infectado resultan infectados (Hsieh y Ko, 1986). Otra forma importante de dispersión del patógeno es en suelo que se moviliza con plantas de vivero o en productos vegetales, maquinaria, contenedores, herramientas agrícolas o aperos de labranza, calzado animales etc.

Partes de los hospedantes que son afectadas por la plaga

- Raíces;
- Rizomas o cormos;
- Pseudotallos;
- Peciolos.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La distribución actualmente confirmada de Foc R4T es:

- Taiwán (Su *et al.*, 1986; Ploetz y Pegg, 2000; Hsieh y Ko, 2004);
- Malasia (Malasia peninsular y Sarawak; Ong, 1996);
- Indonesia (Halmahera, Irian Jaya, Java, Sulawesi, Kalimantan y Sumatra) (Nuthardi *et al.*, 1994; Pegg *et al.*, 1996; Ploetz y Pegg, 2000; Lee *et al.*, 2001; Ploetz, 2005b; O'Neill *et al.*, 2009);
- Las Filipinas (Molina *et al.*, 2008);
- República Popular China (en Guangdong, Guangxi, Hunan) (Qi, 2001; Qi *et al.*, 2008);
- Papúa Nueva Guinea (en Timika, Merauke, y Biak) (Davis *et al.*, 2000);
- Australia (los territorios del Norte) (Ploetz y Pegg, 2000).

En India se reportó la presencia de poblaciones de la raza 1 (VCG 0124) atacando variedades del subgrupo Cavendish (Tangavelu y Mustafa, 2010), pero se carece de informaciones oficiales sobre su impacto. Este reporte produjo cierta preocupación en el mundo, pero es importante señalar que las informaciones publicadas no deben ser consideradas como que en la India está presente Foc R4T. India hasta el momento se considera como libre de Foc R4T.

BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y HÁBITOS

Fusarium oxysporum f. sp. *cupense* es un hongo de estado reproductivo asexual (anamorfo), y sin estado sexual (teleomorfo) conocido hasta la actualidad, aunque se ha demostrado la presencia en algunos aislamientos de los genes idiomórficos Mat 1, Mat 2 por lo que la historia evolutiva de la especie en algún momento incluyó la reproducción sexual (Fouré *et al.*, 2011).

Foc produce macro, microconidios y clamidosporas, las cuales garantizan la reproducción y dispersión del hongo. En ausencia de tejido vivo del hospedante, el patógeno es capaz de sobrevivir en tejidos previamente colonizados, en forma de clamidosporas en el suelo, donde puede permanecer latente por largos períodos o como parásito de malezas hospedantes. El hongo, puede permanecer y sobrevivir en el suelo hasta por 30 años en forma de clamidosporas (Stover, 1972).

La proximidad a las raíces induce la germinación de las clamidosporas. La infección de los bananos ocurre sobre y como respuesta a exudados de las raíces de primero y segundo orden (Li *et al.*, 2009). Las raíces mayores y el rizoma no son usualmente afectados directamente. Después de la germinación, las hifas se adhieren a la epidermis y la penetran directamente; el micelio entonces avanza intracelularmente a través de la corteza y alcanza los vasos xilemáticos. Una vez alcanzado el xilema, se mantiene dentro de este, donde produce microconidios que son movidos hacia arriba por la corriente de savia colonizando los vasos vecinos y produciendo nuevos microconidios. Los síntomas típicos de marchitez son el resultado del estrés severo de agua debido al taponamiento de los vasos cribosos del xilema y por la combinación de las actividades del patógeno tales como acumulación de micelio, la producción de toxina y/o las respuestas de defensa del hospedante, incluyendo la producción de tilosas, gomas y el aplastamiento de los vasos debido al crecimiento de las células parenquimáticas acompañantes (Beckman, 1990). Mientras la planta viva, el patógeno se encuentra limitado a las células del xilema y algunas células acompañantes, pero una vez la planta muere invade el parénquima y esporula profusamente (Ploetz y Pegg, 2000). En resumen, la infección de Foc es un fenómeno complejo que requiere una serie de procesos altamente regulados: 1) reconocimiento de las raíces del hospedante mediante una señalización no bien conocida; 2) adhesión a la superficie de las raíces y diferenciación de las hifas de penetración; 3) penetración de la corteza de las raíces y degradación de las barreras físicas del hospedante a la infección como es la endodermis para alcanzar el xilema; 4) adaptación al ambiente hostil del hospedante incluyendo los compuestos antifúngicos; 5) proliferación en los vasos xilemáticos y producción de microconidios y 6) secreción de determinantes de la virulencia tales como pequeños péptidos o fitotoxinas (Di Pietro, *et al.*, 2003).

El micelio de Foc crece en el rango de temperaturas entre 9 y 38 °C con una meseta de crecimiento entre 23 y 27 °C (Pérez *et al.*, 2003). Coincidentemente con esto, la enfermedad es más intensa durante los meses más cálidos y húmedos del año.

El término y concepto de raza ha sido utilizado para clasificar las cepas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* desde mediados del pasado siglo (Stover, 1962). Las razas de Foc han sido designadas con base en su patogenicidad a diferentes variedades de referencia en condiciones de campo. Han sido descritas cuatro razas patogénicas de Foc (Stover y Waite, 1960; Stover, 1962; Moore *et al.*, 1993; Su *et al.*, 1998). La clasificación actual, aunque no representa la variabilidad del patógeno y no está basada en relaciones genéticas de la interacción hospedante-patógeno, ha brindado informaciones útiles (Pérez-Vicente, 2004, Ploetz, 2006). La raza 1 ataca a los clones Gros Michel (AAA), Manzano (Silk, AAB), Pome (AAB) y Latundan; la raza 2 ataca Bluggoe y (otros clones de genoma ABB); la raza 3 previamente descrita (Stover, 1962; Waite y Stover, 1960) ataca las heliconias (*Heliconia* spp.), pero como no afecta a los bananos, no es considerada más como parte de la estructura racial de la *forma specialis cubense* (Ploetz, 2005 b). La raza 4 es patogénica a los Cavendish y a todos los cultivares susceptibles a las razas 1 y 2. Hasta la década de 1990, todos los casos de infecciones en Cavendish estuvieron relacionados con plantas sometidas a estrés, particularmente de temperatura, como ocurre en los cultivos de los subtropicos en Taiwán

(Su *et al.*, 1986), Islas Canarias, África del Sur, el Sur de Australia y el Sur de Brasil (Ploetz, 1990). A estas poblaciones, se les denominó raza 4 subtropical (R4S; Su *et al.*, 1986; Grimbeek *et al.*, 2001; Ploetz 2005b).

A partir de 1990, con el desarrollo de plantaciones en la zona ecuatorial tropical de Asia en Indonesia y Malasia, se comenzaron a informar casos de poblaciones con capacidad patogénica sobre variedades del subgrupo Cavendish a las que se llamó raza 4 tropical (R4T) y la cual afecta los clones Cavendish tanto en condiciones sub- como tropicales, más a aquellos clones que son afectados por las razas 1 y 2 y otros clones diversos como el 'Pisang Mas'(AA) (Pegg *et al.*, 1993; Ploetz, 1994; Ploetz y Pegg, 2000; Ploetz 2006). Es una raza genéticamente distinta de las poblaciones anteriormente clasificadas como raza 4 subtropical (Pegg *et al.*, 1994; Bentley *et al.*, 1998; Koenig *et al.*, 1997).

Debido a la falta de bases genéticas en la clasificación racial de las poblaciones de Foc, se utilizó la heterocompatibilidad o la capacidad de formar heterocariones entre poblaciones para caracterizar las poblaciones. Se han identificado 24 grupos de compatibilidad vegetativa (VCGs; del inglés *vegetative compatibility groups*) considerando poblaciones de todo el mundo (Ploetz y Correll, 1988; Ploetz, 1990 a y b; Brake *et al.*, 1990; Leslie, 1990 y 1993; Moore *et al.*, 1993; Pegg *et al.*, 1993; Hernández *et al.*, 1993; Batlle y Pérez, 1999; Ploetz y Pegg, 2000). Hasta el momento, Foc R4T pertenece a un solo grupo de compatibilidad vegetativa que es el 01213, mientras que por lo menos 9 grupos de compatibilidad vegetativa han sido asociados con la raza 4 subtropical. Se ha relatado también que R4T pertenece al grupo 01216 o al complejo 01213/16, pero en realidad todo indica que es un mismo grupo (Dita *et al.* 2010, Ploetz & Viljoen comunicación personal 2009).

Los aislados de Foc están divididos en distintos linajes (al menos 8) con grupos de compatibilidad vegetativa (VCGs) relacionados estrechamente, aun cuando se encuentran distribuidos en una amplia área geográfica. Estas relaciones han sido documentadas mediante estudios multigenéticos realizados mediante RFLPs, AFLPs y RAPDs, el cariotipo electroforético y filogenias con genes múltiples (Bentley *et al.*, 1994; ; O'Donnell *et al.*, 1998; Boehm *et al.*, 1994; Fourie *et al.*, 2009; Groenwald *et al.*, 2006; Koenig *et al.*, 1997; Pegg *et al.*, 1995), lo que sugiere una estrategia reproductiva clonal del patógeno.

Algunos factores tienen influencia preponderante en el desarrollo de la enfermedad. El factor más importante es el grado de resistencia/susceptibilidad del genotipo, clon o variedad de Musácea presente en el área. El segundo factor es la raza o patotipo de Foc presente. Finalmente, otros factores como drenaje, condiciones ambientales y tipo de suelo tienen influencia en el desarrollo de la enfermedad. Se ha informado la existencia de suelos supresivos en los cuales determinadas condiciones físicas, químicas y microbiológicas suprimen el desarrollo de la enfermedad. Estos suelos fueron descritos por primera vez en los años 30 en Centro América y han sido también registrados en Australia, Islas Canarias y África del sur. Entre los factores mencionados se encuentran el pH (en suelos con pH de 7 o superiores, la infección es menor); el uso de nitratos versus amonio (la infección es menor donde se utilizan nitratos); un alto contenido de calcio es supresivo (Peng *et al.*, 1999; Nei *et al.*, 2006)

Forsyth *et al.*, (2006) informaron de poblaciones de *Fusarium oxysporum* endofíticos con capacidad de supresión de Foc en Australia en condiciones de invernadero. Sin embargo, la estrategia de supresión mediante biocontrol en campo no ha sido exitosa al usarse aisladamente. Pérez-Vicente *et al.*, (2003) redujeron la incidencia de Foc en suelos conducibles de la enfermedad en Cuba, cuando combinaron el uso de *Trichoderma harzianum* A24 con la plantación de vitroplantas

sanas en suelos infectados, donde la plantación de un clon susceptible había sido destruida por la enfermedad.

DISPERSIÓN

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* puede dispersarse a través de material vegetal (material de siembra, partes de plantas contaminadas), suelo y agua. Se acredita que vientos acompañados de lluvia podrían dispersar Foc, pero se carece de estudios que confirmen esta hipótesis. La formación de esporodocios (masas de conidios) de Foc R4T fue confirmada en condiciones de invernadero (Dita, sin publicar), pero estas estructuras no han sido relatadas aún en condiciones de campo. En lugares secos, donde el viento pueda arrastrar partículas de suelo (polvo) contaminado el viento también podría ser un vehículo de dispersión de Foc. En los países miembros del OIRSA que frecuentemente son azotados por huracanes se debe prestar atención especial, pues los vientos huracanados podrían ser también vehículos de dispersión de Foc.

Dispersión en material vegetal

La dispersión de Foc, ya sea local (dentro de la finca) o a grandes distancias (otras fincas, regiones o países), ocurre principalmente de manera artificial mediante el traslado y siembra de hijos visiblemente asintomáticos pero que ya están infectados. Según Hwang y Ko (2004) entre el 30 y el 40% de los hijos obtenidos de un rizoma de banano Cavendish afectado por la enfermedad están infectados. Sin embargo, hay posibilidades que 100% de los hijos estén infectados, por lo que todos los hijos provenientes de una planta enferma son potenciales fuentes de inóculo y consecuentemente vías de dispersión artificial de la plaga. Foc R4T también puede dispersarse en materiales de propagación infectados, visiblemente asintomáticos, de otros hospedantes, por ejemplo *Heliconia* spp.

Tejidos de pseudotallo y hojas de plantas afectadas pueden también ser vías de dispersión de Foc. Es frecuente que hojas y pseudotallos sean utilizados para el acondicionamiento o embalaje de bananos que son transportados de un lugar a otro. Estos tejidos infectados deben ser considerados como vías de dispersión de Foc.

Dispersión a través de suelo

Foc puede dispersarse por movilización de suelo contaminado de manera natural y/o artificial. La vía natural ocurre a través del arrastre de suelo provocado por las lluvias o por el viento. La vía artificial está relacionada con suelo adherido a implementos agrícolas, vehículos, zapatos y ropas.

Dispersión a través del agua

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* puede dispersarse de manera eficiente a través del agua de riego o agua de escorrentía tras las lluvias, así como en el curso de ríos cuyo cauce corra entre áreas con presencia de la plaga y áreas libres. Si se utilizara agua de un reservorio contaminado con Foc para irrigar áreas libres, la plaga podría dispersarse rápida y eficientemente.

Hasta el momento de la publicación de este documento no se habían encontrado evidencias sobre la dispersión de Foc R4T mediante frutos de banano.

MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA

Descripción morfológica de Fusarium oxysporum f. sp. cubense

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* no puede ser distinguido morfológicamente de otras *formae speciales* causantes de marchitez en otros hospedantes, *F. oxysporum* endófitos no patógenos, saprófitos y antagonistas (Snyder y Hansen, 1940; Messiaen y Cassini, 1968; Booth, 1972; Leslie y Summerell, 2006).

Produce abundantemente macro y micro conidios en estructuras llamadas esporodoquios, que son de color naranja. No se ha encontrado estado sexual (teleomorfo) aún en aislamientos que presentan los genes *Mat 1* y *Mat 2* (Fourie *et al.*, 2011). Los macroconidios (27 - 55 x 3.3 - 5.5 μm), son abundantes, falcados (de curvatura semejante a la de la hoz) a casi rectos, de paredes delgadas, con tres a cinco septos (usualmente de tres septos). La célula apical es usualmente atenuada o en forma de gancho en algunos aislamientos. Las células basales son de forma de pie. Los macroconidios se forman de monofálides o en esporodoquios ramificados y en menor extensión desde monofálides en hifas (Figura 1A). Los microconidios (5- 16 x 2.4 - 3.5 μm), usualmente sin septos, pueden ser ovales, elípticos o reniformes y se forman abundantemente en falsas cabezas en monofálides cortas (Figura 1B y 1C). Las clamidosporas (7-11 μm de diámetro), son formadas abundantemente en hifas o en conidios, aisladas o en cadenas, usualmente en pares, pero su formación puede ser más lenta en algunos aislamientos (Figura 1D).

En medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar), las colonias son de morfología variable. El micelio puede ser velludo, esparcido, o abundante y de color blanco con tonos variables de salmón a violeta pálido. Pueden producirse esclerocios de color negro a violeta en algunos aislamientos. *Fusarium oxysporum* produce usualmente pigmentos de color violeta pálido a rojo oscuro en medio del cultivo PDA, aunque algunos aislados no producen pigmentos (Stover, 1962; Ploetz, 1990; Pérez-Vicente *et al.*, 2003). Algunos aislados mutan rápidamente de la forma pionnotal (con abundancia de agregados grasosos o brillantes de conidios) a un micelio plano húmedo de color blanco-amarillo pálido a melocotón en medio de cultivo PDA (Stover, 1962; Ploetz, 1990).

En medio Komada modificado (K2) son lacinadas, mientras que las de las razas 1 y 2 no forman lacinias (Sun *et al.*, 1978). Sin embargo, estas características no son determinantes para realizar el diagnóstico de Foc R4T.

SÍNTOMAS Y/O DAÑOS

Síntomas de la Marchitez por Fusarium

No hay diferencias en los síntomas que producen las diferentes razas de Foc en *Musa*. Por lo tanto las razas no pueden diferenciarse entre sí con base en los síntomas que provocan. (Stover, 1962; Ploetz, 1990; Ploetz y Pegg, 2000).

La enfermedad se caracteriza por producir dos tipos de síntomas externos: “síndrome” de las hojas amarillas y “síndrome” de las hojas verdes (Stover, 1962; Pérez-Vicente, 2004).

“Síndrome” de hoja amarilla: Es el síntoma más clásico y característico externo de la marchitez por *Fusarium* de los bananos. Se caracteriza inicialmente por la aparición de un amarilleo en los márgenes de las hojas más viejas (este síntoma puede ser inicialmente confundido con

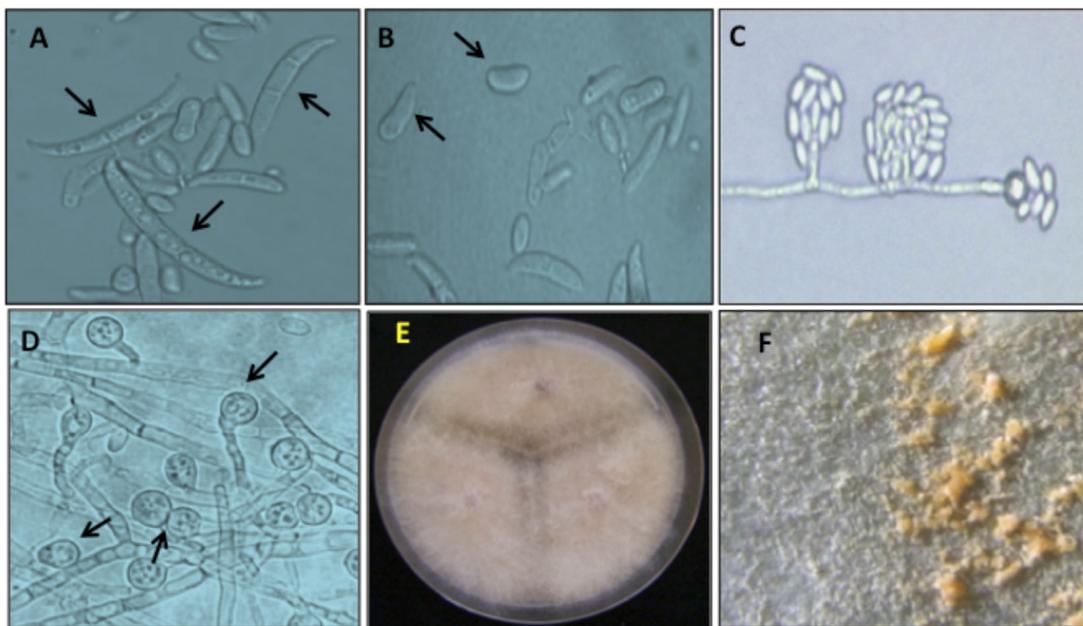


Figura 1. Estructuras reproductivas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **A.** Macroconidios (poseen longitud $27 - 55 \times 3.3 - 5.5 \mu\text{m}$, 4- 8 células en formato de hoz, con células basales en forma de pié). **B.** Microconidios (poseen longitud de $5 - 16 \times 2.4 - 3.5 \mu\text{m}$, 1 o 2 células, ovals en forma de riñón. **C.** Fialides y microconidios agrupados en falsas cabezas. **D.** Clamidosporas (poseen de $7 - 11 \mu\text{m}$ diámetro, usualmente globosas formadas individuales o en cadenas). **E.** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical en medio de cultivo PDA. **F.** Esporodocios de color naranja formados en la superficie medio de cultivo PDA. (Fotos: M.A. Dita y L. Pérez-Vicente).

la deficiencia de potasio, especialmente en condiciones de seca o frío). El amarilleo de hojas progresa de las hojas más viejas a las más jóvenes (Figura 2A). Las hojas gradualmente colapsan en el peciolo o más comúnmente hacia la base de la nervadura central y cuelgan para formar “una saya o falda” de hojas muertas alrededor del pseudotallo (Figura 2D).

“Síndrome” de hoja verde: En contraste con el síndrome de hoja amarilla, en algunos clones las hojas de las plantas afectadas permanecen predominantemente verdes hasta que los peciolos se doblan y las hojas colapsan (Figura 2C).

En general, las hojas más jóvenes son las últimas en mostrar síntomas y frecuentemente permanecen inusualmente erectas, dándole a la planta una apariencia “erizada”. El crecimiento no cesa en una planta infectada y las hojas que emergen son usualmente de una apariencia más pálida que la de las plantas sanas. La lámina de la hoja emergente puede estar marcadamente reducida, arrugada y distorsionada. En el pseudotallo pueden desarrollarse también en rajaduras longitudinales(Figura 2B). En los frutos no hay evidencias de síntomas.

Una planta susceptible de banano infectada con Foc raramente se recupera. Sin embargo, puede ocurrir un crecimiento pobre de la planta por algún tiempo y producirse muchos retoños infectados antes de que la planta madre muera finalmente.

Los síntomas internos se caracterizan por una coloración vascular que comienza con el amarilleo del tejido vascular en las raíces y cormos, el cual progresa para formar un haz vascular continuo

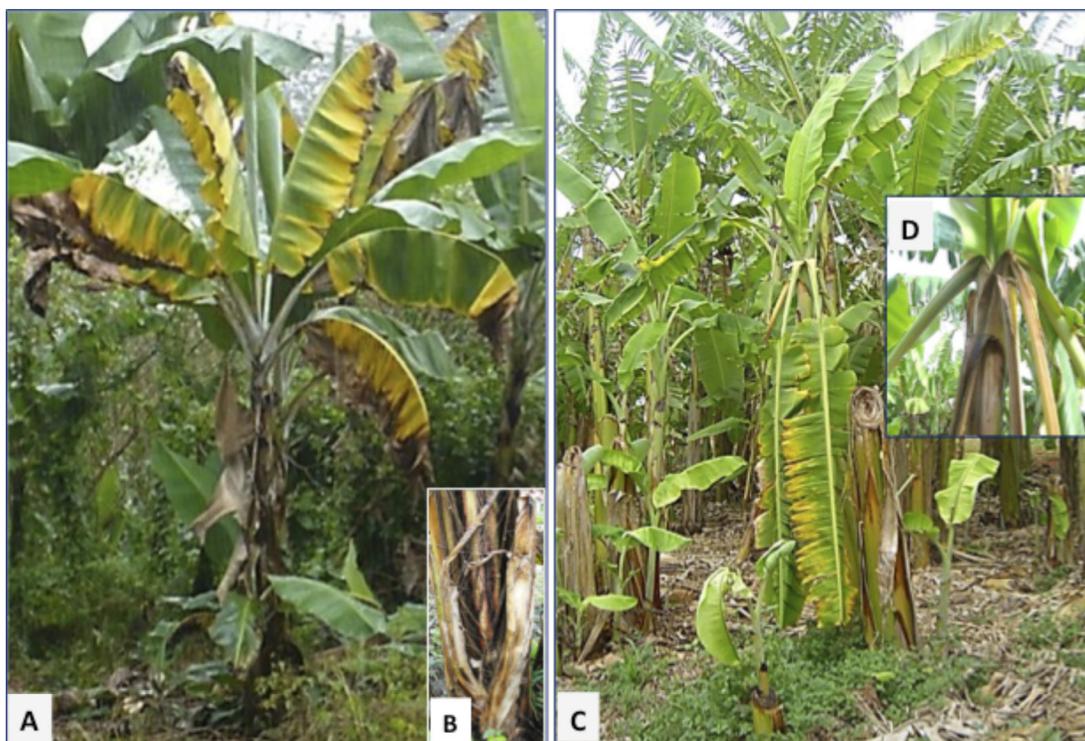


Figura 2. Síntomas externos de la marchitez por *Fusarium* en banana. **A.** Planta mostrando clorosis generalizada en las hojas (“síndrome de la hoja amarilla”) en estado avanzado de la enfermedad. **B.** Rajaduras en la base del pseudotallo. **C.** Planta afectada por la marchitez por *Fusarium* con hojas verdes (“síndrome de la hoja verde”). **D.** Detalles de quiebra de las hojas en la base del peciolo. (Fotos: L. Pérez-Vicente y M. A. Dita).

coloreado de amarillo, rojo o pardo en el pseudotallo, el cual es muy característico de la enfermedad (Figura 3). En clones muy susceptibles pueden observarse haces coloreados en los peciolos de las hojas.

A medida que la planta muere, el hongo crece fuera del xilema, en los tejidos que lo rodean, formando abundantes clamidosporas que quedan en el suelo cuando las plantas se descomponen. Foc también coloniza y persiste en las raíces de hospedantes alternativos, incluyendo aquellos relacionados con los bananos y algunas especies de hierbas y malezas, aunque esas plantas permanecen asintomáticas en las condiciones de campo.

En determinados casos, la marchitez por *Fusarium* causada por Foc ha sido confundida con la marchitez bacteriana (Moko) causada por *Ralstonia solanacearum* raza 2. Estas enfermedades pueden diferenciarse por los siguientes criterios:

- Marchitez por *Fusarium*. Los síntomas progresan de las hojas más viejas a las más jóvenes. En la marchitez bacteriana o Moko, los síntomas progresan usualmente de las hojas más jóvenes a las más viejas;
- En la marchitez bacteriana los hijos jóvenes que emergen del rizoma muestran distorsiones y pudrición pudiendo morir. En el caso de la marchitez por *Fusarium* no se observan síntomas en los hijos jóvenes en crecimiento;

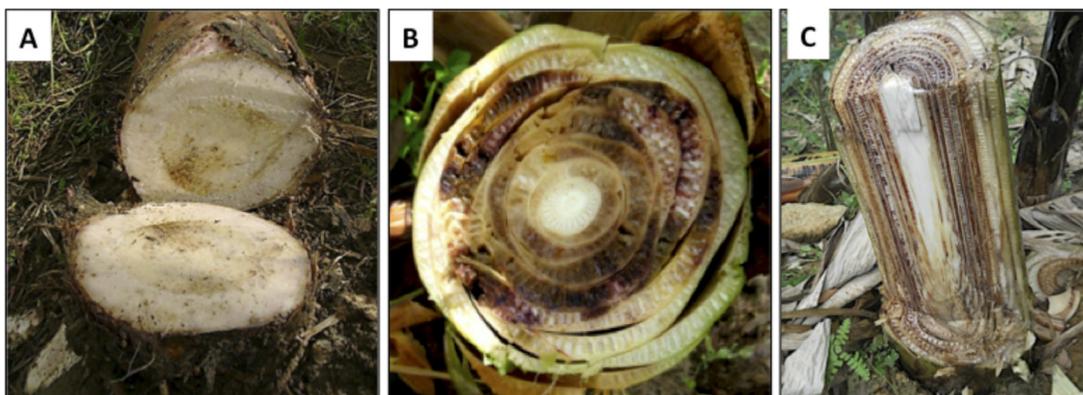


Figura 3. Síntomas internos de la marchitez por *Fusarium* en banano. **A.** Corte transversal en el cormo (rizoma) mostrando necrosis de los tejidos. **B.** Corte transversal del pseudotallo mostrando necrosis avanzada del tejido vascular. **C.** Corte longitudinal del pseudotallo mostrando necrosis a lo largo de los haces vasculares. (Fotos: M. A. Dita y L. Pérez-Vicente.).

- En el caso del Moko se observan exudaciones de la bacteria en todos los tejidos que se cortan (raíces, pseudotallos, raquis, flores y rizoma, etc.). En el caso de la marchitez por *Fusarium* no hay exudaciones;
- En el Moko hay necrosis y pudrición interna de los frutos mientras que en la marchitez por *Fusarium* no se observan síntomas en los frutos.

SIGNIFICANCIA DE LA PLAGA

Relación de daños observados

El impacto que ha tenido Foc R4T en los países afectados es la siguiente:

- **Taiwán.** En los 60 el país exportaba 60 mil cajas de 12 kg y en la actualidad, cambió el sistema de cultivo a ciclos anuales a alta densidad y no exporta más de 6 mil cajas anuales debido a los costos de labor, la competencia y el impacto de Foc R4T. En 1967 se identificó la enfermedad, que se atribuyó a la raza 4 subtropical. Esta se dispersó rápidamente y el número de plantas afectadas se incrementó de 1 a 5,536 en tres años. En 1976 estaban afectadas 1200 ha que representan aproximadamente 500,000 plantas de banano (Hwang y Ko, 2004). Producto del impacto de Foc R4T y de los tifones, el sistema de cultivo cambió de plantaciones permanentes a plantaciones anuales de altas densidades de plantas por unidad de superficie. En 1989 se determinó que las poblaciones más frecuentes en las epidemias pertenecían al grupo de compatibilidad 01213, confirmando así la presencia de la R4T (Molina, 2009)
- **Malasia Peninsular.** Se detectó en 1992 en Cavendish en una finca de 392 ha y 4 años después se había dispersado al 30% de las plantas (Meng *et al.*, 2001). El ritmo de la epidemia dos años después de haber establecido plantaciones en el año 2003, alcanzó las 50 plantas/ha/mes.
- **Indonesia.** Destruyó la industria de exportaciones con daños multimillonarios durante los 90. A inicios de los años 90, compañías comerciales como Chiquita y Del Monte trataron de establecer plantaciones de Cavendish en Indonesia y Malasia, tomando ventaja de su suelo fértil, clima favorable y mano de obra rentable para abastecer los

crecientes mercados del este de Asia y del Oriente Medio. Muchas de estas fincas habían sido originalmente bosques. En apenas dos años después de su establecimiento, estas fincas fueron destruidas severamente por Foc R4T. Se calcula que más de 8 millones de plantas anuales fueron destruidas, por lo que se abandonaron las plantaciones (Nasdir, 2003). En Indonesia el patógeno se dispersó de una isla a otra en el material de plantación acarreado por agricultores (Molina, 2009)

- **Australia.** Foc R4T se identificó en el norte de Australia entre 1997 y 1999 y ha causado afectaciones muy importantes que han limitado la explotación comercial del cultivo (Molina, 2009).
- **China.** Se han identificado más de 65 mil plantas atacadas por la enfermedad y se sigue dispersando a lo largo del río Pearl. En el año 2006, los estudios mostraron que la enfermedad se había dispersado rápidamente e infectado más de 6.700 ha. Foc R4T también ha atacado seriamente las plantaciones de la popular variedad local 'Fenjiao' (ABB, subgrupo Pisang awak). De acuerdo con las investigaciones, la enfermedad se concentra grandemente en plantaciones del delta del río Pearl en la provincia de Guangdong (Molina, 2009)
- **Filipinas.** La enfermedad estaba informada en el país desde los 70. En 2008 se confirmó la presencia de Foc R4T. La incidencia de Foc R4T en las fincas monitoreadas se incrementó de 700 casos en 2005 a 15,000 casos en 2007 (Molina *et al.*, 2008). Las grandes compañías manejan actualmente la enfermedad en este país, siguiendo el protocolo de manejo de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*, basada en la cuarentena, el saneamiento, la desinfección del suelo y el barbecho sin cultivo (Molina, 2009).

Manejo fitosanitario

En países donde la plaga está presente el manejo fitosanitario de Foc R4T ha sido implementado a través de un protocolo similar al utilizado para el manejo de la marchitez bacteriana o Moko causado por *Pseudomonas solanacearum* que implica el mantenimiento más o menos permanentemente de personal dedicado a la detección de la enfermedad, la implementación de medidas de cuarentena y limitaciones de acceso a las áreas, el uso de fumigantes de suelo con eliminación de plantas afectadas y colindantes, y la replantación. La mayoría de estas medidas no son asequibles a agricultores de bajos recursos. Por otro lado, en el caso de Taiwán, los clones con resistencia parcial solo pueden ser utilizados en ciclos de un año a alta densidad por lo que significa la necesidad de tener capital circulante para poder replantar cada año.

La medida más eficiente en el control de la enfermedad es el uso de variedades resistentes. El control químico ha sido inefectivo y aunque se han realizado estudios con alternativas para el uso del control biológico, en la actualidad no se conoce ningún agente de control biológico efectivo para Foc R4T.

El manejo fitosanitario de Foc R4T en las áreas afectadas pasa por la reducción del inóculo vía eliminación de las plantas infectadas y delimitación del área afectada. Adicionalmente, en Taiwán se están plantando somaclones de Cavendish con cierta tolerancia a Foc R4T en un sistema de siembra anual (Molina, comunicación personal).

Como el uso de semilla sana es considerado clave, se debe desarrollar un programa de manejo basado en material libre certificado. Adicionalmente, prácticas que aumenten o mejoren la actividad

microbiológica del suelo deben ser implantadas para brindar más posibilidades a la supresión del patógeno.

Riesgo fitosanitario

Las vías de entrada de Foc R4T a los países del OIRSA son principalmente plantas hospedantes (vivas o muertas) o partes de estas infectadas y suelo procedente de lugares de producción infectados con la plaga (por ejemplo el suelo acarreado por personas que han visitado campos en los que han ocurrido brotes de Foc R4T o el acarreado, como contaminante, en artículos procedentes de estos campos).

Una vez introducida la plaga en uno de los países del OIRSA, la dispersión de ésta a nuevos sitios puede darse por el movimiento de suelo en el transporte terrestre y fluvial entre países desde sitios donde la plaga está presente a sitios libres. Es importante resaltar el riesgo de dispersión de la plaga en material de propagación, pues históricamente este ha sido la principal vía de dispersión de Foc.

La introducción de Foc R4T a los países de la región del OIRSA puede significar la sustitución de genotipos de bananos y plátanos más populares a los consumidores por genotipos de menor aceptación y que eventualmente pueden requerir prácticas de cultivo diferentes.

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN

Métodos de detección e inspección en los puntos de ingreso (puntos fronterizos, puertos, aeropuertos)

En los puntos de ingreso, la inspección debe orientarse a la detección de las vías de la plaga (principalmente plantas hospedantes o partes de las mismas, vivas o muertas, y suelo). Plantas hospedantes con síntomas procedentes de áreas con presencia de Foc R4T, supondrá una probabilidad muy alta de presencia de la plaga, por lo que deberán tomarse medidas de seguridad para su manipulación, tanto de las plantas y medios de crecimiento, como de los recipientes que los contienen, incluyendo al embalaje.

Muestras de suelo y partes de plantas interceptadas podrán enviarse a laboratorios aprobados o autorizados para el diagnóstico de plagas cuarentenarias, bajo medidas de seguridad apropiadas. De estas muestras podrán realizarse aislamientos y comprobaciones morfológicas para determinar si se trata de una especie perteneciente al complejo de *Fusarium oxysporum*. Una vez comprobado esto se someterán a análisis por PCR para determinar la presencia de Foc R4T.

Métodos de detección en el laboratorio

La detección en el laboratorio se realizará procediendo al aislamiento del patógeno a partir de vasos, raíces y suelo (de forma resumida):

- Fracciones de vasos y raíces serán esterilizadas con hipoclorito de sodio al 2% durante 1 min, lavadas tres veces en agua estéril y sembradas en placas de Petri con medio Komada K2 (Su *et al.* 1978), las cuales serán incubadas a 27 °C.
- En el caso del suelo, se procederá a la suspensión de suelo diluida y se sembrará en placas de Petri con medio K2.
- Los aislamientos obtenidos típicos de especies del complejo de *Fusarium oxysporum* serán transferidos a PDA o caldo PDA para la producción de masa micelial.

- Se procederá al aislamiento y purificación del ADN del patógeno y realizar las PCR de acuerdo con el protocolo de Dita *et al.*, (2010) y Dita (2011).

Guías para reconocimiento, encuesta y evaluación de daños (en campo)

Las encuestas se realizan sobre la base de la inspección del 100 % de las plantas del campo y la localización de plantas con síntomas externos e internos, teniendo en cuenta las diferencias ya explicadas con la marchitez bacteriana por *Pseudomonas solanacearum* de amplia distribución en la mayoría de los países de América Latina.

La presencia de síntomas de marchitez por *Fusarium* en plantas del subgrupo Cavendish o plátanos de cocción (AAB), puede constituir de hecho un diagnóstico presuntivo de Foc R4T y debe ser de inmediato notificada para la adopción de medidas de contención y cuarentena hasta la obtención de un diagnóstico final por un laboratorio autorizado o aprobado por la ONPF. En caso de detectar los síntomas en otros clones con susceptibilidad a las razas 1 y 2 de Foc, se procederá a tomar muestras de vasos afectados del rizoma y el pseudotallo y enviarlas a los laboratorios autorizados o aprobados para conducir el diagnóstico y verificar si se trata o no de Foc R4T.

La severidad del brote estará determinada por la cantidad de plantas infectadas en relación al total de plantas evaluadas y la intensidad o severidad de los síntomas internos y externos de acuerdo con el procedimiento establecido en la Guía Técnica No. 6 del INIBAP (Carlier *et al.*, 2006).

MANEJO DEL RIESGO

El manejo del riesgo está determinado por la aplicación de medidas fitosanitarias encaminadas a la prevención del ingreso de Foc R4T a los países miembros del OIRSA y por la aplicación de medidas fitosanitarias de erradicación-confinamiento y supresión-contención en caso de una incursión.

En primer lugar debe de considerarse la absoluta prohibición de la entrada de plantas o partes de plantas y suelo desde sitios con presencia de Foc R4T.

En puntos de ingreso la detección de la presencia de Foc R4T puede realizarse mediante inspección de las plantas con síntomas de marchitez y necrosis de vasos en plantas o partes de plantas y necrosis de rizomas y raíces, las cuales deben ser decomisadas y remitidas a los laboratorios de diagnóstico. Durante la inspección debe verificarse la presencia de síntomas como los descritos en el apartado de esta hoja de datos relativo a síntomas y daños.

De cualquier manera, el procedimiento más seguro, una vez confirmada la presencia de la plaga, de cualquier organismo del complejo Foc o de sus síntomas en plantas hospedantes, es el decomiso del producto vegetal y del material de empaque para proceder a su inmediata destrucción.

Algunas de las medidas de prevención se refieren a:

- Foc R4T debe estar incluida en la lista de plagas cuarentenarias de cada uno de los países y de declaración obligatoria;
- Prohibición del ingreso al país de plantas o partes de plantas musáceas, de otras plantas hospedantes y de otras plantas desde los países donde la plaga esté presente.

Las importaciones de germoplasma de musáceas o de estas plantas con fines de propagación deben de provenir de estaciones cuarentenarias intermedias. Estos materiales deben de estar debidamente indexados y certificados como libres de Foc R4T;

- Campañas de divulgación entre personal que, debido a sus funciones, visiten áreas en países donde Foc R4T esté presente y que incluyan las medidas a tomar después de visitas al campo para prevenir el traslado de suelo o partes de plantas en ropa, zapatos o equipos de trabajo;
- Puesta en práctica de acciones de vigilancia (por ejemplo la realización de encuestas) para la detección temprana de posibles incursiones de Foc R4T;
- Aprobación por las ONPF, de los laboratorios donde se pueda diagnosticar Foc R4T;
- Desarrollo de capacitaciones sobre los síntomas, toma y manipulación de muestras y diagnóstico en caso de existir la logística y equipamiento de laboratorio necesario en el país para la vigilancia de Foc R4T;
- Elaboración y mantenimiento de un registro de expertos nacionales e internacionales que puedan contribuir con el diagnóstico de la enfermedad y el eventual manejo de un brote de Foc R4T;

Algunas de las medidas de manejo de riesgos una vez detectado un brote o incursión se refieren a:

- En el caso de la detección de un caso positivo de marchitez por *Fusarium* en campos de banano Cavendish o de plátanos de cocción AAB, proceder al establecimiento de la cuarentena en el área del brote y delimitación del área controlada, restricción de accesos a personal, equipos y animales y proceder a la toma de muestras para confirmar el diagnóstico de Foc R4T y eliminación de las plantas con síntomas. En caso de plantas pertenecientes a otras variedades se debe esperar a la confirmación del diagnóstico de Foc R4T;
- Recopilación de información sobre el movimiento reciente de personal, equipos, animales partes de plantas o suelo desde y hacia el lugar del brote de Foc R4T;
- Recopilar información epidemiológica y de rastreabilidad para conocer el posible origen del brote de Foc R4T;
- Después de la confirmación del diagnóstico, la erradicación de un brote de Foc R4T se realizará mediante la eliminación de las plantas afectadas y las colindantes en un radio de 7.5 m a partir de la planta afectada. Estas plantas serán eliminadas mediante fuego o mediante la inyección de un herbicida. Las plantas serán cortadas en pedazos de aprox. 60 -80 cm de largo y se extraerán los rizomas y raíces. Se cortarán todas las malezas en el área y se procederá a cubrirlas con una carpa o toldo plásticos para la fumigación con bromuro de metilo (BM) con el objetivo de desinfección del suelo y del material vegetal;
- Todas las herramientas utilizadas en la eliminación de las plantas enfermas y sospechosas serán desinfectadas con un desinfectante apropiado al finalizar el proceso de eliminación, para evitar la dispersión del patógeno por medio de estas herramientas (podrá realizarse una desinfección intermedia de herramientas, entre la eliminación de las plantas enfermas y las sospechosas);

- El área del brote de Foc R4T deberá quedar bajo cuarentena durante año y medio. Se realizarán encuestas periódicas de detección para comprobar que no existen rebrotes y para verificar o declarar la erradicación de la plaga;
- Prohibir cualquier producción en el área que comprenda el movimiento de suelo desde el área del brote o de plantas hospedantes de Foc R4T. El área debe quedar prohibida para cultivos que por sus características tiendan a mover suelo o para el establecimiento de cualquier tipo de viveros;
- En caso de no lograrse la erradicación-confinamiento del brote, proceder a establecer procedimientos de supresión-contención que en esencia contemplan las mismas medidas que para la erradicación, variando solo el radio de las plantas a eliminar ante un caso de Foc R4T y el uso de dazomet granulado en sustitución del BM;

BIBLIOGRAFÍA

- Ashby, S.F. 1913. Banana disease in Jamaica. *Science* 31: 754-755.
- Bancroft, J., 1876. Report of the board appointed to inquire into the cause of disease affecting livestock and plants. Queensland, 1876. *In Votes and Proceedings* (3): 1011-1038.
- Beckman, CH. 1990. Host responses to infection. *In* Ploetz, RC. (ed.) *Fusarium wilt of banana*. Minnesota, US. APS. p 93-105.
- Bentley, S.; Pegg, K.; Dale, JL. 1994. Optimization of RAPD-PCR fingerprinting to analyse genetic variation within populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Phytopathology* 142: 64–78.
- Bentley, S.; Pegg, KG.; Moore, NY.; Davis, RD.; Buddenhagen, IW. 1998. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analysed by DNA fingerprinting. *Phytopathology* 88: 1283–1293.
- Boehm, EWA.; Ploetz, RC.; Kistler, HC. 1994. Statistical analysis of electropherickaryotype variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 7: 196–207.
- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Surrey, UK. CMI. 58 p.
- Brake, VM.; Pegg, Kg., Irwin, J.A.G. And Langdon, P.W. 1990. Vegetative compatibility groups within Australian populations of *F. oxysporum* f. sp. *cubense* the cause of *Fusarium* wilt of banana. *Agricultural Research* 41: 863-870.
- Brandes, EW. 1919. Banana wilt. *Phytopathology* 9: 339-389.
- CABI (CAB International). 2007. *Crop Protection Compendium*. Wallingford, UK.
- Carrier, J.; De Waele, D.; Escalant, J. 2002. Evaluación global de la resistencia de los bananos al marchitamiento por *Fusarium*, enfermedades de las manchas foliares causadas por *Mycosphaerella* y nemátodos. *En* Vezina, A.; Picq, C. (eds.). *Guías Técnicas del INIBAP* no. 6. Montpellier, FR. 67 p.
- Davis, R.; Moore, NY.; Bentley, S.; Gunua, TH.; Rahamma, S. 2000. Further records of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* from New Guinea. *Australasian Plant Pathology* 29: 224.

- Di Pietro, A.; Madrid, M.; Caracuel, Z.; Delgado-Jarana, J.; Roncero, MI. 2003. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology* 4: 321-325.
- Dita, MA.; Waalwijk, C.; Buddenhagen, IW.; Souza, MT.; Kema, GHJ. 2010. A molecular diagnosis for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathology* 59: 348–357.
- Dita, MA. 2011. Corrigendum. *Plant Pathology* 60: 384.
- Fourie, G.; Steenkamp, ET.; Gordon, TR.; Viljoen, A. 2009. Evolutionary relationships among the vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 4770–4781.
- Fourie, G.; Steenkamp, ET.; Ploetz, RC.; Gordon, TR.; Viljoen, A. 2011. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum formae specialis cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution* 11: 533–542.
- Forsyth, L.; Smith, L.; Aitken, E. 2006. Identification and characterization of non- pathogenic *Fusarium oxysporum* capable of increasing and decreasing *Fusarium* wilt severity. *Mycological Research* 110: 929-935.
- Grimbeek, EJ.; Viljoen, A.; Bentley, S. 2001. First occurrence of Panama disease in two banana-growing areas of South Africa. *Plant Disease* 85: 1211.
- Groenewald, S.; Van Den Berg, N.; Marasas, WFO.; Viljoen, A. 2006. The application of high-throughput AFLPs in assessing genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Mycological Research* 110: 297–305.
- Higgins, JE. 1904. The banana in Hawaii. Hawaii, US. Hawaii Agricultural Experiment Station, University of Hawaii. 51 p. (Bulletin No. 7).
- Hennessy, C.; Walduck, G.; Daly, A.; Padovan, A. 2005. Weed hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in northern Australia. *Australasian Plant Pathology* 34: 115-117.
- Hernandez, JM.; Freitas, G.; Ploetz, R.C.; Kendrick, C. 1993. Fusarial wilt of banana in the Canary Islands with some data regarding the Madeira Archipelago. *In* Valmayor, RV.; Hwang, SC.; Ploetz, RC.; Lee SW.; Roa, VN. (eds.). *Proceedings: International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology*. 1992. Pingtung, TW. Taiwan Research Institute. p 247-254.
- Hwang, SC.; Ko, WH. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant Disease* 88: 580-588.
- Katan, K. Di Primo, P. 1999. Current Status of Vegetative Compatibility Groups in *Fusarium oxysporum*: Supplement (1999). *Phytoparasitica* 27(4): 273-277.
- Koenig, R.; Ploetz, RC.; Kistler, HC. 1997. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* consist of a small number of divergent and globally distributed lineages. *Phytopathology* 87: 915-923.
- Lee, YM., Teo, L., Ong, K.P. 2001. *Fusarium* wilt of Cavendish banana and its control in Malaysia. *In* Molina, AB.; Nik Masdek, NH.; Liew, KW. (eds.) *Banana Fusarium wilt management: towards sustainable cultivation*. Laguna, PH. INIBAP. p. 252-259.
- Leslie, JF., 1990. Genetic exchange within sexual and asexual populations in the genus *Fusarium*. *In* Ploetz, RC. ed. *Fusarium wilt of banana*. Minnesota, US. APS. p. 37-48.

- Leslie, JF. 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology* 31: 127-150.
- Leslie, JF.; Summerell, BA. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Iowa, US. Blackwell Publishing. 388 p.
- Li, CY.; Yi, GJ.; Chen, S.; Sun, QM.; Zuo, CW.; Huang, BZ.; Wei, YR.; Huang, YH.; Wu, YL; Xu, LB; Hu, CH. 2011. Studies on some of the early events in the *Fusarium oxysporum*-*Musa* interaction. *Acta Horticulture* 897: 305-312.
- Messiaen, CM.; Cassini R. 1968. Recherches sur les Fusarioses IV: La systématique des *Fusarium*. *Annals Epiphye* 19 (8): 387-454.
- Ministerio de Desarrollo Agropecuario. 2008. Resuelto No. DAL-048-ADM-08 PANAMÁ 18 DE JULIO DE 2008. Panamá, PA. Gaceta Oficial Digital No. 26130.
- Moore, NY.; Pegg, K.; Allen, AR.; Irvin, JAG. 1993. Vegetative compatibility and distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* in *Australia*. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 33 (6) 797 – 802.
- Molina, AB. 2009. Estado de la incidencia en Asia del marchitamiento por Raza 4 tropical de *Fusarium* en el cultivo del banano. In Reunión de Grupos de Interés sobre los Riesgos de la Raza 4 tropical de *Fusarium*, BBTV y otras Plagas de Musáceas, OIRSA (2009, San Salvador, El Salvador). Resúmenes. 71 p.
- Molina, A.; Fabregar, E.; Sinohin, VG.; Herradura, L.; Fourie, G.; Viljoen, A. 2008. Confirmation of tropical race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, infecting cavendish bananas in the Philippines. In Centennial Meeting of the American Phytopathological Society. (2008, Minnesota, US). Abstracts.
- Molina, AB.; Fabregar, EG.; Ramillete, EG. ; Sinohin, VO.; Viljoen, A. 2011. Field resistance of selected banana cultivars against Tropical Race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* in the Philippines. *Phytopathology* 101: S122.
- Nasdir, N. 2003. *Fusarium* wilt race 4 in Indonesia. Research Institute for Fruits west. Sumatra, Indonesia. Abstracts of Papers 2nd. International Symposium on *Fusarium* wilt on banana. PROMUSA-INIBAP/EMBRAPA. Salvador de Bahía, Brazil. 22 - 26 Sept.
- Nel, B.; Steinberg, C.; Labuschagne, N.; Viljoen, A. 2006. Isolation and characterization of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates from the rhizosphere of healthy banana plants. *Plant Pathology* 55: 207–216.
- Nurhadi, M. Rais Harlion. 1994. The disease incidence of bacterial and *Fusarium* wilt disease in Lampung province. *Indonesian Info. Hort.* 2(1): 35-37.
- O'Donnell, K.; Cigelnik, E. 1999. A DNA sequence-based phylogenetic structure for the *Fusarium oxysporum* species complex. *Phytoparasitica* 27: 69.
- O'Neill WT.; Gulino, LM.; Pattison, AB.; Daniells, JW.; Hermanto C.; Molina, A. 2009. Vegetative compatibility group analysis of Indonesian *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* isolates. In Proceedings of the International ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges. Van den Bergh, I. et al. (eds.). *Acta Horticulturae* 897. ISHS 2011.
- Ong, KP. 1996. *Fusarium* wilt of banana in a Cavendish banana in a commercial farm in Malaysia. In *New frontiers in resistance breeding for nematode, Fusarium and sigatoka* (1995, Kuala

- Lumpur, MY). 1996. Proceedings. Frison, EA.; Horry, JP.; De Waele, D. (eds.). Montpellier, FR. INIBAP. 242 p.
- Pegg, KG.; Moore, NY.; Sorensen, S. 1993. *Fusarium* wilt in the Asian Pacific region. In International symposium on recent development in banana cultivation technology. (1993, Los Baños, PH). Abstracts. p. 255-314.
- Pegg KG.; Moore, NY.; Sorensen, S. 1994. Variability in populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* from the Asia/Pacific region. In The Improvement and Testing of Musa: A Global Partnership. Jones, DR. (ed). Proceeding of the First Global Conference of the International Musa Testing Program. HN. INIBAP. Montpellier, FR. p. 70–82.
- Pegg KG.; Moore NY.; Bentley, S. 1996. *Fusarium* wilt of banana in Australia: a review. Australian Journal of Agricultural Research 47: 637-650.
- Pérez-Vicente, L., 2004. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas: an updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent. In ACORBAT (XV, 2004, Oaxaca, MX). Memorias. p. 1-14.
- Pérez-Vicente, L., Battle Viera, A. Chacón Benazet, J. 2003. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en Cuba: biología de las poblaciones, reacción de los clones híbridos de la FHIA y biocontrol. En Taller “Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nemátodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas en los trópicos. (2003, Guayaquil, EC). Rivas, G.; Rosales, F. (eds.). Memorias. p. 141-155.
- Pérez-Vicente, L.; Battle-Viera, A.; Chacón-Benazet, J.; Montenegro-Morasén, V. 2009 Reacción de clones naturales e híbridos de la FHIA de bananos y plátanos a las poblaciones de Cuba de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* agente causal de la marchitez por *Fusarium* o mal de Panamá. *Fitosanidad* 13 (4): 237-242.
- Ploetz, RC. 1990. *Fusarium* Wilt of Banana. Minnesota, US. APS. 139 p.
- Ploetz RC. 2005a. Panama disease: an old nemesis rears its ugly head. Part 1. The beginnings of the banana export trades. Online. Minnesota, US. APS. <http://www.apsnet.org/online/feature/panama/>
- Ploetz, RC. 2005b. Panama disease: an old nemesis rears its ugly head. Part 2: The Cavendish era and beyond. Online. Minnesota, US. APS. <http://www.apsnet.org/online/feature/panama2/default.asp>
- Ploetz RC. 2006. *Fusarium* wilt of Banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Phytopathology* 96: 653-656.
- Ploetz, RC.; Correll, JC. 1988. Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Disease* 72: 325–328.
- Ploetz, RC.; Pegg, KG. 2000. *Fusarium* wilt. In Diseases of Banana, Abaca and Enset. Jones, DR. (ed.). Wallingford, UK. CABI. p 143-159.
- Puhalla, JE. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63: 179-183.
- Qi, P. 2001. Status report of banana *Fusarium* wilt disease in China. In Molina, AB.; Nik Masdek, NH.; Liew, KW. (eds.) Banana *Fusarium* wilt management: towards sustainable cultivation. Laguna, PH. INIBAP. p. 119-120.

- Qi, YX.; Zhang, X.; Pua, JJ.; Xie, YX.; Zhang, HQ.; Huang, SL. 2008. Race 4 identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* from Cavendish cultivars in Hainan province, China. *Australasian Plant Disease Notes* 3: 46-47.
- Smith, EF. 1910. A Cuban banana disease. *Science* 31: 754-755.
- Snyder, WC.; Hansen, HN. 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany* 27: 64-67.
- Stover, RH. 1962. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas and other *Musa* species. Kew, UK. Commonwealth Mycological Institute. 177 p.
- Stover, RH., 1972. Banana, plantain and abaca diseases. Kew, UK. Commonwealth Mycological Institute. 316 p.
- Stover RH.; Waite, BH. 1960. Studies on *Fusarium* wilt of bananas V. Pathogenicity and distribution of *F. oxysporum* f.sp. *cabense* races 1 and 2. *Canadian Journal of Botany* 38: 31-61.
- Su, HJ.; Hwang, SC.; Ko, WH. 1986. *Fusarium* wilt of Cavendish bananas in Taiwan. *Plant Disease* 70: 814-818.
- Summerell, B.; Salleh, B.; Leslie, JF., 2003. An utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. *Plant Disease* 87 (2): 117-128.
- Sun, EJ.; Su, HJ.; Ko, WH. 1978. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* race 4 from soil or host tissue by cultural characters. *Phytopathology* 68: 1672-1673.
- Thangavelu, R.; Mustafa, MM. 2010. First report on the occurrence of a virulent strain of *Fusarium* wilt pathogen (Race-1) infecting Cavendish (AAA) group of bananas in India. *Plant Disease* 94: 1379.
- Waite, BH.; Stover, RH. 1960. Studies on *Fusarium* wilt of bananas. VI. Variability and cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense*. *Canadian Journal of Botany* 38: 985-994..
- Wardlaw, CW. 1972. Banana diseases: including Plantain and Abaca. London, UK. Longman. 878 p.
- Wollenweber, HW.; Reinking, OW. 1935. Die Fusarien. Berlin, DE. Paul Parey. 355 p.

APÉNDICE 2

PROTOCOLO DE DIAGNÓSTICO DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Foc R4T)

1. INFORMACIÓN SOBRE LA PLAGA

La marchitez por *Fusarium* causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (también conocida como mal de Panamá), es una de las más importantes enfermedades de las musáceas en el ámbito mundial. Se han descrito diferentes poblaciones denominadas "razas" en las que se reúnen poblaciones con capacidad de atacar clones particulares. Foc R4T es una plaga especialmente de musáceas (Stover, 1962). Sin embargo, parece tener la capacidad de permanecer en determinadas malezas (Hennessy *et al.* 2005) y posiblemente en otras plantas relacionadas con las musáceas tales como *Heliconia* spp. [esto último es aún motivo de discusión (Pérez Vicente 2004; Fourie *et al.* 2009)].

El hongo presenta características saprófitas (Wardlaw 1972) y puede sobrevivir en el suelo hasta por 30 años mediante estructuras de resistencia (clamidosporas) (Stover, 1962). La germinación de las clamidosporas es inducida por la acción de exudados radicales de plantas susceptibles, e infectan la superficie y la corteza de las raicillas secundarias y terciarias, de donde después el micelio alcanza los vasos del xilema produciendo microconidios. Mediante la degradación de paredes y vasos cribosos, los conidios se mueven a través de la corriente ascendente de savia y colonizan nuevos vasos hasta colonizar la mayor parte del sistema vascular de la planta y eventualmente causar su muerte. Cuando la planta muere, el hongo coloniza el tejido parenquimatoso adyacente a los vasos y produce esporas. A partir de la muerte de los tejidos de la planta también se induce la formación de clamidosporas (esporas de paredes gruesas que pueden sobrevivir en condiciones desfavorables). Tanto las esporas como las clamidosporas pueden dispersarse por diversos medios (agua, viento, suelo contaminado, tejido infectado vivo o muerto), con la diferencia de que las últimas tienen mayor capacidad de sobrevivencia.

La distribución geográfica de Foc R4T aún se considera restringida a la región noroccidental de Oceanía, sur de China y Malasia peninsular. La principal forma de dispersión de la plaga es mediante material de propagación (hijuelos y rizomas infectados); sin embargo, la dispersión por el flujo de aguas superficiales, incluyendo las fluviales, se considera muy eficiente. El viento y la lluvia podrían tener una función importante en la dispersión, especialmente cuando el hongo llega a una plena esporulación sobre el hospedante y sus residuos (Wardlaw 1972).

2. INFORMACIÓN TAXONÓMICA

Nombre:

- *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen (1940) Raza 4 Tropical (Foc R4T) (anamorfo)

Sinónimos:

- *Fusarium cupense* E.F. Sm. (1910)
- *Fusarium* var. *cupense* (E.F. Sm.) Wollenw. (1935)
- *Fusarium cupense* var. *inodoratum* E.W. Brandes (1919)

- Posición taxonómica:

- Dominio: Eucaryota
- Reino: Hongos
- Filum: Ascomycota
- Clase: Ascomycetes
- Subclase: Sordariomycetidae
- Orden: Hypocreales
- Familia: Nectriaceae

3. DETECCIÓN

Foc R4T puede encontrarse tanto dentro de plantas hospedantes o en sus partes como en otros materiales tales como el suelo. En ocasiones, por ejemplo cuando se trate de la detección de la plaga en plantas cultivadas, será necesario tener conocimiento de los síntomas y los signos asociados con este fitopatógeno.

3.1 *Síntomas de la marchitez por Fusarium de los bananos y plátanos*

No hay diferencias en los síntomas que producen las diferentes razas de Foc en *Musa*. Por lo tanto las razas no pueden diferenciarse entre sí con base en los síntomas que provocan. (Stover, 1962; Ploetz, 1990; Ploetz y Pegg, 2000).

Usualmente los síntomas no son visibles en plantas de menos de 4 meses de edad y presentan, por tanto, un largo período de incubación y latencia que hace muy difícil su detección temprana durante su introducción en un nuevo sitio o área. Esto ha determinado su amplia distribución en material de plantación infectado pero asintomático.

La enfermedad se caracteriza por producir dos tipos de síntomas externos: “síndrome” de las hojas amarillas y “síndrome” de las hojas verdes (Stover, 1962; Pérez-Vicente, 2004).

“Síndrome” de hoja amarilla. El síntoma externo más clásico y característico de la marchitez por *Fusarium* o mal de Panamá de los bananos. Se caracteriza inicialmente por la aparición de un amarilleo en los márgenes de las hojas más viejas (este síntoma puede ser inicialmente confundido con la deficiencia de potasio, especialmente en condiciones de seca o frío). El amarilleo de hojas progresa de las hojas más viejas a las más jóvenes (Figura 4A). Las hojas gradualmente colapsan en el peciolo o más comúnmente hacia la base de la nervadura central y cuelgan para formar una “saya o falda” de hojas muertas alrededor del pseudotallo (Figura 4D).

“Síndrome” de hoja verde. En contraste con el síndrome de hoja amarilla, en algunos clones las hojas de las plantas afectadas permanecen predominantemente verdes hasta que los peciolos se doblan y las hojas colapsan (Figura 4C).

En general, las hojas más jóvenes son las últimas en mostrar síntomas y frecuentemente permanecen inusualmente erectas, dándole a la planta una apariencia “erizada”. El crecimiento no cesa en una planta infectada y las hojas que emergen son usualmente de una apariencia más pálida que la de las plantas sanas. La lámina de la hoja emergente puede estar marcadamente reducida, arrugada y distorsionada. En el pseudotallo pueden desarrollarse también en rajaduras longitudinales (Figura 4B). En los frutos no hay evidencias de síntomas.

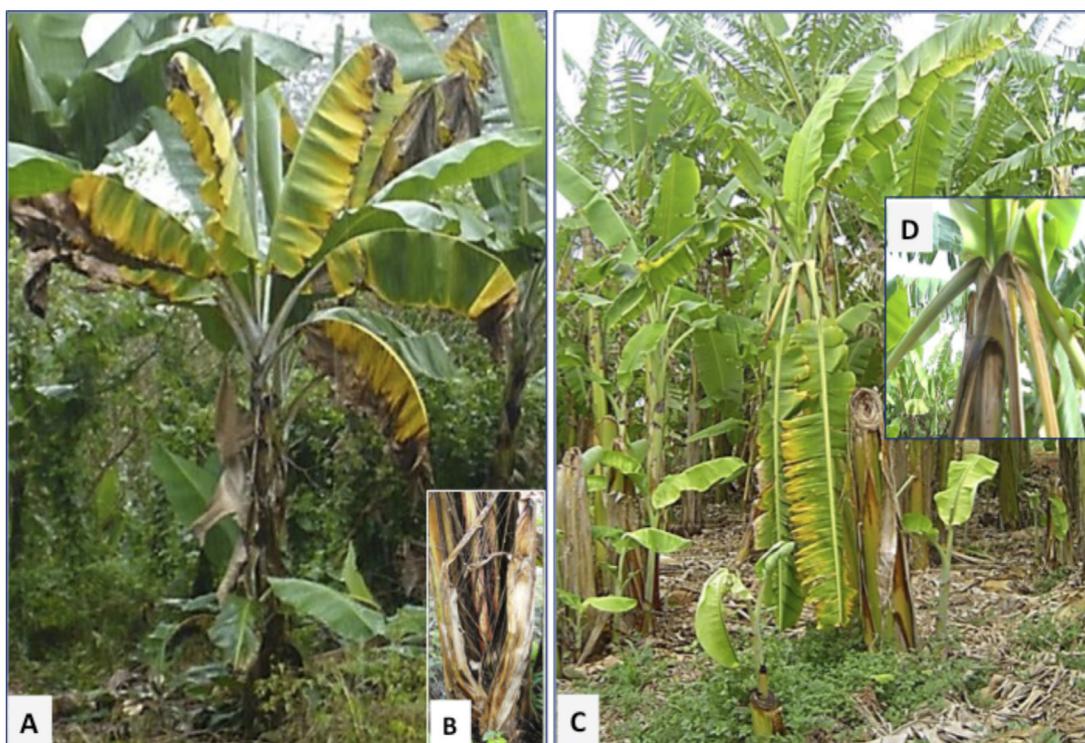


Figura 4. Síntomas externos de la marchitez por *Fusarium* en banano. **A.** Planta mostrando clorosis generalizada en las hojas (“síndrome de la hoja amarilla”) en estado avanzado de la enfermedad. **B.** Rajaduras en la base del pseudotallo. **C.** Planta afectada por la marchitez por *Fusarium* con hojas verdes (“síndrome de la hoja verde”). **D.** Detalles de quiebra de las hojas en la base del peciolo. (Fotos: L. Pérez-Vicente y M. A. Dita.).

Los síntomas internos se caracterizan por una coloración vascular que comienza con el amarilleo del tejido vascular en las raíces y cormos, el cual progresa para formar un haz vascular continuo coloreado de amarillo, rojo o pardo en el pseudotallo, el cual es muy característico de la enfermedad (Figura 5). En clones muy susceptibles pueden observarse haces coloreados en los pecíolos de las hojas.

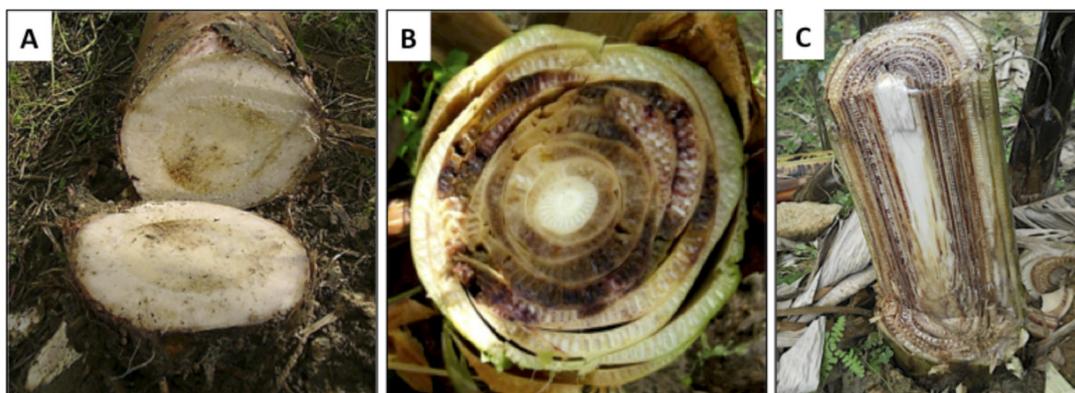


Figura 5. Síntomas internos de la marchitez por *Fusarium* en banano. **A.** Corte transversal en el corno (rizoma) mostrando necrosis de los tejidos. **B.** Corte transversal del pseudotallo mostrando necrosis avanzada del tejido vascular. **C.** Corte longitudinal del pseudotallo mostrando necrosis a lo largo de los haces vasculares. (Fotos: M. A. Dita y L. Pérez-Vicente).

A medida que la planta va muriendo, el hongo va creciendo fuera del xilema (en los tejidos que lo rodean), formando clamidosporas abundantemente, las cuales quedan en los restos de tejidos y en el suelo cuando las plantas se descomponen. Foc también coloniza y persiste en las raíces de hospedantes, incluyendo aquellos relacionados con los bananos y algunas especies de hierbas y malezas, aunque estas últimas pueden permanecer asintomáticas en las condiciones de campo.

En determinados casos, la marchitez por *Fusarium* causada por Foc ha sido confundida con la marchitez bacteriana (Moko) causada por *Ralstonia solanacearum* raza 2. Estas enfermedades pueden diferenciarse por los siguientes criterios:

- Marchitez por *Fusarium*. Los síntomas progresan de las hojas más viejas a las más jóvenes. En la marchitez bacteriana o Moko, los síntomas progresan usualmente de las hojas más jóvenes a las más viejas.
- En la marchitez bacteriana las yemas jóvenes que emergen del rizoma muestran distorsiones y pudrición pudiendo morir. En el caso de la marchitez por *Fusarium* no se observan síntomas en los hijos jóvenes en crecimiento.
- En el caso del Moko se observan exudaciones de la bacteria en todos los tejidos que se cortan (raíces, pseudotallos, raquis, flores y rizoma, etc.). En el caso de la marchitez por *Fusarium* no hay exudaciones.
- En el Moko hay necrosis y pudrición interna de los frutos, mientras que en la marchitez por *Fusarium* no se observan síntomas en los frutos.

3.2 Signos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Las razas y *formae speciales* del complejo *Fusarium oxysporum* no pueden ser distinguidas morfológicamente entre sí (Snyder y Hansen, 1940; Messiaen y Cassini, 1968; Booth, 1972; Leslie y Summerell, 2006). La *forma specialis* designada como *cubense* es aplicada solamente sobre la evidencia de pruebas de patogenicidad en musáceas.

El hongo, produce macro y micro conidios en estructuras llamadas esporodoquios de color naranja. Los macroconidios son abundantes falcados a casi rectos, de paredes delgadas, con tres a cinco septos (usualmente de tres septos) y miden 27 - 55 x 3.3 - 5.5 μm (Figura 6A). La célula apical es usualmente atenuada o en forma de gancho en algunos aislamientos. Las células basales son de forma de pie. Los macroconidios se forman de monofiálides o en esporodoquios ramificados y en menor extensión, desde monofiálides en hifas (Figura 6A). Los microconidios (5-16 x 2.4-3.5 μm), usualmente sin septos, pueden ser ovales, elípticos o reniformes y se forman abundantemente en falsas cabezas en monofiálides cortas (Figura 6B y 6C). Las clamidosporas (7-11 μm de diámetro), son formadas abundantemente en hifas o en conidios, aisladas o en cadenas, usualmente en pares, pero su formación puede ser más lenta en algunos aislamientos (Figura 6D).

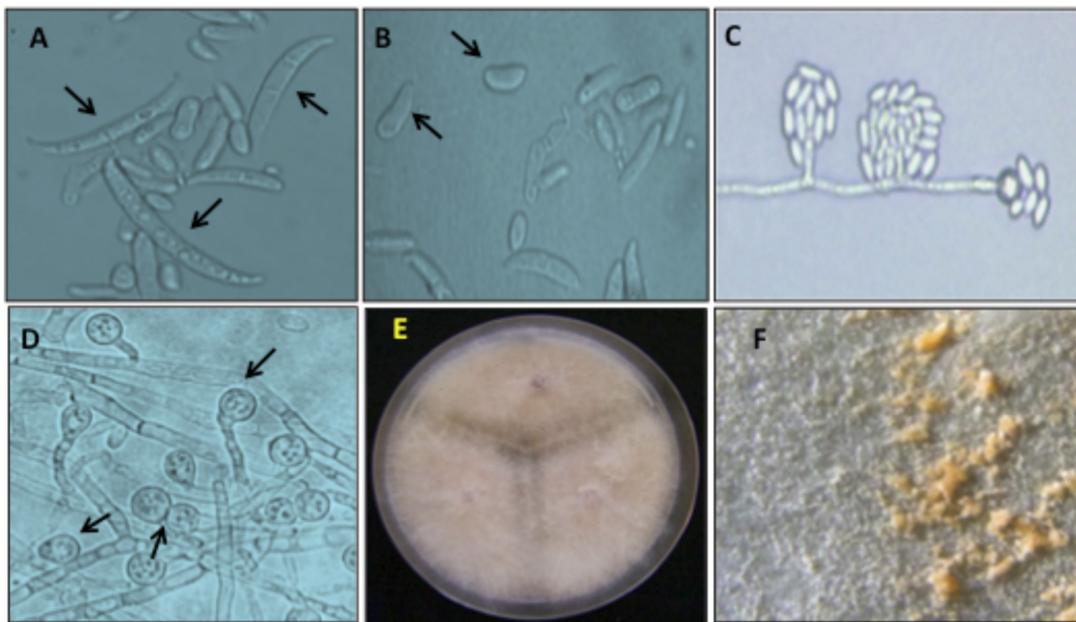


Figura 6. Estructuras reproductivas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **A.** Macroconidios (Poseen longitud 27 - 55 x 3.3 - 5.5 μm , 4 - 8 células, forma de hoz, con células basales en forma de pie). **B.** Microconidios (Poseen longitud de 5 - 16 x 2.4 - 3.5 μm , 1 o 2 células, ovales en forma de riñón). **C.** Fialides y microconidios agrupados en falsas cabezas. **D.** Clamidosporas (Poseen de 7 - 11 μm diámetro, usualmente globosas formadas individuales o en cadenas). **E.** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical en medio de cultivo PDA. **F.** Esporodoquios de color naranja formados en la superficie medio de cultivo PDA. (Fotos: M.A. Dita y L. Pérez-Vicente).

En medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar) las colonias son de morfología variable. El micelio puede ser velludo, esparcido, o abundante y de color blanco con tonos variables de salmón a violeta pálido (Figura 6E). Pueden producirse esclerocios de color negro a violeta en algunos aislamientos. *Fusarium oxysporum* produce usualmente pigmentos de color violeta pálido a rojo

oscuro en medio del cultivo PDA, aunque algunos aislados no producen pigmentos (Stover, 1962; Ploetz, 1990; Pérez-Vicente *et al.*, 2003). Algunos aislados mutan rápidamente de la forma pionotal (con abundancia de agregados de conidios de aspecto grasiento o brillantes) a un micelio plano húmedo de color blanco-amarillo pálido a melocotón en medio de cultivo PDA (Stover, 1962; Ploetz, 1990). En cultivos viejos y o en restos de plantas, el hongo puede producir esporodoquios de color naranja (Figura 6F).

En medio Komada modificado (K2) son lacinadas, mientras que las de las razas 1 y 2 no forman lacinias (Sun *et al.*, 1978). Sin embargo, estas características no son determinantes para el diagnóstico de Foc R4T.

3.3 Metodología para la recolección de muestras de tejidos de plantas de bananos y plátanos afectadas de marchitez por Fusarium

3.3.1. Toma de muestras de plantas enfermas

- a) Las muestras deben consistir en fragmentos de pseudotallos con necrosis interna que indican la infección del patógeno. No es necesario recolectar grandes cantidades de tejidos (Figura 4).
- b) Realice un corte en el pseudotallo aproximadamente a 50 cm de la base de la planta (Figura 7A, 7B y 7C). Evite áreas donde exista descomposición avanzada.
- c) Coloque el fragmento de pseudotallo cortado (Figura 7C) en una superficie cubierta evitando el contacto con el suelo, retire pedazos de tejidos con necrosis interna y colóquelas en un recipiente apropiado (Figura 7D). Alternativamente, puede hacerse la disección de los haces vasculares necrosados (Figura 7E) y colocarlos en los recipientes.
- d) Tome notas precisas de cada muestra tales como:
 - Número de la muestra (si se toman varias muestras de la misma planta éstas deben ser bien identificadas);
 - Fecha;
 - Nombre de la variedad de la planta hospedante, incluyendo los nombres locales (y usos si se conoce);
 - Constitución genómica del hospedante (ej. AA, AAB, etc.). Esto no es tan importante como una identificación precisa de la variedad;
 - Especifique si la planta muestreada está en un jardín, patio, plantación comercial, o está en una situación silvestre;
 - Localidad (ej. nombre de la provincia o estado, cuán lejos o dirección de la ciudad más cercana, nombre de la carretera, nombre de la propiedad si es de una plantación comercial, etc.). Especificar si es un pueblo o comunidad;
 - Nombre del recolector;
 - Otras observaciones útiles como la fuente del material de plantación, si es de suelos inundados, cuántas plantas hay afectadas, qué otras variedades crecen en los alrededores y si están enfermas o sanas también deben ser registradas.

- e) Una vez colectadas las muestras, coloque el fragmento de pseudotallo inicialmente retirado en la posición original y cubra el área con cinta adhesiva (Figura 7F y 7G). Esta operación busca no dejar expuestos tejidos de las plantas muestreadas para evitar o reducir la esporulación del patógeno, el contacto de insectos u otros animales, así como la exposición a la lluvia y el viento.

NOTA: En caso de que no se visualicen síntomas en el pseudotallo, puede ser recolectado un pedazo de tejido de rizoma pequeño (5 cm x 5cm) que muestre necrosis vascular. Esto no se recomienda si la pudrición en el rizoma está avanzada. Este pedazo de tejido rizoma debe ser también colocado en recipiente apropiado. No permita que las muestras colectadas se calienten a una temperatura muy alta (ej. a la luz directa del sol o en el maletero de un carro), porque estas condiciones reducen el éxito en los aislamientos posteriores. No seque las muestras en un horno o estufa de secado.

Utensilios necesarios:

- Guantes quirúrgicos
- Machetes y cuchillas
- Paños de plástico para procesar las muestras
- Tubos o recipientes con sus respectivas tapas para recolectas de muestras
- Sobres de papel
- Papel
- Marcadores

3.3.2 Disección de los haces vasculares de la muestra (Moore et al., 1995; Carlier et al., 2002)

- Diseccione los haces vasculares necrosados de la muestra en el mismo día en que esta es colectada, o tan pronto como sea posible, después de la recolección. Se recomienda el uso de papel de filtro estéril y de una técnica aséptica para la disección de los haces vasculares afectados de la muestra;
- Esterilice la superficie de la muestra primero sumergiéndola en alcohol al 70%. Cuando se estén procesando diferentes muestras utilice un papel de filtro diferente para cada muestra y las hojas de los escalpelos y las pinzas deben ser flameadas o al menos sumergidas en alcohol entre muestras diferentes;
- Coloque los haces extraídos en papel de filtro estéril en un papel de envolver para que se sequen de forma natural. Usualmente, en condiciones de temperatura ambiente, 2 ó 3 horas son suficientes.
- Coloque las muestras en sobres de papel manila o en una envoltura de papel.

Las muestras no necesitan ser mantenidas en el refrigerador. La temperatura ambiente de laboratorios es suficiente. No es necesario humedecer el papel de envoltura. El uso de papel seco es más adecuado.

Utensilios, reactivos y materiales necesarios

- Papel de filtro estéril
- Placas de Petri de 20 cm
- Sobres de papel
- Escalpelos
- Pinzas
- Alcohol al 70%
- Tijeras

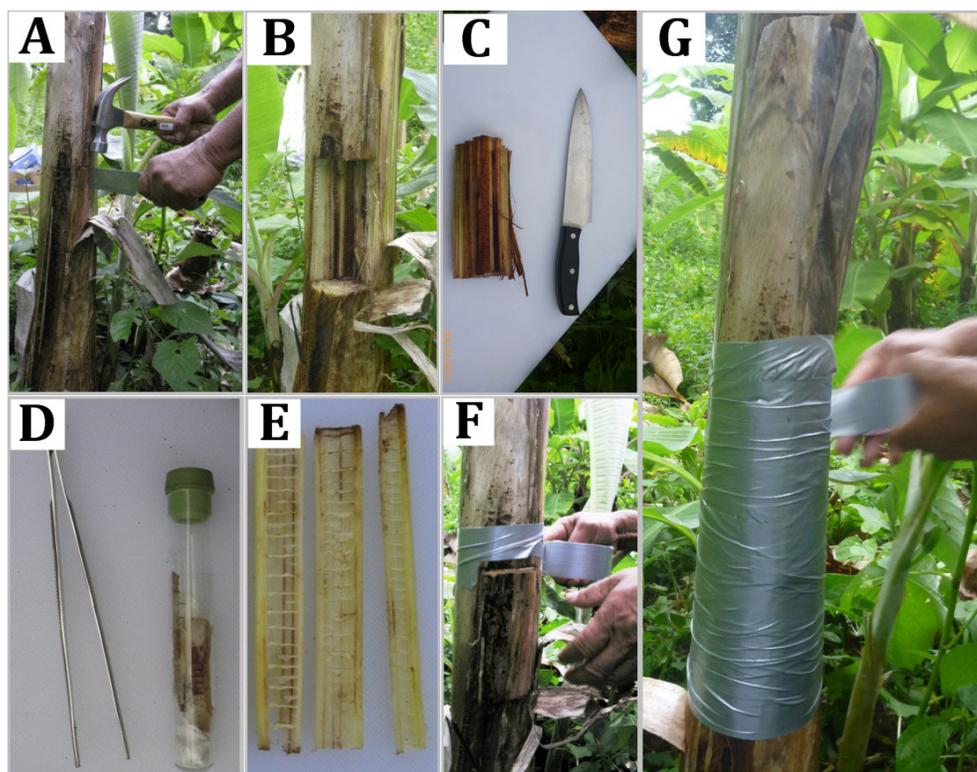


Figura 7. Procedimiento para la recolección de muestras de tejidos de plantas de musáceas sospechosas de estar afectadas por la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en áreas libres de la plaga. **A y B** Corte de un fragmento del pseudotallo. **C** Vista del fragmento del pseudotallo cortado mostrando los haces vasculares necrosados. **D.** Fragmentos de tejido afectados dentro de frasco cerrado herméticamente listo para ser enviado al laboratorio. **E.** Haces vasculares del pseudotallo diseccionados mostrando la necrosis ocasionada por el patógeno. **F y G.** Planta muestreada con la reposición del fragmento cortado en el lugar original y cubierto con cinta adhesiva para evitar la exposición de los tejidos y de los exudados al ambiente. (Procedimiento y fotos por P. E. Echegoyén).

3.3.3 Envío de muestras por correo

Si se requiere enviar las muestras por correo para aislamiento y análisis, envíelas en papel de sobre tan pronto como estén lo suficientemente secas, con el número de la muestra y los detalles bien claros para cada muestra. Incluya una copia del permiso de importación en el caso de

muestras internacionales dentro del paquete y certifique que todas las medidas de bioseguridad fueron estrictamente atendidas.

NOTA: Si hay alguna posibilidad de que las muestras estuvieran mezcladas o los detalles de algunas muestras se confundieran o no hay seguridad de que estuviesen correctos, éstas deben destruirse por incineración, autoclavado u otra medida que garantice la total destrucción de las estructuras del patógeno.

3.4 Metodología para el aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* a partir de muestras de tejidos de bananos y plátanos afectados de marchitez por *Fusarium* y muestras de suelo

3.4.1 Aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* a partir de haces vasculares afectados

- a) El aislamiento puede iniciar cuando los haces se hayan secado.
- b) Sumerja pequeñas secciones (3-6 mm de largo) de los haces vasculares afectados en placas con agar de papa dextrosa (PDA) al cual se le adiciona un agente antibacteriano (ej. sulfato de estreptomicina 100µg/L de PDA). Pueden también realizarse los aislamientos en medio Komada modificado K2.
- c) Si está presente, *Fusarium* crecerá en medio de cultivo a partir de los fragmentos de tejido en 2-4 días.
- d) Si la muestra está muy contaminada con bacterias esto puede enmascarar el crecimiento de Foc. Deje que las muestras se sequen más si esto ocurre, e incremente la concentración del agente antibacteriano. (ej. el sulfato de estreptomicina) en el medio de cultivo.
- e) De las muestras preparadas correctamente debe esperarse un alto índice de crecimiento de *Fusarium*. Pase fragmentos de micelio a otra placa con medio de cultivo PDA para su purificación.
- f) Una vez purificadas las colonias, prepare cultivos monoconidiales de cada muestra.

En la Figura 8 aparece un esquema de los procedimientos para el aislamiento de Foc a partir de haces vasculares afectados de plantas enfermas el cual es complementado de manera ilustrativa con un ejemplo real con Foc R4T en la Figura 9.

3.4.2 Aislamiento a partir de muestras de suelo

- a) Colecte una muestra de suelo entre los primeros 25 cm de profundidad almacénelos en bolsas de papel.
- b) Secar el suelo (en condiciones las más asépticas posibles) por 24 a 48 horas al aire libre;
- c) Triturar las partículas grandes mediante macerado en un mortero;
- d) Haga una suspensión de suelo agua destilada estéril 1:50 peso suelo/volumen de agua. (Si resulta muy concentrada por tener una alta población de *Fusarium* posteriormente

puede hacerse 1:100). Agítela para permitir el mejor desprendimiento y distribución de las partículas de suelo y estructuras del hongo;

- e) Diluya 1 ml de esta suspensión en placas de Petri de 10 cm conteniendo medio K2 modificado a temperatura aproximada a la fusión para lograr una buena dispersión de la suspensión de suelo en el medio de cultivo. Alternativamente, también puede distribuirse 1 ml de la suspensión de suelo en la superficie de la placa con medio de cultivo K2 ya solidificado. Distribuya la suspensión lo más uniforme posible en la superficie de la placa, dejándola reposar por dos minutos.
- f) Incubar las placas a 27°C hasta que las colonias de *Fusarium* sean claramente visibles.
- g) Transfiera las colonias con características similares a *Fusarium* para nuevas placas con medio de cultivo PDA. Una vez purificadas las colonias se procede a la obtención de aislamientos monoconidiales.

1. Aislamiento del material de plantas

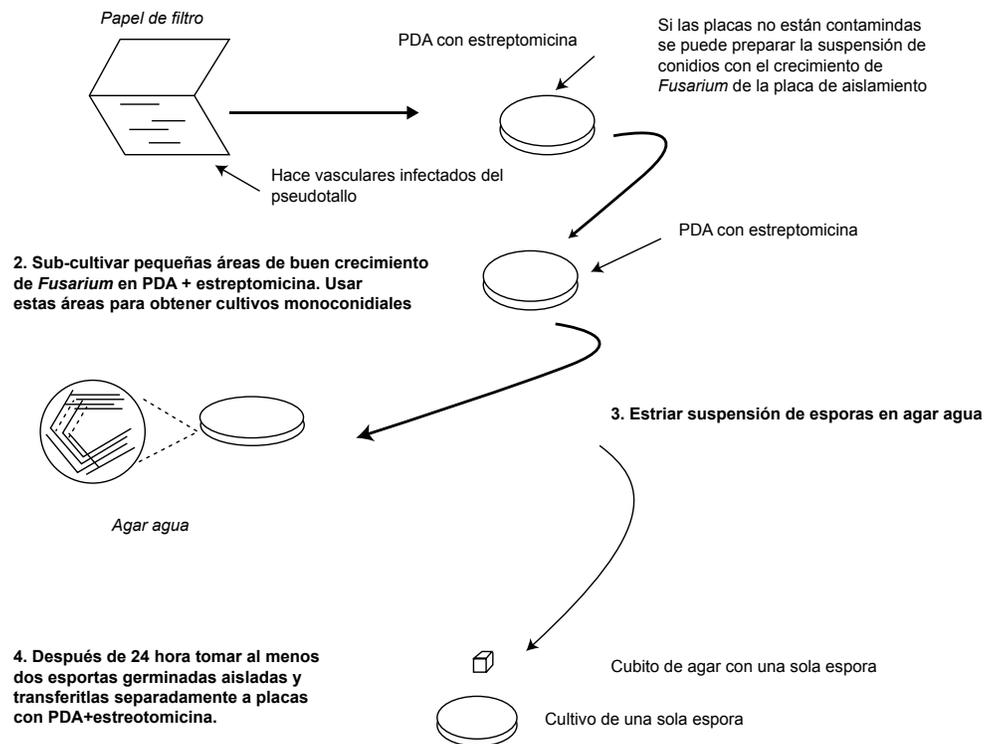


Figura 8. Protocolo de aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

3.4.3 Aislamientos monoconidiales o monospóricos

Los aislamientos **monoconidiales** de Foc pueden ser obtenidos indistintamente por el método de dilución en placas o estriando en placas (demostrado más adelante). Para ambos métodos:

- a) Colecte una pequeña muestra de hifas esporuladas de cultivos crecidos en placas con medio de cultivo PDA y disuélvala en 10 ml de agua destilada estéril en tubos de ensayo.
- b) De la suspensión de esporas inicial, deben ser preparadas diluciones seriadas. Pipetee o estríe 1 ml de cada una de las series de diluciones en agar-agua;



Figura 9. Diagrama representativo del proceso de aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* a partir de muestras de pseudotallo afectados. (Fotos: M.A Dita)

- c) Incube las placas por 12-24 horas a 25 °C.
- d) Revise las placas a la mañana siguiente para localizar conidios germinados bajo un microscopio de disección y transfiera conidios aislados del agua-agar con un escalpelo esterilizado a placas nuevas con medio de cultivo PDA.

Alternativamente, pueden obtenerse cultivos monoconidiales diseccionando la punta de una única hifa en crecimiento de un cultivo crecido durante 10 días en medio de cultivo de agar con hojas de clavel (CLA – *Carnation Leaf agar*).

3.5 Medios de cultivo para el aislamiento y cultivo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

3.5.1 Medio Papa Dextrosa Agar un cuarto de riqueza (PDA ¼)

Este medio puede ser adquirido formulado por diferentes firmas comerciales. Alternativamente puede ser preparado en el laboratorio siguiendo los siguientes procedimientos:

Ingredientes por litro de agua destilada:

Papas peladas y cortadas	200 g
Dextrosa	10 g
Agar.	20 g

Método. Cocine al vapor las papas en el agua destilada por una hora y entonces filtre por 8 capas de gasa. Descarte la porción sólida. Añada la dextrosa y el agar a la porción líquida, escúrrala bien y retórnala al calor hasta que el agar se disuelva (aprox. 40-50 min.). Retire el medio del calor y dispénselo inmediatamente en un autoclave (ciclo húmedo 100 kPa a 121 °C por 20 min.) Cuando esté fresco, apretar las tapas y marcar las botellas con PDA y la fecha.

3.5.2 Medio de cultivo PDA suplementado con estreptomycinina

Fundir en un baño de María el PDA del número requerido de botellas de 240 ml. Cuando el medio esté fundido, colocar las botellas en baño de agua a 50 °C por 20 min., o hasta que el medio

alcance los 50 °C. Para cada 100 ml de medio, añadir 1 ml de solución de estreptomicina al 1% (1g de sulfato de estreptomicina en polvo por 100 ml de agua destilada estéril) justo antes de dispensar el medio en las placas Petri.

Nota: En medio PDA las colonias usualmente desarrollan un micelio algodonoso blanco con tonos que varían al salmón claro, rosa y púrpura sucio. Con la edad, las colonias desarrollan macroconidios que se presentan aislados y agrupados en esporoquios (Figura 6F). Algunas colonias desarrollan pionnotes que son masas de esporas de aspecto grasiento brillantes.

3.5.3 Medio Komada modificado (K2) (Sun, et. al., 1978)

Ingredientes para 900 ml de agua destilada:

D-Galactosa	10.0 g
L-Asparagina	2.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
KCl	0.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
FeNa EDTA	10.0 mg
Agar	20.0 g
H ₂ O destilada	900 ml

Se esteriliza a 120°C durante 20 min. Se ajusta el pH a 3.8 con ácido fosfórico al 10%. Se le añade, a una temperatura aproximada de 50°C, 100 ml de una solución esterilizada por filtración con:

Sulfato de estreptomicina	0.3 g
Oxgall	0.5 g
Na ₂ B ₄ O ₇	0.5 g
PCNB (75% PH)	0.9 g

Nota: En medio Komada se deben desarrollar colonias típicas a las descritas y exhibidas en las figuras 1 y 5. De estas colonias y en las transferidas a PDA y medio SNA, se desarrollan fialides y microconidios con las dimensiones descritas previamente, los cuales aparecen agrupados en falsas cabezas en el extremo de las fialides (Figura 6A, 6B y 6C).

3.5.4 Medio de cultivo Agar Spezieller Nährstoffarmer -SNA (Leslie y Summerell, 2006)

KH ₂ PO ₄	1 g
KNO ₃	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.5 g
Glucosa	0.2 g
Sacarosa	0.2 g
H ₂ O destilada	1l.

Nota: Este medio de cultivo es apropiado para producir microconidios de forma estable y para la producción de clamidosporas.

Equipos, reactivos y materiales necesarios

Cabina de flujo laminar	Sacarosa
Incubadora	Sulfato de estreptomicina
Autoclave	D-Galactosa
Destilador de agua	L-Asparagina
Estufa	KH ₂ PO ₄
Estereoscopio binocular	KCl
Microscopio óptico	KNO ₃
Erlenmeyers	MgSO ₄ •7H ₂ O
Placas de Petri	FeNa EDTA
Mangos y agujas	Na ₂ B ₄ O ₇
Agujas y pinzas de disección	PCNB (75% PH)
Portaobjetos y cubreobjetos	H ₂ O destilada
Agar	Papel de filtro Whatman #1.
Agar papa dextrosa	Glucosa

3.6 Métodos de almacenamiento de cultivos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Existen diversos métodos para conservar aislados de *Fusarium* (Booth, 1972; Fischer *et al.*, 1982; Burgess *et al.*, 1988; Leslie y Summeret, 2006). En teoría, cualquier método utilizado para conservar hifomicetos debe funcionar para Foc. En este protocolo se describen tres métodos que son los más utilizados y prácticos.

3.6.1 Almacenamiento en papel de filtro

- Se colocan fragmentos (0.5 cm x 2.5 cm) o discos (2 cm de diámetro) de papel de filtro Whatman #1 en placas de Petri de vidrio los que son posteriormente esterilizados en autoclave.
- Los fragmentos de papel estéril son colocados asépticamente en medio de cultivo PDA ¼ de riqueza en placas de Petri.
- Los aislados que serán almacenados son previamente cultivados en medio de cultivo PDA a 25 °C por 7 – 10 días.
- Se colocan discos de micelio de los aislados (3 mm de diámetro) en papel de filtro estéril y se dejan crecer por 7-10 días en las placas de Petri con papel de filtro hasta que el micelio cubra completamente el papel de filtro.
- El papel de filtro con el crecimiento fúngico se retira del interior de la placa de Petri agar, y se dejan secar por 1 día en condiciones asépticas.
- Posteriormente los fragmentos son colocados en crioviales etiquetados con el número del aislado y la fecha y se almacenan a 5°C hasta su uso.

Período recomendado de almacenamiento: 3 meses-1 año.

3.6.2 Congelamiento profundo

- a) Se prepara primeramente una solución stock de glicerol (15%) y se esteriliza con autoclave.
- b) Los aislados que serán almacenados se cultivan previamente por 7-10 días en medio de cultivo PDA (¼ fortaleza) a 25°C.
- c) Se pipetea entonces 10 ml del glicerol al 15 % sobre el crecimiento fungoso en una placa Petri en un gabinete de flujo laminar. Las esporas y algunas hifas son desprendidas cuidadosamente con un escalpelo esterilizado y frío.
- d) Se pipetea alícuotas de 1ml en viales de 2 ml
- e) Cada uno de los crioviales son marcados cuidadosamente antes de ser conservados en cajas de crio-conservación y almacenados a -80°C.
- f) Cuando el aislado necesita ser recobrado, se raspan pequeñas cantidades de la suspensión congelada del criovial con un escalpelo y se colocan en un medio de cultivo.

3.6.3 Almacenamiento en suelo

- a) El suelo es primeramente esterilizado (se recomienda esterilizar dos veces) en pequeños recipientes (Erlenmeyer o tubos);
- b) Los cultivos son previamente cultivados en placas con medio de cultivo PDA ¼ por 7-10 días;
- c) Se vierte agua destilada (20 ml) sobre cada cultivo en un gabinete de flujo laminar y las esporas son desprendidas suavemente con un escalpelo esterilizado;
- d) Se pipetea 10 ml de una suspensión de esporas de las placas Petri y transfieren asépticamente al suelo en los recipientes;
- e) Los recipientes son etiquetados claramente con el número del aislado, fecha y otros datos de interés y se almacenan a temperatura ambiente;
- f) El aislado es recobrado colocando una pequeña cantidad de suelo en el medio de cultivo PDA o K2.

Período recomendado de almacenamiento: Hasta 5 años.

Equipos, reactivos y materiales necesarios para el almacenamiento en suelo

Erlenmeyers de 250 ml	Cajas para viales de crioconservación
Erlenmeyers de 500 ml	Desecadora
Mangos y agujas para microcultivo	Congelador de -80°C
Tubos de cultivo de vidrio de 10 x 150 mm	Papel de filtro Whatman #1 estéril
Pipetas graduadas de vidrio de 10 ml	Agar de papa dextrosa
Pipetas graduadas de 5mL	Glicerol
Viales de crioconservación	Frascos de vidrio de 50 ml

4. IDENTIFICACIÓN

4.1 *Protocolos para la extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) de Fusarium oxysporum f. sp. cubense*

Para el estudio de la variabilidad genética o el diagnóstico mediante métodos moleculares de Foc, es imprescindible contar con ADN (ácido desoxirribonucleico) de calidad. Existen innumerables protocolos y kits que pueden ser utilizados para la extracción de ADN de Foc. Estos protocolos bien utilizados no deberían causar problemas para el uso del diagnóstico molecular de Foc. A continuación se detallan algunos protocolos de extracción de ADN empleados en estudios de *Fusarium oxysporum*

4.1.1 Protocolo de extracción utilizado por Bentley *et al.* (1998)

Reactivos y soluciones

Fenol (almacenado a 4°C)
Cloroformo (almacenado a -20°)
Acetato de sodio (pH 5.4) 3M
Etanol (glacial) 100%
Etanol 70%
TE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0)
<u>Buffer de extracción</u>
○ Dodecilsulfato sódico (SDS) 2%
○ EDTA 40mM
○ NaCl 40mM
○ Tris-HCl (pH 8.0) 100mM
○ Ácido dietilditiocarbámico 25mM

Nota: El buffer de extracción debe almacenarse a 4°C pero debe estar a temperatura ambiente antes de usarse (el SDS debe estar completamente disuelto antes de usarse).

Operaciones preliminares

- i. Cultivar los aislados de *Fusarium oxysporum* a partir de cultivos monospóricos, crecidos en PDA (¼ de riqueza) por 3-5 días, transferir 3-4 discos de micelio (0.5 cm) a un erlenmeyer de 200 ml con medio de cultivo de caldo papa dextrosa e incubar por 4-5 días a temperatura ambiente.
- ii. Filtrar el cultivo y almacenar el micelio filtrado a -20°C hasta que se vaya a realizar la extracción de ADN. Liofilizar y almacenar a -70°C para conservar por largos períodos de tiempo.

Método

- a. Macerar el micelio en nitrógeno líquido con ayuda de un mortero hasta obtener un polvo fino;
- b. Transferir el micelio macerado a tubos de 2 ml rotulados con el nombre de la muestra, llene los tubos (0.8 g).

- c. Adicione 1 ml del buffer de extracción. Mezclar hasta que el micelio macerado quede completamente humedecido por el buffer de extracción.
- d. Incubar a 37°C (baño de María) por 2 horas.
- e. Adicione 1 ml (1 vol.) de fenol y centrifugue a 14000 rpm por 30 minutos a 4°C.
- f. Cuidadosamente, transferir el sobrenadante a tubo nuevo y repita el paso e.
- g. Transfiera el sobrenadante a tubo nuevo y adicione 1 ml (1 vol.) de cloroformo frío.
- h. Centrifugue a 14000 rpm por 15 minutos a 4°C.
- i. Transferir el sobrenadante a tubo nuevo y adicione 1.2 ml (2 vol.) de etanol absoluto glacial y 60µl (0.1 vol.) de acetato de sodio 3 M. Incubar a 20°C por 2 horas o por toda la noche (durante una noche).
- j. Precipitar el ADN por centrifugación a 14000 rpm por 30 minutos a 4°C.
- k. Lavar el precipitado (*pellet*) con etanol 70% por 10 min.
- l. Centrifugue a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C.
- m. Secar el precipitado
- n. Resuspender el precipitado en 500µl de buffer TE, durante una noche.
- o. La calidad del ADN extraído se verifica por electroforesis en gel de agarosa

4.1.2 Protocolo de extracción utilizado por Groenewald et al., (2006)

Este protocolo constituye una modificación del protocolo descrito por Raeder y Broda (1985) y fue empleado por Groenewald *et al.* (2006), en el estudio de la diversidad genética en poblaciones de Foc mediante AFLP.

Reactivos y soluciones

Fenol-Cloroformo (1:1; v:v)	
Acetato de sodio (pH 5.4) 3M (NaAc o NaHCO ₃)	
Etanol absoluto (glacial)	
Etanol 70%	
<i>Buffer de extracción</i>	
Dodecilsulfato sódico (SDS)	0.5%
EDTA pH-8	25mM
NaCl	50mM
Tris-HCl (pH 8.0)	200mM

Operaciones preliminares

- a) Cultivar el aislado de Foc en Agar Papa Dextrosa mitad de riqueza (*half strength potato dextrose agar*) por 5-7 días.
- b) Preparar el buffer de extracción

Método

- a. Raspar micelio y transferir a tubo de 1.5 ml.
- b. Adicionar 300 µl de buffer de extracción. El micelio es homogenizado con el empleo de un micropistilo
- c. Congelar los tubos en nitrógeno líquido y posteriormente incubarlos 5 minutos en agua hirviendo.
- d. Adicionar 300 µl de una solución de fenol-cloroformo (1:1). Mezclar por inversión del tubo.
- e. Centrifugar a 14000 rpm por 7 minutos a 4°C.
- f. Transferir fase superior acuosa a tubo nuevo.
- g. Adicionar 0.1 volumen de una solución de NaAc 3 M y 2 volúmenes de etanol absoluto glacial. Mezclar invirtiendo el tubo 5 veces.
- h. Centrifugar a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C.
- i. Lavar con etanol 70%.
- j. Centrifugar a 12000 rpm por 5 minutos a 4°C.
- k. Decantar el sobrenadante con cuidado para no perder el precipitado.
- l. Secar el precipitado.
- m. Resuspender en 200 µl de agua.

Nota: debe realizarse un tratamiento con RNAsa

La calidad del ADN extraído se verifica por electroforesis en gel de agarosa

4.1.3 Protocolo de extracción utilizando el kit de extracción “Wizard Genomic DNA Purification” de Promega

Este protocolo es para extraer ADN con el empleo del kit “Wizard Genomic DNA purification” de Promega (www.promega.com).

- a. Macerar con nitrógeno líquido 0.8 g de la muestra. Pasar a tubos de 1,5 ml.
- b. Adicionar 600 µl de la solución de lisis de ácido nucleico. Agitar con vórtex 3 seg.
- c. Incubar a 65°C por 15 min.
- d. Añadir 3µl de RNAsa, invertir tubo de 3-5 veces, incubar a 37°C por 15 min. Dejar la muestra 5 min a temperatura ambiente antes de proseguir.
- e. Adicionar 200 µl de la solución de precipitación de proteínas. Agitar con vórtex vigorosamente a alta velocidad por 20 seg.
- f. Centrifugar por 3 minutos a 13000-16000 rpm.
- g. Transferir el sobrenadante a tubo limpio. Añadir 600 µl de isopropanol.
- h. Mezclar, por inversión de los tubos, la solución hasta que precipite el ADN.

- i. Centrifugar por 1 minuto a 13000-16000 rpm.
- j. Cuidadosamente botar el sobrenadante. Añadir 600 µl de etanol 70% e invertir el tubo varias veces para lavar el precipitado. Centrifugar por 1 min. a 13000-16000 rpm.
- k. Cuidadosamente extraer el etanol. Secar el precipitado.
- l. Adicionar 30 µl de la solución de rehidratación del ADN. Incubar la solución una noche a temperatura ambiente o a 4°C.
- m. La calidad del ADN extraído se verifica por electroforesis en gel de agarosa.
- n. Guardar el ADN extraído a -20°C.

Para mayores informaciones sobre este método consulte los manuales en: <http://www.promega.com/resources/protocols/technical-manuals/0/wizard-genomic-dna-purification-kit-protocol/>

4.2 Equipos, reactivos y materiales necesarios que demandan los protocolos de extracción y purificación del ADN

En el siguiente cuadro aparecen equipos reactivos y utensilios que se requieren en los protocolos descritos de extracción y purificación de ADN:

Baño de María	Acetato de sodio (pH 5.4)
Centrífuga de rotor fijo de 30000 rpm	Ácido dietilditiocarbámico
Incubadora refrigerada	Alcohol isoamílico
Refrigerador doméstico	Bromuro de etidio
Tanque para N líquido	Tampón-de extracción TNE
Congelador -35°C	β-mercaptoetanol Cloroformo
Cámara y fuente de electroforesis	Etanol (glacial) 100%
Transiluminador	Etanol 70%
Sistema de documentación de geles	EDTA
Erlenmeyers	Fenol Isopropanol
Tubos de cultivo de 10 x 150 mm	Kit de extracción "Wizard Genomic" DNA Purification de Promega
Tubos Eppendorf de 1.5 ml y 2 ml	Colorante de carga
Mangos porta agujas y agujas	Na ₂ EDTA
Micropipetas de 0.1-2.5 µl	NaCl
Micropipetas de 2-20 µl	Nitrógeno líquido
Micropipetas 20-200 µl	RNasa
Micropipetas 200 – 1000 µl	Dodecilsulfato sódico (SDS)
Puntas de pipetas (10-200 µl)	TE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0)
Puntas de pipetas (100-1000 µl)	Tris-HCl (pH 8.0)
Agarosa	
Acetato de potasio	

4.3 Identificación de la raza 4 tropical de *Foc* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Dita *et al.* (2010) a partir de análisis de secuencias de ADN de la región IGS y del gen TEF, diseñaron una combinación de cebadores (Foc TR4-F/FocTR4-R – en este caso y en otros similares más adelante, se usan las siglas en inglés de la raza 4 tropical de *Foc* por tratarse de nombres) para la detección molecular de *Foc* R4T. Estos autores demostraron la especificidad de esta combinación de cebadores para la detección de aislados pertenecientes al grupo de compatibilidad vegetativa 01213, que son representantes de *Foc* R4T. Los cebadores utilizados para esta reacción de acuerdo a la fe de errata recientemente publicada (Dita *et al.*, 2011) son:

- Foc TR4 F: 5'CACGTTTAAGGTGCCATGAGAG 3'
- Foc TR4 R: 5'GCCAGGACTGCCTCGTGA 3'

Para la identificación de *Foc* R4T ya sea directamente de tejidos de plantas afectados o de cultivos puros mediante PCR y con el empleo de FocTR4-F/FocTR4-R se debe seguir el esquema de trabajo ilustrado en la Figura 10.

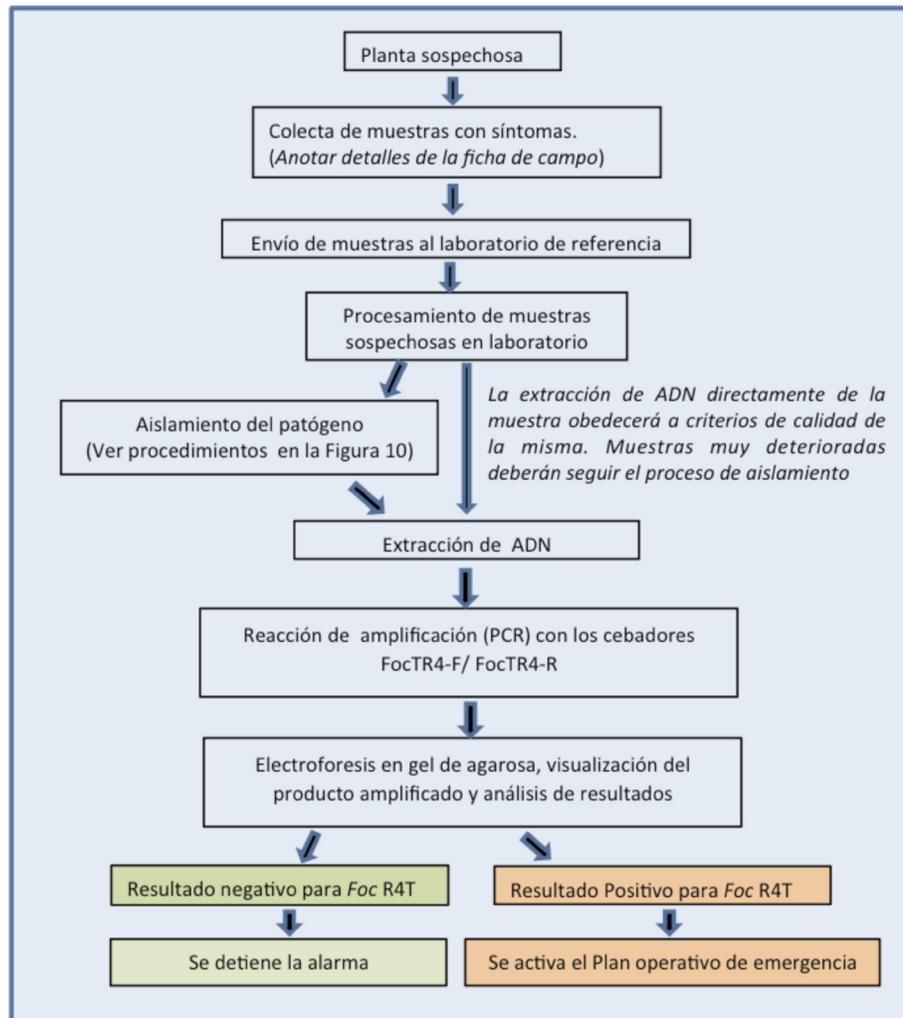


Figura 10. Procedimientos para el diagnóstico molecular de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Dita *et al.* (2010) emplearon el protocolo descrito para el kit “*Wizard Magnetic DNA Purification System for Food*” (Promega), para la extracción de ADN de cepas de Foc. No obstante, pueden emplearse otros métodos para la obtención de ADN de calidad (ver “Protocolos para la extracción de ADN de cepas de *Fusarium oxysporum*”). La selección del protocolo de extracción estará en dependencia del equipamiento y reactivos disponibles en el laboratorio.

4.3.1 Reacción de amplificación (Dita *et al.*, 2010)

Después de la extracción y la purificación del ADN, la reacción de amplificación se realizará siguiendo las siguientes etapas y condiciones de temperatura y tiempo:

Etapas	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	Ciclos
1. Desnaturalización inicial	95	5	
2. Desnaturalización	95	1	30
3. Anillamiento	60	1	
4. Elongación de la cadena	72	3	
5. Extensión final	72	10	

4.3.2 Electroforesis

Los productos de PCR serán sometidos a una electroforesis en gel de agarosa. Con el empleo de los cebadores FocTR4-F/FocTR4-R, se obtiene un producto de amplificación de 463 pb específico para Foc R4T.

4.3.3 Equipos, reactivos y materiales necesarios para la PCR

<ul style="list-style-type: none"> ▪ Termociclador ▪ Cámara y fuente de electroforesis ▪ Transiluminador ▪ Sistema de documentación de geles ▪ Tubos Eppendorf de 1.5 ml ▪ Tubos para PCR ▪ Cubetas para hielo ▪ Micropipetas de 0.1-2.5 µl ▪ Micropipetas de 2-20 µl ▪ Micropipetas 20-200 µl ▪ Microtubos para PCR (200 µl) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Puntas de pipetas (10-200 µL) ▪ Puntas de pipetas (100-1000 µL) ▪ Agua ultrapura o miliQ ▪ MgCl₂ ▪ Buffer PCR 10X ▪ Buffer TE ▪ Cebadores específicos: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Foc TR4 F: 5'cacgtttaaggtgccatgagag 3' ▪ Foc TR4 R: 5'gccaggactgcctcgtga 3' ▪ dNTPs (deoxiribonucleótidos) ▪ Taq Polimerasa
--	---

5. REGISTROS

Con el objetivo de mantener una completa historia y rastreabilidad de cada muestra diagnosticada, se deberán mantener los siguientes registros:

- a) Nombre científico de la plaga identificada;
- b) Código o número de referencia de la muestra (para la rastreabilidad);
- c) Nombre científico del hospedante y naturaleza de la muestra, cuando corresponda;
- d) Origen (incluida la ubicación geográfica) del material infectado, y la ubicación de la intercepción o detección;
- e) Nombre de las personas y entidad que realizó la detección del brote donde se detectó la plaga ;
- f) Descripción de los síntomas (incluyendo las fotografías, de ser pertinentes);
- g) Método (incluyendo los controles), utilizados en el diagnóstico y los resultados obtenidos con cada método que están incluidos en el protocolo de diagnóstico;
- h) Documentación de los resultados de la PCR (fotografías del gel del diagnóstico) con las bandas y sus marcadores de peso molecular en los cuales se basó el diagnóstico;
- i) El nombre del laboratorio y el nombre de las personas responsables del diagnóstico y/o quienes lo realizaron;
- j) Las fechas de recolección de la muestra, y de la detección e identificación de la plaga;

Rerencias

- Ashby, S.F. 1913. Banana disease in Jamaica. *Science* 31: 754-755.
- Bancroft, J., 1876. Report of the board appointed to inquire into the cause of disease affecting livestock and plants. Queensland, 1876. *In Votes and Proceedings* (3): 1011-1038.
- Beckman, CH. 1990. Host responses to infection. *In Ploetz, RC.* (ed.) *Fusarium wilt of banana*. Minnesota, US. APS. p 93-105.
- Bentley, S.; Pegg, K.; Dale, JL. 1994. Optimization of RAPD-PCR fingerprinting to analyse genetic variation within populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Phytopathology* 142: 64–78.
- Bentley, S.; Pegg, KG.; Moore, NY.; Davis, RD.; Buddenhagen, IW. 1998. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analysed by DNA fingerprinting. *Phytopathology* 88: 1283–1293.
- Boehm, EWA.; Ploetz, RC.; Kistler, HC. 1994. Statistical analysis of electropherickaryotype variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 7: 196–207.
- Booth, C. 1971. *The Genus Fusarium*. Surrey, UK. CMI. 58 p.
- Brake, VM.; Pegg, Kg., Irwin, J.A.G. And Langdon, P.W. 1990. Vegetative compatibility groups within Australian populations of *F. oxysporum* f. sp. *cubense* the cause of *Fusarium* wilt of banana. *Agricultural Research* 41: 863-870.
- Brandes, EW. 1919. Banana wilt. *Phytopathology* 9: 339-389.
- CABI (CAB International)., 2007. *Crop Protection Compendium*. Wallingford, UK.
- Carlier, J.; De Waele, D.; Escalant, J. 2002. Evaluación global de la resistencia de los bananos al marchitamiento por *Fusarium*, enfermedades de las manchas foliares causadas por *Mycosphaerella* y nemátodos. *En Vezina, A.; Picq, C.* (eds.). *Guías Técnicas del INIBAP no. 6*. Montpellier, FR. 67 p.
- Davis, R.; Moore, NY.; Bentley, S.; Gunua, TH.; Rahamma, S. 2000. Further records of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* from New Guinea. *Australasian Plant Pathology* 29: 224.
- Di Pietro, A.; Madrid, M.; Caracuel, Z.; Delgado-Jarana, J.; Roncero, MI. 2003. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology* 4: 321-325.
- Dita, MA. 2011. Corrigendum. *Plant Pathology* 60: 384.
- Dita, MA.; Waalwijk, C.; Buddenhagen, IW.; Souza, MT.; Kema, GHJ. 2010. A molecular diagnosis for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathology* 59: 348–357.
- Hennessy, C.; Walduck, G.; Daly, A.; Padovan, A. 2005. Weed hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in northern Australia. *Australasian Plant Pathology* 34, 115–117.
- Forsyth, L.; Smith, L.; Aitken, E. 2006. Identification and characterization of non- pathogenic *Fusarium oxysporum* capable of increasing and decreasing *Fusarium* wilt severity. *Mycological Research* 110: 929-935.

- Fourie, G.; Steenkamp, ET.; Gordon, TR.; Viljoen, A. 2009. Evolutionary relationships among the vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp.cubense. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 4770–4781.
- Fourie, G.; Steenkamp, ET.; Ploetz, RC.; Gordon, TR.; Viljoen, A. 2011. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum formae specialis cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution* 11: 533–542.
- Grimbeek, EJ.; Viljoen, A.; Bentley, S. 2001. First occurrence of Panama disease in two banana-growing areas of South Africa. *Plant Disease* 85: 1211.
- Groenewald, S.; Van Den Berg, N.; Marasas, WFO.; Viljoen, A. 2006. The application of high-throughput AFLPs in assessing genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Mycological Research* 110: 297–305.
- Hennessy, C.; Walduck, G.; Daly, A.; Padovan, A. 2005. Weed hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in northern Australia. *Australasian Plant Pathology* 34: 115-117.
- Hernandez, JM.; Freitas, G.; Ploetz, R.C.; Kendrick, C. 1993. Fusarial wilt of banana in the Canary Islands with some data regarding the Madeira Archipelago. *In* Valmayor, RV.; Hwang, SC.; Ploetz, RC.; Lee SW.; Roa, VN. (eds.). *Proceedings: International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology*. 1992. Pingtung, TW. Taiwan Research Institute. p 247-254.
- Higgins, JE. 1904. *The banana in Hawaii*. Hawaii, US. Hawaii Agricultural Experiment Station, University of Hawaii. 51 p. (Bulletin No. 7).
- Hwang, SC.; Ko, WH. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant Disease* 88: 580-588.
- Katan, K. Di Primo, P. 1999. Current Status of Vegetative Compatibility Groups in *Fusarium oxysporum*: Supplement (1999). *Phytoparasitica* 27(4): 273-277.
- Koenig, R.; Ploetz, RC.; Kistler, HC. 1997. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* consist of a small number of divergent and globally distributed lineages. *Phytopathology* 87: 915-923.
- Lee, YM., Teo, L., Ong, K.P. 2001. *Fusarium* wilt of Cavendish banana and its control in Malaysia. *In* Molina, AB.; Nik Masdek, NH.; Liew, KW. (eds.) *Banana Fusarium wilt management: towards sustainable cultivation*. Laguna, PH. INIBAP. p. 252-259.
- Leslie, JF. 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology* 31: 127-150.
- Leslie, JF., 1990. Genetic exchange within sexual and asexual populations in the genus *Fusarium*. *In* Ploetz, RC. ed. *Fusarium wilt of banana*. Minnesota, US. APS. p. 37-48.
- Leslie, JF.; Summerell, BA. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Iowa, US. Blackwell Publishing. 388 p.
- Li, CY.; Yi, GJ.; Chen, S.; Sun, QM.; Zuo, CW.; Huang, BZ.; Wei, YR.; Huang, YH.; Wu, YL; Xu, LB; Hu, CH. 2011. Studies on some of the early events in the *Fusarium oxysporum-Musa* interaction. *Acta Horticulture* 897: 305-312.
- Messiaen, CM.; Cassini R. 1968. Recherches sur les Fusarioses IV: La systématique des *Fusarium*. *Annals Epiphyte* 19 (8): 387-454.

- Ministerio de Desarrollo Agropecuario. 2008. Resuelto No. DAL-048-ADM-08 PANAMÁ 18 DE JULIO DE 2008. Panamá, PA. Gaceta Oficial Digital No. 26130.
- Molina, A.; Fabregar, E.; Sinohin, VG.; Herradura, L.; Fourie, G.; Viljoen, A. 2008. Confirmation of tropical race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, infecting cavendish bananas in the Philippines. *In* Centennial Meeting of the American Phytopathological Society. (2008, Minnesota, US). Abstracts.
- Molina, AB. 2009. Estado de la incidencia en Asia del marchitamiento por Raza 4 tropical de *Fusarium* en el cultivo del banano. *In* Reunión de Grupos de Interés sobre los Riesgos de la Raza 4 tropical de *Fusarium*, BBTV y otras Plagas de Musáceas, OIRSA (2009, San Salvador, El Salvador). Resúmenes. 71 p.
- Molina, AB. 2009. Estado de la incidencia en Asia del marchitamiento por Raza 4 tropical de *Fusarium* en el cultivo del banano. *In* Reunión de Grupos de Interés sobre los Riesgos de la Raza 4 tropical de *Fusarium*, BBTV y otras Plagas de Musáceas, OIRSA (2009, San Salvador, El Salvador). Resúmenes. 71 p.
- Moore, NY.; Pegg, K.; Allen, AR.; Irvin, JAG. 1993. Vegetative compatibility and distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 33 (6) 797 – 802.
- Nasdir, N. 2003. *Fusarium* wilt race 4 in Indonesia. Research Institute for Fruits west. Sumatra, Indonesia. Abstracts of Papers 2nd. International Symposium on *Fusarium* wilt on banana. PROMUSA-INIBAP/EMBRAPA. Salvador de Bahía, Brazil. 22 - 26 Sept.
- Nel, B.; Steinberg, C.; Labuschagne, N.; Viljoen, A. 2006. Isolation and characterization of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolates from the rhizosphere of healthy banana plants. *Plant Pathology* 55: 207–216.
- Nurhadi, M. Rais Harlion. 1994. The disease incidence of bacterial and *Fusarium* wilt disease in Lampung province. *Indonesian Info. Hort.* 2(1): 35-37.
- O'Donnell, K.; Cigelnik, E. 1999. A DNA sequence-based phylogenetic structure for the *Fusarium oxysporum* species complex. *Phytoparasitica* 27: 69.
- O'Neill WT.; Gulino, LM.; Pattison, AB.; Daniells, JW.; Hermanto C.; Molina, A. 2009. Vegetative compatibility group analysis of Indonesian *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* isolates. *In* Proceedings of the International ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges. Van den Bergh, I. et al. (eds.). *Acta Horticulturae* 897. ISHS 2011.
- Ong, KP. 1996. *Fusarium* wilt of banana in a Cavendish banana in a commercial farm in Malaysia. *In* New frontiers in resistance breeding for nematode, *Fusarium* and sigatoka (1995, Kuala Lumpur, MY). 1996. Proceedings. Frison, EA.; Horry, JP.; De Waele, D. (eds.). Montpellier, FR. INIBAP. 242 p.
- Pegg KG.; Moore NY.; Bentley, S. 1996. *Fusarium* wilt of banana in Australia: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 47: 637-650.
- Pegg KG.; Moore, NY.; Sorensen, S. 1994. Variability in populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* from the Asia/Pacific region. *In* The Improvement and Testing of Musa: A Global Partnership. Jones, DR. (ed). Proceeding of the First Global Conference of the International Musa Testing Program. HN. INIBAP. Montpellier, FR. p. 70–82.

- Pegg, KG.; Moore, NY.; Sorensen, S. 1993. *Fusarium* wilt in the Asian Pacific region. In International symposium on recent development in banana cultivation technology. (1993, Los Baños, PH). Abstracts. p. 255-314.
- Pérez-Vicente, L., 2004. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas: an updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent. In ACORBAT (XV, 2004, Oaxaca, MX). Memorias. p. 1-14. Disponible en: http://www.musalit.org/pdf/IN050663_en.pdf
- Pérez-Vicente, L., Batlle Viera, A. Chacón Benazet, J. 2003. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* en Cuba: biología de las poblaciones, reacción de los clones híbridos de la FHIA y biocontrol. En Taller "Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nemátodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas en los trópicos. (2003, Guayaquil, EC). Rivas, G.; Rosales, F. (eds.). Memorias. p. 141-155.
- Pérez-Vicente, L.; Batlle-Viera, A.; Chacón-Benazet, J.; Montenegro- Morasén, V. 2009 Reacción de clones naturales e híbridos de la FHIA de bananos y plátanos a las poblaciones de Cuba de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* agente causal de la marchitez por *Fusarium* o mal de Panamá. Fitosanidad_13 (4): 237-242.
- Ploetz RC. 2005a. Panama disease: an old nemesis rears its ugly head. Part 1. The beginnings of the banana export trades. Online. Minnesota, US. APS. <http://www.apsnet.orgonline/feature/panama/>
- Ploetz RC. 2006. *Fusarium* wilt of Banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f.sp. *cupense*. Phytopathology 96: 653-656.
- Ploetz, RC. 1990. *Fusarium* Wilt of Banana. Minnesota, US. APS. 139 p.
- Ploetz, RC. 2005b. Panama disease: an old nemesis rears its ugly head. Part 2: The Cavendish era and beyond. Online. Minnesota, US. APS. <http://www.apsnet.orgonline/feature/panama2/default.asp>
- Ploetz, RC.; Correll, JC. 1988. Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense*. Plant Disease 72: 325–328.
- Ploetz, RC.; Pegg, KG. 2000. *Fusarium* wilt. In Diseases of Banana, Abaca and Enset. Jones, DR. (ed.). Wallingford, UK. CABI. p 143-159.
- Puhalla, JE. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. Canadian Journal of Botany 63: 179-183.
- Qi, P. 2001. Status report of banana *Fusarium* wilt disease in China. In Molina, AB.; Nik Masdek, NH.; Liew, KW. (eds.) Banana *Fusarium* wilt management: towards sustainable cultivation. Laguna, PH. INIBAP. p. 119-120.
- Qi, YX.; Zhang, X.; Pua, JJ.; Xie, YX.; Zhang, HQ.; Huang, SL. 2008. Race 4 identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* from Cavendish cultivars in Hainan province, China. Australasian Plant Disease Notes 3: 46-47.
- Smith, EF. 1910. A Cuban banana disease. Science 31: 754-755.
- Snyder, WC.; Hansen, HN. 1940. The species concept in *Fusarium*. American Journal of Botany 27: 64-67.
- Stover RH.; Waite, BH. 1960. Studies on *Fusarium* wilt of bananas V. Pathogenicity and distribution of *F. oxysporum* f.sp. *cupense* races 1 and 2. Canadian Journal of Botany 38: 31-61.

- Stover, RH. 1962. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas and other *Musa* species. Kew, UK. Commonwealth Mycological Institute. 177 p.
- Stover, RH., 1972. Banana, plantain and abaca diseases. Kew, UK. Commonwealth Mycological Institute. 316 p.
- Su, HJ.; Hwang, SC.; Ko, WH. 1986. *Fusarium* wilt of Cavendish bananas in Taiwan. *Plant Disease* 70: 814-818.
- Summerell, B.; Salleh, B.; Leslie, JF., 2003. An utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. *Plant Disease* 87 (2): 117-128.
- Sun, EJ.; Su, HJ.; Ko, WH. 1978. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* race 4 from soil or host tissue by cultural characters. *Phytopathology* 68: 1672-1673.
- Thangavelu, R.; Mustaffa, MM. 2010. First report on the occurrence of a virulent strain of *Fusarium* wilt pathogen (Race-1) infecting Cavendish (AAA) group of bananas in India. *Plant Disease* 94: 1379.
- Waite, BH.; Stover, RH. 1960. Studies on *Fusarium* wilt of bananas. VI. Variability and cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense*. *Canadian Journal of Botany* 38: 985-994..
- Wardlaw, CW. 1972. Banana diseases: including Plantain and Abaca. London, UK. Longman. 878 p.
- Wollenweber, HW.; Reinking, OW. 1935. Die Fusarien. Berlin, DE. Paul Parey. 355 p.

APÉNDICE 3

CONTACTOS EN CASO DE INCURSIONES O BROTES DE LA RAZA 4 TROPICAL DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria (ONPF)

México:

Institución: Dirección General de Sanidad Vegetal y Calidad Agroalimentaria
Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad
- SENASICA - SAGARPA

Cargo Responsable Director General de Sanidad Vegetal

Dirección: Guillermo Pérez Valenzuela 127 – 2° piso I.
Colonia del Carmen, Coyoacán, 04100, México D.F. México

Tel.: (52 55) 5554 0512 / 0507 (directos); **Conmut.** 5090 3000 Ext. 51319 y 51322

Fax: (52 55) 5554 0529

Correo e: sria.dgsv@senasica.gob.mx

Sitio Web: www.senasica.gob.mx

Belize

Institución: Belize Agricultural Health Authority (BAHA) and Forest Drive,

Cargo Responsable Managing Director, Belmopan, Belize

Dirección: Corner of Hummingbird Highway and Forest Drive P.O. Box 169,

Tel: 501-824 4899; 501-822-0818/1378

Tel: 501-822-0271

E-mail: baha@btl.net

Sitio Web: www.baha.bz

Guatemala

Institución: Dirección de Sanidad Vegetal
Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (VISAR)
Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA)

Cargo Responsable Director de Sanidad Vegetal

Dirección: 7a. Ave. 12-90 Zona 13, Edif. Anexo Monja Blanca, Ciudad de Guatemala, Guatemala

Tel.: (502) 2413-7389 (directo) / 2413 7385 PBX

Tel/Fax: (502) 2413-7389 (directo) / 2413-7391; 2413-7418

Correo - e:

Sitio Web: http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/uc_unr

EL Salvador

Institución: Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) -MAG

Cargo Responsable Director General de Sanidad Vegetal

Dirección: Edif. B, 2° nivel. Final 1ª Avenida Norte y 13 Calle Poniente,
Av. Manuel Gallardo, Ctgo. a PROCAFE
Santa Tecla, La Libertad, EL Salvador
Tel.: (503) 2202 0835 (**directo**); 2202 0800 (**Conm**)
Correo -e: info@mag.gob.sv
Sitio Web: <http://www.mag.gob.sv>

Honduras

Institución: Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria -SENASA
Secretaría de Agricultura y Ganadería - SAG
Cargo Responsable: Director General SENASA
Dirección: Edificio SENASA, Col. Loma Linda, Blvd. Miraflores, Av. La FAO, Costal 309
½ cuadra antes de INJUPEMP, Apto. Postal 309, Tegucigalpa, Honduras
Tel.: (504) 231 0786 / 239 7089 / 2326273
Sitio Web: <http://www.senasa-sag.gob.hn/>

Nicaragua

Institución: Dirección General de Protección y Sanidad Agropecuaria – DGPSA
Ministerio Agropecuario y Forestal (MAGFOR)
Cargo Responsable.: Director General
Dirección DGPSA Km. 3½ Carretera a Masaya, Ctgo. A ‘Los Gauchos’, Managua
Tel/Fax: (505) 278 5042; Commt. 278 3418 / 4235
Correo- e: dgpsa@dgpsa.gob.ni
Sitio Web: <http://www.dgpsa.gob.ni>

Costa Rica

Institución: Servicio Fitosanitario del Estado - SFE
Ministerio de Agricultura y Ganadería - MAG
Cargo Responsable: Director(a) Ejecutivo(a)
Dirección: Barreal, Heredia Apto. Postal 10094-1000, San José, Costa Rica
Tel.: (506) 2260 6190/260 8300 –ext. 2009
Fax: (506) 2260-8301
Correo- e: direccion@sfe.go.cr
Sitio Web: <http://www.sfe.go.cr/>

Panamá

Institución: Dirección Nacional de Sanidad Vegetal
Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA)
Cargo Responsable Director Nacional de Sanidad Vegetal
Dirección: Río Tapia, Tocumen, Apto. Postal 53-90, Z-5 Panamá
Tel.: (507) 220 0733 (Directo) /290 6710 / 220 7979
Fax: (507) 220 7981
Correo - e:
Sitio Web: <http://www.mida.gob.pa>

República Dominicana

Institución: Dpto. de Sanidad Vegetal-Dirección de Sanidad Vegetal,
Secretaría de Estado de Agricultura – SEA

Cargo Responsable Director de Sanidad Vegetal

Dirección: Km. 6 ½ Autopista Duarte, Urb Los Jardines del Norte
Santo Domingo, República Dominicana

Tel.: (809) 547 3888 Ext. 4100,

Fax: (809) 562 8939

Correo - e:

Sitio Web: <http://www.agricultura.gob.do/>

Oficinas del OIRSA

Oficinas de la Sede

Institución: Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria

Cargo Responsable Director Ejecutivo

Dirección, Calle Ramón Belloso, final Pje. Isolde, Col. Escalón, San Salvador

Teléfonos: (503) 2263 1123 (503) 2263 112 – PBX / 2263 1127 (Dirección)

Fax: (503) 2263 1128

Correo - e: oirsa@oirsa.org

Sitio Web: www.oirsa.org

Oficinas de las Representaciones en los países

Institución: Representación del OIRSA en México
Cargo Responsable Representante
Dirección: Acayucan # 9, N° 29, Colonia Roma Sur, Delegación Cuauhtémoc,
CP 06760, México, D.F.
Teléfono: 5 (52 55) 5564 4661 / 5564 6905
Fax: 5 (52 55) 5584 2703
Correo - e: oirsamexico@prodigy.net.mx

Institución: Representación del OIRSA en Belice
Cargo Responsable Representante
Dirección: National Showgrounds, Belmopan, Cayo District, Belize, C.A.
P.O. Box 426
Teléfono: (501) 822 0521/ 822 0658
F ax: (501) 82 0522
Correo - e: oirsabze@btl.net

Institución: Representación del OIRSA en Guatemala
Cargo Responsable Representante
Dirección: 21 Avenida 3-12, Zona 15, Vista Hermosa 1, Guatemala
Teléfonos: (502) 2369 5900 / 5879 -80 -98 / 5998
Fax: (502) 2365 8599
Correo - e: oirsa@oirsa.org.gt
Sitio Web: www.oirsa.org.gt

Institución: Representación del OIRSA en El Salvador
Cargo Responsable Representante
Dirección: Final 1ª Av. Norte y 13 Calle Oriente, Av. Manuel Gallardo
Santa Tecla, La Libertad, El Salvador
Teléfono: (503) 2228 7841 / 7899 /2288 0704
Fax: (503) 2228 7823
Correo - e: oirsarep@telemovil.com

Institución: Representación del OIRSA en Honduras
Cargo Responsable Representante
Dirección: Colonia Lomas del Guijarro, Calle Alfonso XIII #3735, Tegucigalpa
Teléfono: (504) 239 0316 / 232 9073 / 235 8410
Fax (504) 232 9315
Correo - e: honduras@oirsa.org.hn

Institución: Representación del OIRSA en Nicaragua
Cargo Responsable Representante
Dirección: Km. 3 ½ Carretera a Masaya, en el MAGFOR, fte. a Catedral Nueva, Managua, Nicaragua
Teléfono: (505) 278 1230
Fax: (505) 278 5175
Correo - e: representante@oirsa.org.ni secretaria@oirsa.org.ni

Institución: Representación del OIRSA en Costa Rica
Cargo Responsable Representante
Dirección: Rhomoser, Pavas, de la Plaza Mayor 100 m Este y 100 m Norte, Casa Blanca; San José. Apto. Postal 3628-1000, San José
Teléfono: (506) 2220 0624
Fax: (506) 2232 9943
Correo - e:

Institución: Representación del OIRSA en Panamá
Cargo Responsable Representante
Dirección: Área Social de Clayton, Calle Maritza Alabarca, Casas 1012 A-B, Panamá, Panamá.
Teléfono: (507) 317-0901, -02 -03
Fax: (507) 317 -0900
Correo - e:

Institución: Representación del OIRSA en República Dominicana
Cargo Responsable Representante
Dirección: Plaza Independencia, Av. Independencia N° 348 Local 5-A, 2° nivel, El Cacique, Distrito Nacional, Santo Domingo.
Teléfono: (809) 533 7900
Fax: (809) 533 0720
Correo - e: oirsa@codetel.net.do

Especialistas Internacionales en Foc R4T

Dr. Luis Pérez Vicente. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ministerio de la Agricultura. 110 e/ 5ta B y 5ta. F., Playa, C. Habana, Cuba.

Dr. Miguel A. Dita. Bioersity International, Turrialba, Costa Rica

Dr. Randy C. Ploetz, IFAC, University of Florida, Homestead, USA

Dr. Agustin Molina, Bioersity International, Filipinas

Dr. Altus Viljoen. Universidad de Stellenbosch, África del Sur.

APÉNDICE 4

LISTA AMPLIADA DE PLANTAS HOSPEDANTES DE LA MARCHITEZ POR *FUSARIUM*, RAZA 4 TROPICAL (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, R4T)

Cuadro 2 - Lista ampliada de plantas hospedantes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* R4T

Nombre Científico	Nombre Común (Español)	Nombre Común (Inglés)	Referencias
<i>Chloris inflata</i> (sin. <i>Chloris barbata</i>)	Hierba Borrego Zacate Borrego	Purpletop chloris	CABI, 2006; Hennessy <i>et al.</i> , 2003
<i>Commelina diffusa</i>	Canutillo	Water grass	Wardlaw, 1972
<i>Ensete ventricosum</i>	Ensete	Ensete	Wardlaw, 1972
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leche de sapo Lechera	Red milkweed Wild poinsettia	CABI, 2007; Hennessy <i>et al.</i> , 2003
<i>Heliconia spp.</i> <i>H. caribaea</i> <i>H. psittacorum</i> <i>H. mariae</i>	Heliconia	Heliconia	CABI, 2007
<i>Musa spp.</i>			
<i>Musa textilis</i>	Abacá	Manila hemp	CABI, 2007
<i>Musa acuminata</i>	Bananos silvestres	Wild banana	CABI, 2007
<i>Musa balbisiana</i>	Musa balbisiana	Musa balbisiana	CABI, 2007
<i>Tridax procumbens</i>	Mata gusano	Coat buttons p.w.d. weed	CABI, 2007; Hennessy <i>et al.</i> , 2003

REFERENCIAS

CABI (CAB International)., 2007. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK.

Hennessy, C.; Walduck, G.; Daly, A.; Padovan, A. 2005. Weed hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in northern Australia. Australasian Plant Pathology 34: 115-117.

Wardlaw, CW. 1972. Banana diseases: including Plantain and Abaca. London, UK. Longman. 878 p.

APÉNDICE 5

GLOSARIO

acción de emergencia. Acción fitosanitaria rápida llevada a cabo ante una situación fitosanitaria nueva o imprevista [CIMF, 2001].

acción fitosanitaria. Operación oficial, tal como inspección, prueba, vigilancia o tratamiento, llevada a cabo para aplicar medidas fitosanitarias [CIMF, 2001; revisado CIMF, 2005].

AFLP. Del inglés: Amplified Fragments Length Polymorphism que significa Polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados

aprobación. Acto por el que la ONPF reconoce a personas físicas o morales como aptas para operar como organismos nacionales de normalización, organismos de certificación, unidades de verificación o laboratorios de pruebas

área. Un país determinado, parte de un país, países completos o partes de diversos países, que se han definido oficialmente [FAO, 1990, revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; definición basada en el Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio].

área bajo cuarentena. Un área donde existe una plaga cuarentenaria y que está bajo un control oficial [FAO, 1990; revisado FAO, 1995].

área controlada. Un área reglamentada que la ONPF ha determinado como el área mínima necesaria para prevenir la dispersión de una plaga desde un área cuarentenaria [CEMF, 1996].

área en peligro. Un área en donde los factores ecológicos favorecen el establecimiento de una plaga cuya presencia dentro del área dará como resultado pérdidas económicamente importantes (véase el Suplemento n° 2 del Glosario) [FAO, 1995].

área libre de plagas. Un área en donde una plaga específica no está presente, según se ha demostrado con evidencia científica y en la cual, cuando sea apropiado, dicha condición esté siendo mantenida oficialmente [FAO, 1995].

área reglamentada. Área en la cual las plantas, productos vegetales y otros productos reglamentados que entran al área, se mueven dentro de ésta o provienen de la misma, están sujetos a reglamentaciones o procedimientos fitosanitarios con el fin de prevenir la introducción o dispersión de las plagas cuarentenarias o limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas (véase el Suplemento n° 2 del Glosario) [CEMF, 1996; revisado CEMF, 1999; CIMF, 2001].

artículo reglamentado. Cualquier planta, producto vegetal, lugar de almacenamiento, de empaquetado, medio de transporte, contenedor, suelo y cualquier otro organismo, objeto o material capaz de albergar o dispersar plagas, que se considere que debe estar sujeto a medidas fitosanitarias, en particular en el transporte internacional [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997; aclaración, 2005].

brote. Población de una plaga detectada recientemente, incluida una incursión o aumento súbito importante de una población de una plaga establecida en un área [FAO, 1995; revisado CIMF, 2003].

campo. Parcela con límites definidos dentro de un lugar de producción en el cual se cultiva un producto básico [FAO, 1990]

condición de una plaga (en un área). Presencia o ausencia actual de una plaga en un área, incluyendo su distribución donde corresponda, según lo haya determinado oficialmente el juicio de expertos basándose en los registros de plagas previos y actuales y en otra información pertinente [CEMF, 1997; revisado CIMF, 1998; anteriormente situación de una plaga (en un área) y estatus de una plaga (en un área); revisado, CMF, 2009].

compatibilidad vegetativa: la capacidad de los hongos de formar un heterocarión a través de la fusión de hifas (plasmogamia) y de núcleos (cariogamia) a través del cual puede ocurrir un entrecruzamiento “*crossing over*” mitótico. La formación de los heterocariones está determinada por los genes de heterocompatibilidad. Las células que se fusionan deben compartir alelos de heterocompatibilidad comunes para que el heterocarión sea viable y no muera inmediatamente después de su formación. Los individuos que tienen alelos de incompatibilidad comunes se denominan vegetativamente compatibles y constituyen un mecanismo de reconocimiento de sí mismos (grupo de compatibilidad vegetativa o VCG) y de diferenciación de los que no poseen los mismos alelos. Como *Foc* es un hongo anamorfo que se reproduce clonalmente sin estado sexual conocido, los VCG permiten apoyar la tipificación de las poblaciones. En todo el mundo han sido determinados 21 grupos de compatibilidad vegetativa en *Foc*.

confinamiento (de un artículo reglamentado). Aplicación de medidas fitosanitarias a un artículo reglamentado para prevenir el escape de plagas [CMF, 2012].

conidio. En los hongos pertenecientes a los *Ascomycota* y, en menor grado, los *Basidiomycota*, espora asexual que se desarrolla a partir de una estructura denominada conidióforo. Según su tamaño puede ser diferenciado como macroconidio y microconidio.

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, depositada en 1951 en la FAO, Roma y posteriormente enmendada [FAO, 1990].

contención. Aplicación de medidas fitosanitarias dentro de un área infestada y alrededor de ella, para prevenir la dispersión de una plaga [FAO, 1995].

control (de una plaga). Supresión, contención o erradicación de una población de plagas [FAO, 1995].

cuarentena. Confinamiento oficial de artículos reglamentados para observación e investigación o para inspección, prueba o tratamiento adicional [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999].

cuarentena vegetal. Toda actividad destinada a prevenir la introducción y/o dispersión de plagas cuarentenarias o para asegurar su control oficial [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

diagnóstico de plaga. Proceso de detección e identificación de una plaga [NIMF n° 27, 2006].

dispersión. Expansión de la distribución geográfica de una plaga dentro de un área [FAO, 1995; anteriormente diseminación].

eficacia (del tratamiento). Efecto definido, mensurable y reproducible mediante un tratamiento prescrito [NIMF n° 18, 2003].

encuesta. Procedimiento oficial efectuado en un período dado para determinar las características de una población de plagas o para determinar las especies de plagas presentes dentro de un área [FAO, 1990; revisado CEMF, 1996].

encuesta de delimitación. Encuesta realizada para establecer los límites de un área considerada infestada por una plaga o libre de ella [FAO, 1990].

encuesta de detección. Encuesta realizada dentro de un área para determinar si hay plagas presentes [FAO, 1990; revisado FAO, 1995].

encuesta de monitoreo. Encuesta en curso para verificar las características de una población de plagas [FAO, 1995; anteriormente encuesta de verificación].

entrada (de una plaga). Movimiento de una plaga hacia el interior de un área donde todavía no está presente, o si está presente, no está extendida y se encuentra bajo control oficial [FAO, 1995].

enfermedad. Cualquier alteración de una planta que interfiere en su estructura normal, fisiología o valor económico.

erradicación. Aplicación de medidas fitosanitarias para eliminar una plaga de un área [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; anteriormente erradicar].

establecimiento. Perpetuación, para el futuro previsible, de una plaga dentro de un área después de su entrada [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997; anteriormente establecida].

examen visual. Examen físico de plantas, productos vegetales u otros artículos reglamentados utilizando solo la vista, una lupa, un estereoscopio o microscopio para detectar plagas o contaminantes sin realizar pruebas ni procesos [NIMF n° 23, 2005].

fiálide. Es una proyección de la parte dilatada superior o vesícula del conidióforo de ciertas especies de hongos por donde salen los conidios. Pueden presentarse en conidióforos monofiálicos (una sola fiálide) o polifiálicos (más de una fiálide) en el extremo del conidióforo y tiene carácter taxonómico en las especies de *Fusarium*.

fisiografía. Descripción de las características físicas de la Tierra y de los fenómenos de la naturaleza que en ella se originan, en particular de las características aparentes, conspicuas o superficiales de la superficie terrestre y la vegetación.

Foc. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Foc R4T. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 4 Tropical. Raza con capacidad patogénica sobre variedades del subgrupo Cavendish y otros clones de bananos y plátanos en condiciones del trópico húmedo caliente (ver raza). Los aislados de esta raza pertenecen hasta el momento al **Grupo de Compatibilidad Vegetativa** 01213.

hongos. Designa a un grupo de organismos eucariotas entre los que se encuentran los mohos, las levaduras y las setas. Se clasifican en un reino distinto al de las plantas, animales y bacterias. Esta diferenciación se debe, entre otras cosas, a que poseen paredes celulares compuestas por quitina, a diferencia de las plantas, que contienen celulosa. Actualmente se consideran como un grupo heterogéneo, polifilético, formado por organismos pertenecientes por lo menos a tres líneas evolutivas independientes.

incidencia (de una plaga). Proporción o número de unidades de una muestra, envío, campo u otra población definida en las que está presente una plaga [CMF, 2009].

incursión. Población aislada de una plaga detectada recientemente en un área que se desconoce si está establecida y la cual se espera que sobreviva en un futuro inmediato [CIMF, 2003].

inspección. Examen visual oficial de plantas, productos vegetales u otros artículos reglamentados para determinar si hay plagas y/o determinar el cumplimiento con las reglamentaciones fitosanitarias [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; anteriormente inspeccionar].

introducción. Entrada de una plaga que resulta en su establecimiento [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997].

inspector. Persona autorizada por una Organización Nacional de Protección Fitosanitaria para desempeñar sus funciones [FAO, 1990].

legislación fitosanitaria. Leyes básicas que conceden la autoridad legal a la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria a partir de la cual pueden elaborar las reglamentaciones fitosanitarias [FAO, 1990; revisado FAO, 1995].

libre de (referente a un envío, campo o lugar de producción). Sin plagas (o una plaga específica) en números o cantidades que puedan detectarse mediante la aplicación de procedimientos fitosanitarios [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; anteriormente libre de].

lugar de producción. Cualquier local o agrupación de campos operados como una sola unidad de producción agrícola. Esto puede incluir sitios de producción que se manejan de forma separada con fines fitosanitarios [FAO, 1990, revisado CEMF, 1999]

medida fitosanitaria (interpretación convenida). Cualquier legislación, reglamento o procedimiento oficial que tenga el propósito de prevenir la introducción y/o dispersión de plagas cuarentenarias o de limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas [FAO, 1995; revisado CIPF, 1997; CIMF, 2002; aclaración, 2005].

monitoreo. Proceso oficial continuo para comprobar situaciones fitosanitarias [CEMF, 1996; anteriormente verificación].

movilización. Transportar, llevar o trasladar de un lugar a otro.

norma. Documento establecido por consenso y aprobado por un organismo reconocido, que proporciona, para un uso común y repetido, reglas, directrices o características para actividades o sus resultados, con el fin de conseguir un grado óptimo de orden en un contexto dado [FAO, 1995; definición de GUÍA ISO/IEC 2:1991].

Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias. Norma internacional adoptada por la Conferencia de la FAO, la Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias o la Comisión de Medidas Fitosanitarias, establecida en virtud de la CIPF [CEMF, 1996; revisado CEMF, 1999].

normas regionales. Normas establecidas por una Organización Regional de Protección Fitosanitaria para servir de guía a sus miembros [CIPF, 1997; aclaración, 2005].

oficial. Establecido, autorizado o ejecutado por una Organización Nacional de Protección Fitosanitaria [FAO, 1990].

ONPF. Organización Nacional de Protección Fitosanitaria [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001]

organismo. Entidad biótica capaz de reproducirse o duplicarse en su forma presente naturalmente [NIMF n° 3, 1996; revisado NIMF n° 3, 2005].

Organización Regional de Protección Fitosanitaria (ORPF). Organización intergubernamental con las funciones establecidas mediante el Artículo IX de la CIPF [FAO, 1990, revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; anteriormente Organización regional de protección de las plantas].

parásito. Organismo que vive dentro o sobre un organismo mayor, alimentándose de éste [NIMF n°3, 1996].

patógeno: Microorganismo causante de una enfermedad [NIMF N° 3, 1996].

período de incubación. Tiempo comprendido desde la infección inicial de un patógeno a una planta hospedante o a una planta indicadora en circunstancias especificadas, hasta la aparición de los primeros síntomas empleados como referencia.

plaga. Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales [FAO 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997].

plaga cuarentenaria. Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro aun cuando la plaga no esté presente o, si está presente, no está extendida y se encuentra bajo control oficial [FAO 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997; aclaración, 2005].

plaguicidas: insumos fitosanitarios tales como: insecticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, molusquicidas, nematocidas y rodenticidas, destinados a prevenir, repeler, combatir y destruir organismos biológicos nocivos a los vegetales.

plantar (incluye replantar). Toda operación para la colocación de plantas en un medio de crecimiento o por medio de injerto u operaciones similares para asegurar su posterior crecimiento, reproducción o propagación [FAO, 1990; revisado CEMF, 1999].

plantas. Plantas vivas y partes de ellas, incluidas las semillas y el germoplasma [FAO, 1990; revisado CIPF, 1997; aclaración, 2005].

plantas para plantar. Plantas destinadas a permanecer plantadas, a ser plantadas o replantadas [FAO, 1990].

presencia. La existencia en un área de una plaga oficialmente reconocida como indígena o introducida y no reportada oficialmente como que ha sido erradicada [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; NIMF N° 17, 2002; anteriormente presente].

producto. Tipo de planta, producto vegetal u otro artículo que se moviliza con fines comerciales u otros propósitos [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001; anteriormente producto básico; revisado, CMF, 2009].

productos vegetales. Materiales no manufacturados de origen vegetal (incluyendo los granos) y aquellos productos manufacturados que, por su naturaleza o por su elaboración, puedan crear un riesgo de introducción y dispersión de plagas [FAO, 1990; revisado CIPF, 1997; aclaración, 2005; anteriormente producto vegetal].

prohibición. Reglamentación fitosanitaria que veda la importación o movilización de plagas o productos [básicos] específicos [FAO, 1990; revisado FAO, 1995].

prueba. Examen oficial, no visual, para determinar la presencia de plagas o para identificar tales plagas [FAO, 1990].

rango de hospedantes. Especies capaces de sustentar una plaga específica u otro organismo, bajo condiciones naturales [FAO 1990; revisado NIMF N° 3, 2005; anteriormente rango de hospederos].

RAPD. Del inglés: Random Amplification of Polymorphic DNA que significa, Amplificación Aleatoria de ADN polimórfico.

raza. Grupo de individuos de una especie con atributos fenotípicos y genéticos comunes que los diferencian de la población general de la especie. En el caso de los patógenos de las plantas se refiere a genes de avirulencia que definen las relaciones patógeno-hospedante. En el caso de Foc/Musa spp., se ha aplicado el término de raza a poblaciones que tienen el atributo de infectar clones específicos y no tiene sentido genético, por lo cual las razas definidas pueden realmente tener individuos con diferencias de patogenicidad en relación a otros clones.

reglamentación fitosanitaria. Norma oficial para prevenir la introducción y/o dispersión de las plagas cuarentenarias o para limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas, incluido el establecimiento de procedimientos para la certificación fitosanitaria (véase el Suplemento N° 2 del Glosario) [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; revisado CIMF, 2001].

restricción. Reglamentación fitosanitaria que permite la importación o movilización de productos [básicos] específicos que están sujetos a requisitos específicos [CEMF, 1996, revisado CEMF, 1999].

RFLP. Del inglés: Restriction Fragment Length Polimorphism que significa, Polimorfismos de longitud en fragmentos de restricción.

riesgo de plagas (para plagas cuarentenarias). Probabilidad de introducción y dispersión de una plaga y magnitud de las posibles consecuencias económicas asociadas a ella (véase el Suplemento N° 2 del Glosario) [NIMF N° 2, 2007].

somaclon: Plantas derivadas de cualquier forma de cultivos celulares que involucren el uso de células somáticas de plantas.

supresión. Aplicación de medidas fitosanitarias dentro de un área infestada para disminuir poblaciones de plagas [FAO, 1995; revisado CEMF, 1999]

tratamiento. Procedimiento oficial para matar, inactivar o eliminar plagas o ya sea para esterilizarlas o desvitalizarlas [FAO 1990; revisado FAO, 1995; NIMF N° 15, 2002; NIMF N° 18, 2003; CIMF, 2005].

verificación. Constatación ocular o comprobación mediante muestreo y prueba, del cumplimiento de la reglamentación fitosanitaria, expresándose a través de un dictamen

vía. Cualquier medio que permita la entrada o dispersión de una plaga [FAO, 1990; revisado FAO, 1995].

vigilancia. Un proceso oficial mediante el cual se recoge y registra información sobre la presencia o ausencia de una plaga utilizando encuestas, monitoreo u otros procedimientos [CEMF, 1996].

vivero. Lugar donde se producen plantas para plantar.

zona tampón. Área adyacente o que circunda a otra delimitada oficialmente para fines fitosanitarios con objeto de minimizar la probabilidad de dispersión de la plaga objetivo dentro o fuera del área delimitada, y a la que se aplican, según proceda, medidas fitosanitarias u otras medidas de control [NIMF n.º 10, 1999; NIMF n.º 22 revisada, 2005; CMEF, 2007].

APÉNDICE 6

MODELO DE DECRETO DE EMERGENCIA ANTE UN BROTE DE LA RAZA 4 TROPICAL DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

OBJETO

Establecer las medidas fitosanitarias de emergencia y otras disposiciones de carácter obligatorio que deben aplicarse a fin de erradicar, contener o suprimir el o los brotes de Foc R4T.

CAMPO DE APLICACIÓN

- a. Lugares de producción de plátanos y bananos y otros sitios privados o públicos donde se encuentren plantas hospedantes de Foc R4T; por ejemplo: campos de cultivo de musáceas y Heliconias con fines comerciales; sitios como huertos, viveros, laboratorios de producción de plantas hospedantes *in vitro*, etc., y otras áreas como las protegidas y las incultas. Los medios donde se transporten plantas hospedantes u otros artículos reglamentados. Una lista de plantas hospedantes se incluye en el Apéndice 4. Esta lista podrá ser modificada cuando sea pertinente con base en la experiencia o investigación científica;
- b. Vías de FOC R4T descritas en el Apéndice y las que se agreguen posteriormente, determinadas con base en la experiencia o la investigación científica.

REFERENCIAS

Incluir en este apartado la legislación y reglamentación del país que soporte o complemente lo dispuesto en este reglamento, así como la normativa internacional, si es apropiado (Acuerdo MSF, CIPF, NIMF).

DEFINICIONES

Incluir aquí las definiciones pertinentes que ayuden a una mejor comprensión del reglamento.

ESPECIFICACIONES

1. DE LAS FACULTADES Y ATRIBUCIONES

Para el logro del objetivo del presente reglamento, el Ministerio/Secretaría dispone lo siguiente:

- a. Declarar la condición de “emergencia fitosanitaria” por la incursión de Foc R4T en el país;
- b. Establecer un fondo de _____ para atender la emergencia, que podrá aumentarse con fondos que se obtengan de otras fuentes de financiamiento;
- c. A fin de controlar Foc R4T conviene en:
 - Establecer y mantener áreas bajo cuarentena, áreas controladas, áreas reglamentadas, zonas tampón y áreas libres de plagas según corresponda, con especificaciones técnicas y ejecutar en estas áreas las acciones fitosanitarias que se consideren necesarias para los fines propuestos;
 - Regular el cultivo, la propagación y el manejo de plantas hospedantes de Foc R4T, según sea necesario, para un control efectivo de esta plaga;
 - Designar a inspectores para el ejercicio de las funciones autorizadas en este reglamento o delegar estas funciones por completo o en parte, a otras según convenga, mediante procedimientos documentados y debidamente autorizados;
 - Establecer responsabilidades y derechos de los propietarios o tenedores de artículos reglamentados;
- d. las funciones y facultades de los inspectores son:
 - Verificar el cumplimiento de las restricciones y otras disposiciones contenidas en este reglamento para el control del Foc R4T, por lo que están facultados para ingresar a propiedades y áreas o sitios donde encuentren plantas hospedantes;
 - Realizar inspecciones en lugares de producción, en otros sitios y en medios de transporte para determinar la condición del Foc R4T;
 - Instalar en lugares y sitios determinados, dispositivos para monitorear a Foc R4T;
 - Tomar muestras de hospedantes a fin de determinar la presencia o incidencia de Foc R4T en áreas o sitios seleccionados;
 - Formular y entregar por escrito las recomendaciones técnicas de acciones fitosanitarias que deben realizar por su cuenta los propietarios o tenedores de los artículos reglamentados; supervisar o verificar las medidas de manejo, supresión, erradicación o contención de Foc R4T y sus vectores dispuestas con base en este reglamento;
 - Entregar las notificaciones generales a los propietarios o tenedores de artículos en las áreas bajo cuarentena y en otros lugares o sitios donde se implementen medidas fitosanitarias contra Foc R4T;
 - Entregar las notificaciones y dar cumplimiento con el apoyo necesario, a las órdenes o sentencias dictadas por el órgano competente en los casos en que el propietario o tenedor de artículos reglamentados hubiera presentado recurso de apelación u

oposición expresa a la ejecución de acciones fitosanitarias o a otras disposiciones emanadas con base en este reglamento;

- e. para que los inspectores ejerzan las facultades y funciones establecidas en el reglamento, el Ministerio/ Secretaría, les extenderá las credenciales respectivas y les proporcionará capacitación en los procedimientos que deberán emplear en el ejercicio de las mismas.

2. DE LOS PROPIETARIOS O TENEDORES DE ARTÍCULOS REGLAMENTADOS

- 2.1. Son artículos reglamentados por Foc R4T los comprendidos en los literales a) y b) del apartado “Objeto y campo de aplicación” de este reglamento y los hospedantes de Foc R4T que se incluyen en el Apéndice 4 de este documento.
- 2.2. Son responsabilidades de los propietarios o tenedores de artículos reglamentados:
 - a. notificar a la ONPF (del país) la aparición de brotes sospechosos o confirmados de Foc R4T en las plantas hospedantes bajo su cuidado;
 - b. ejecutar o cooperar en la ejecución de las acciones fitosanitarias y otras disposiciones reglamentarias incluidas en manuales o instructivos aprobados con base en este reglamento;
 - c. sufragar los costos de las acciones fitosanitarias que se dispongan, cuando éstas no tengan financiamiento con fondos del programa de emergencia;
- 2.3. Son derechos de los propietarios o tenedores de artículos reglamentados:
 - a. recibir compensaciones en efectivo o en especie por acciones fitosanitarias que impliquen la eliminación de hospedantes aparentemente sanos con valor económico, especialmente cuando el objetivo sea la erradicación de Foc R4T.

3. DE LA ORGANIZACIÓN PARA LA EMERGENCIA

Puede adoptarse un modelo de organización como el sugerido en el Plan de contingencia. Puede incluirse en este apartado lo referente a la comunicación, divulgación y capacitación sobre Foc R4T y las relaciones de cooperación. En los apartados V, VI y VII del plan de contingencia se incluye información sobre estos temas.

4. DE LA VIGILANCIA

4.1. De la vigilancia general

Ante la emergencia es recomendable organizar un sistema de vigilancia integrado por productores, ONG, institutos de investigación y transferencia de tecnología (extensionistas), instituciones académicas y otras instancias públicas y privadas para recopilar información sobre otros posibles brotes de la plaga (consultar la NIMF N° 6).

4.2. De los procedimientos de encuesta

Señalar las encuestas que se llevarán a cabo. Básicamente son las de detección (para detectar nuevos brotes), de delimitación para establecer los límites hasta donde se cree que se ha extendido Foc R4T y las de monitoreo para verificar las características poblacionales (abundancia)

del patógeno y su relación con el cultivo y demás hospedantes en el transcurso del tiempo. Tener en cuenta que los hospedantes también podrían ser objeto de encuestas. Puede disponerse la elaboración de instructivos para el desarrollo de las encuestas y para los procedimientos de muestreo. En el Plan de contingencia se incluye información al respecto. Los procedimientos de encuesta son útiles para establecer las áreas bajo cuarentena, las controladas, las reglamentadas y las zonas tampón. Pueden incluirse en este apartado las disposiciones relativas a la identificación y el diagnóstico de la plaga y los procedimientos para la notificación y registro de plagas.

5. DEL CONTROL DEL Foc R4T

Definir las estrategias de control a seguir para el brote y las técnicas de control que se emplearán. En el apartado "IX. Procedimientos de control" se desarrollan estos temas, también se incluye información adicional sobre los mismos en los apéndices.

6. OBSERVANCIA, VIOLACIONES, SANCIONES Y VIGENCIA DE LA REGLAMENTACIÓN

Debe señalarse la institución que será la encargada de vigilar y hacer que se cumpla el reglamento, así como tipificar las que se considerarán como violaciones al reglamento, las sanciones que serán aplicables para cada caso y por último la vigencia de la reglamentación.

APÉNDICE 7

PLANTILLA PARA INFORMAR AL PÚBLICO DE LA PRESENCIA, BROTE Y DISPERSIÓN DE LA RAZA 4 TROPICAL DE *Fusarium oxysporum* f. *sp. cubense*

La ONPF puede emplear esta plantilla para informar sobre los detalles de la detección o brote del Foc R4T en el territorio bajo su responsabilidad. Es recomendable que la comunicación contenga la información general sobre la detección o el brote e imágenes de calidad que muestren los síntomas de la enfermedad.

Nombre de la ONPF
Fecha de la notificación
Identidad de la plaga y localización de la incursión o brote
<input type="checkbox"/> Nombre de la plaga
<input type="checkbox"/> Descripción general del sitio o sitios de la incursión o brote, el alcance y el tiempo transcurrido desde la primera observación de los síntomas
<input type="checkbox"/> Descripción de la biología de Foc (ciclo de vida, método de reproducción y supervivencia)
Distribución geográfica
<input type="checkbox"/> Distribución de Foc R4T en el país y lista de países donde se ha reportado su presencia
Síntomas
<input type="checkbox"/> Descripción de los síntomas característicos y daños con ilustraciones.
<input type="checkbox"/> Descripción del organismo causante y cómo fue identificado.
Dispersión
<input type="checkbox"/> Descripción de los medios de dispersión natural (por ejemplo movimiento de material vegetal en forma natural, escorrentía) y artificial (transportado por el humano, por ejemplo movilización de material vegetal infestado, agua de riego, movilización de suelo en forma directa o en zapatos e implementos agrícolas) de Foc R4T
Monitoreo y control
<input type="checkbox"/> Acciones de monitoreo y control que se están realizando
<input type="checkbox"/> Información sobre otros controles químicos y germoplasma resistente utilizado en el exterior
<input type="checkbox"/> Motivación al público para notificar el Foc R4T
Datos de contacto
<input type="checkbox"/> Datos de contacto: dirección postal, electrónica, número de teléfono (preferentemente para llamadas gratuitas), fax
Otra información de utilidad
<input type="checkbox"/> Una lista de las plantas que se sabe que son hospedantes de la plaga
<input type="checkbox"/> Los factores ambientales que se sabe que afectan significativamente el desarrollo y la reproducción de la plaga
<input type="checkbox"/> Pérdidas económicas causadas por la plaga (con y sin controles)
<input type="checkbox"/> Daños ambientales causados por la plaga
<input type="checkbox"/> Variación en la reacción de germoplasmas a la plaga
<input type="checkbox"/> Estimación de los costos adicionales de control contra la plaga, e
<input type="checkbox"/> Identificación de probables áreas en peligro

NOTA: Las notificaciones a la CIPF, ORPF y otras ONPF sobre la presencia, brote y dispersión de Foc R4T, deben elaborarse conforme lo indica la NIMF N° 17 *Notificación de plagas*.

APÉNDICE 8

PROGRAMA DE CAPACITACIÓN

Tiempo estimado: 10 días

A. Temas generales

- a) Los bananos y plátanos: características generales e importancia económica
- b) Plagas y enfermedades de las musáceas
- c) La Marchitez por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*
 - *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*
 - Ciclo de la enfermedad
 - Introducción a la taxonomía de *Fusarium*
 - El complejo *Fusarium oxysporum*. Historia, *formae specialis* y grupos de compatibilidad vegetativa
 - EL manejo de la marchitez por *Fusarium*
 - Plan de contingencia para el Foc R4T

B. Temas de Aspectos Metodológicos (teoría y práctica)

- La Marchitez por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Foc R4T-
- Síntomas (diferenciación con los de otras plagas), hospedantes (reconocimiento)
- Protocolos para toma, conservación y envío de muestras
- Protocolos de aislamiento y conservación de los aislamientos
- Protocolos para la extracción de ADN de plantas y hongos
- Métodos para la detección molecular de fitopatógenos
- Diagnóstico por PCR de Foc R4T
- Procedimientos de encuesta
- Procedimientos de control
- Supervisión y evaluación
- Recopilación y procesamiento de la información - informes

APÉNDICE 9

ACCIONES DE ERRADICACIÓN-CONFINAMIENTO EN UN BROTE DE LA RAZA 4 TROPICAL DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

En este apéndice se presenta un planteamiento que podría servir de guía para definir medidas para erradicar (confinar) un brote de Foc R4T, a través de la integración de diferentes acciones. En el Cuadro 3 y en la Figura 11, se presentan detalles de los posibles pasos a seguir en relación con la zona considerada infestada y las de seguridad, tomando como ejemplo un brote que ocurrió hipotéticamente en un monocultivo de bananos.

El área controlada comprenderá además del área bajo cuarentena (zona infestada), las zonas B y C mencionadas en el Cuadro 3 y representadas en la Figura 11. En caso de que se dieran varios brotes, habrá que delimitar igual número de áreas bajo cuarentena y áreas controladas, considerando que eventualmente podría suceder una sobreposición. En estas áreas se aplican medidas fitosanitarias orientadas a la erradicación-confinamiento de la plaga, (por ejemplo la eliminación de hospedantes, la fumigación del suelo y el barbecho). Adyacente o en los alrededores del área controlada o de las áreas controladas, se deberán establecer sitios en los que se aplicarán medidas fitosanitarias orientadas a la contención de la plaga, por ejemplo el empleo de tapetes o pilas de desinfección de herramientas, calzado, maquinaria, la prohibición del movimiento hacia afuera de ciertos productos que pueden ser vías de la plaga. Lo anterior no impide que algunas de estas medidas también se apliquen al abandonar el perímetro de las Zonas A y B o después de estar en contacto con material que se considere infestado o contaminado.

Para efectos de una posible implementación de un programa alternativo al de erradicación-confinamiento (por ejemplo el de supresión-contención), es recomendable delimitar un área más amplia mediante un análisis de riesgos de la dispersión del patógeno por vías naturales a las que se pueda predecir su curso (por ejemplo la escorrentía). Esta área podría someterse a vigilancia periódica mediante procedimientos de encuestas específicas y vigilancia permanente mediante la vigilancia general, con objeto de detectar en forma temprana posibles brotes de Foc R4T. Así mismo, en esta área, podrían aplicarse medidas fitosanitarias encaminadas a evitar la dispersión de la plaga en forma artificial (en vías movilizadas por el hombre, por ejemplo, materiales de propagación). Por su carácter, esta área funcionaría como un “área reglamentada”.

Es importante señalar que, según el caso, deben considerarse la topografía del lugar, las condiciones meteorológicas (particularmente la lluvia) y las escorrentías (por cauces naturales y artificiales) para delimitar el área bajo cuarentena, el área controlada y el área reglamentada. El ejemplo que se ilustra en la 11 es sólo para efectos de visualización y se basa en un caso hipotético que ocurre en un monocultivo de banano y en un terreno plano. Cada brote debe ser valorado como un caso separado considerando los aspectos antes mencionados, así como otros que para cada caso se consideren pertinentes.

Cuadro 3 - Acciones de erradicación-confinamiento en un brote de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* según zonas

CARACTERÍSTICAS/ACCIONES	ZONA INFESTADA		ZONAS DE SEGURIDAD	
	Zona A		Zona B	Zona C
	Área bajo cuarentena			
	Área controlada			
Distancia a la redonda (m) desde la(s) planta(s) enferma(s)	Planta(s) enferma(s)*	7.5	20	80
Muestreo y análisis	Sí	Sí	Sí	No
Destruir plantas	Sí	Sí	Muy deseable	No
Fumigar el suelo	Sí	Sí	No	No
Eliminar malezas	Sí	Sí	Sí	Sí
Construir zanjas de 15-20 x 20 cm alrededor de las plantas infectadas con síntomas o diagnosticadas positivas.	Sí	Sí	NA	NA
Construir zanja de 15-30x30x30 cm alrededor del área a fumigar (área bajo cuarentena).	Sí	Sí	NA	NA
Restricción de movimiento de personal, equipos y animales al área	Sí	Sí	Sí	Sí
Restricción de movimiento de partes de plantas o suelo desde y hacia el área	Sí	Sí	Sí	Sí
Eliminación de plantas infectadas al confirmar diagnóstico en laboratorio de acuerdo a acciones de control	Sí	Sí	-	-
Establecer el período de cuarentena durante al menos 1 ½ año (ver apartado 9.1.1)	Sí	Sí	Muy deseable	No
Establecer barbecho	Sí	Sí	Muy deseable	No
Acciones continuas				
Vigilancia para la detección de síntomas	Sí	Sí	Sí	Sí
Toma de muestras para diagnóstico	Sí	Sí	Sí. Se muestrean plantas asintomáticas al azar	No
Implementación de medidas de erradicación-confinamiento para nuevos brotes. Reestablecimiento de áreas A, B y C.	Sí	Sí	Sí	Sí

*Es considerado el punto central de la zona infestada. NA: No aplica

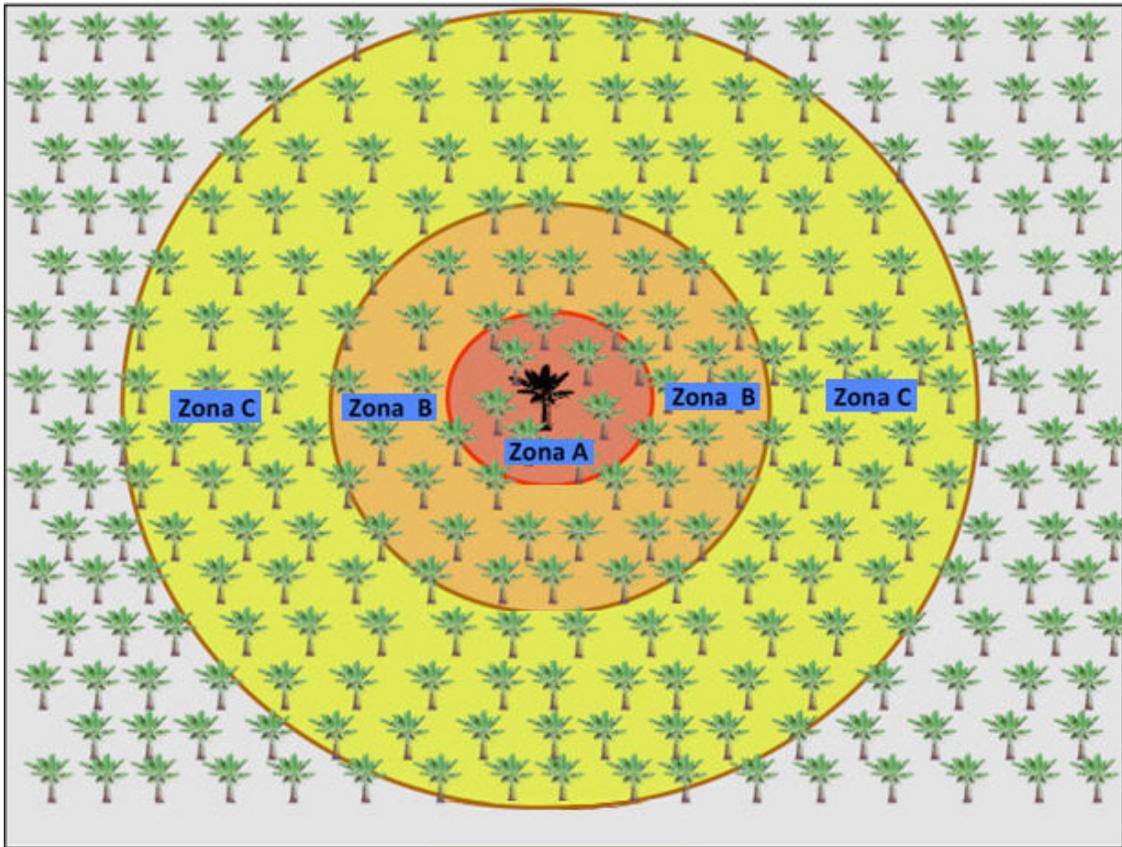


Figura 11. Diagrama representativo del área controlada alrededor de un brote de la raza 4 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en un monocultivo de bananos. La planta en negro en el centro indica la planta enferma. La zona A representa la zona donde habría mayor probabilidad de presencia de otras plantas infectadas, aun sin síntomas visuales. Para mayores detalles sobre las zonas consultar el Cuadro 3.

APÉNDICE IO

DISEÑO Y PLANIFICACIÓN DE ENCUESTAS CONTRA Foc R4T

La efectividad de los programas de erradicación, contención y/o supresión depende en gran medida de los procedimientos de encuesta que se implementen. El término “encuesta” en la NIMF No. 5 se define como “Procedimiento oficial efectuado en un período dado para determinar las características de una población de plagas o para determinar las especies de plagas presentes dentro de un área”. La NIMF No. 6 contempla tres tipos de encuestas específicas: 1) detección, 2) delimitación, y 3) monitoreo (ver apartado 8 de este plan). Para realizar estas encuestas se requiere de un plan, que tiene que ser aprobado por la ONPF (NIMF No. 6).

A continuación se describen en forma detallada los procedimientos para el diseño y la planificación de las encuestas específicas para Foc R4T, teniendo en cuenta los requerimientos de contenido establecidos en la NIMF No. 6, mencionados en el apartado 8.3 de este plan de contingencia. Gran parte de las especificaciones de estos procedimientos se han elaborado con base en McMaugh (2005)⁸

1. PROPÓSITOS DE LAS ENCUESTAS

Después de una incursión de Foc R4T, las encuestas específicas según corresponda, pueden llevarse a cabo, entre otros, para los propósitos siguientes:

- Demarcar en un área determinada hasta donde se ha dispersado Foc R4T, luego de haber detectado una incursión o brote (encuesta de delimitación);
- Detectar en un área amplia brotes de posibles incursiones múltiples de Foc R4T, o de brotes muy distantes entre sí; o, determinar un área como libre de Foc R4T después de una campaña de erradicación-confinamiento de la plaga (encuesta de detección);
- Evaluar el progreso del control de Foc R4T durante el programa de emergencia y confirmar que la plaga no se encuentre en otras áreas en peligro dentro del área reglamentada (encuesta de monitoreo).

2. IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA DE INTERÉS

Las encuestas estarán dirigidas contra *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 4 Tropical en cualquier estado de vida con capacidad patogénica, ya sea infectando hospedantes o en otros medios (por ejemplo en suelo y en agua).

⁸ McMAUGH, T. 2005. Guidelines for surveillance for plant pests in Asia and the Pacific. Canberra, Australia. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). Disponible en Internet: <http://aciarr.gov.au/publication/MN119>

3. ALCANCE DE LAS ENCUESTAS (ÁREA GEOGRÁFICA)

Las encuestas de delimitación se realizarán desde el sitio donde se detectó la incursión o brote (planta o plantas infectadas), hacia afuera en diferentes direcciones y su extensión geográfica estará determinada, entre otros aspectos, por: a) el área perimetral del brote hasta donde ya no se encuentre el patógeno, tanto en hospedantes como en otros medios (suelo, agua, rastros); b) las áreas con alta probabilidad de haber sido infectadas a partir del brote o las áreas que pudieron haber sido fuente del inóculo que ocasionó el brote, todo esto determinado mediante un análisis de riesgo de plagas.

Las encuestas de detección podrán realizarse en un área amplia, por ejemplo todo el país o una región dentro de un país que se considere con probabilidad de haber estado expuesta a Foc R4T, o un área bajo control oficial (por ejemplo un área reglamentada) que se requiera declarar como libre de la plaga, por ejemplo después de una campaña de erradicación-confinamiento.

Las encuestas de monitoreo se realizarán en el área controlada para verificar los resultados de los procedimientos de erradicación-confinamiento de Foc R4T y en toda el área reglamentada a fin de verificar la eficacia de las medidas de contención puestas en práctica.

Para la confiabilidad de los resultados de la vigilancia es imprescindible contar con una descripción detallada de la distribución geográfica de los hospedantes en el área o áreas donde se van a desarrollar las encuestas específicas. En el Apéndice IV se incluye una lista ampliada de hospedantes de Foc R4T. La distribución geográfica debería considerar la importancia de los hospedantes (susceptibilidad), riesgos de exposición a la plaga por diversas vías (naturales y artificiales), prácticas culturales (por ejemplo riego, uso de maquinaria agrícola), orígenes y destinos de material de propagación, accesibilidad de las áreas donde se cultivan o crecen, entre otros.

4. PERÍODO DE REALIZACIÓN

La encuesta de delimitación deberá realizarse inmediatamente después de la confirmación del diagnóstico. Deberán aplicarse encuestas de delimitación a brotes nuevos que se detecten en el transcurso del programa de erradicación-confinamiento, ya sea que estos brotes hayan sido detectados mediante la vigilancia general u otro tipo de encuestas específicas (monitoreo, detección).

Una encuesta de detección podrá programarse después de la confirmación del diagnóstico, y cubrirá áreas bajo sospecha de haber estado expuestas a la plaga y que no se hayan cubierto con la encuesta de delimitación. De considerarse necesario, programar nuevas encuestas de detección para áreas amplias al inicio y al final de la época lluviosa, pues se ha observado que en estos períodos los síntomas son más evidentes debido a las condiciones de estrés que padecen las plantas. Por la similitud de síntomas de las diferentes razas de *Fusarium* en banano, puede ser necesario poner en práctica una técnica de discriminación para Foc R4T o un procedimiento sistemático de selección o combinación de muestras, a fin de no realizar diagnósticos diferenciales a todos los brotes de Foc detectados.

Las encuestas de monitoreo pueden realizarse considerando la fenología de la planta, el ciclo del patógeno, su forma de distribución en el espacio (agregada), el clima y las prácticas agronómicas.

Se ha observado que la aparición de síntomas de *Fusarium* está altamente asociada a la etapa de floración y fructificación, probablemente esto sea más evidente cuando las plantas están sometidas a condiciones de estrés; así, la incidencia de la plaga será más notoria al inspeccionar plantas que se encuentren en este estado fenológico y durante los períodos de inicio y fin de las lluvias. La escorrentía originada por las lluvias arrastra fracciones de rastrojos infestados de plantas hospedantes, suelo contaminado con estructuras reproductivas del hongo, o las propias estructuras desprendidas de cualquier sustrato suspendidas en el agua, lo que puede dar origen a nuevas infecciones y nuevos brotes, o a depósitos de estas estructuras reproductivas en lugares de acumulación e infiltración de las escorrentías; la búsqueda del patógeno fuera de su hospedante puede ser más eficaz durante el período de lluvias. El deshoje y el encintado de las frutas son prácticas de manejo del cultivo que ofrecen momentos apropiados para identificar plantas con síntomas de *Fusarium* (el deshoje se realiza por lo general a intervalos de 15 días en plantaciones comerciales, y el encintado de los racimos semanalmente, según emergen para poder precisar la fecha de cosecha). Por tanto, la periodicidad de las encuestas de monitoreo puede estar en relación con los factores antes mencionados y con las características del brote. En general, tres a cuatro encuestas de monitoreo anuales podrían ser suficientes para verificar las características de la plaga durante el programa de erradicación.

5. INDICACIÓN DE LA BASE ESTADÍSTICA

Le ejecución de encuestas específicas contra Foc R4T después de confirmado un brote debería considerarse por un período largo (al menos de diez años) mediante una inspección de la mayoría de plantas hospedantes cultivadas, espontáneas y silvestres en el área considerada bajo riesgo, esto debido a que la plaga puede permanecer viable en el suelo por un largo período. Por otro lado, debido a las características del cultivo, su fenología, la fenología de la plaga y la distribución de sus brotes, la toma de muestras para prueba en hospedantes aparentemente sanos no es factible desde el punto de vista práctico. Si los recursos son limitados, la alternativa consistirá en implementar un sistema de muestreo orientado a detectar la plaga (seleccionando los sitios con más probabilidad de ser infestados). Debido a esto, este sistema no se presta para el análisis estadístico, ya que no todos los lugares donde podría encontrarse la plaga tienen la misma oportunidad de ser seleccionados para la encuesta.

En el apartado “Selección de los lugares a encuestar y cálculo del tamaño de la muestra”, se describe un sistema de muestreo para encuestas de detección y delimitación que confiere mayor oportunidad de ser examinados a los lugares con más probabilidad de ser infestados por la plaga. El examen de todos los lugares considerados como muy probables de haber estado expuestos a la plaga podría arrojar resultados bastante confiables sobre la condición de Foc R4T en un área de interés determinada. Es preciso mencionar que uno de los supuestos que se tienen con este procedimiento, es que los criterios empleados en la selección de las áreas o localidades a inspeccionar, están correlacionados con una mayor probabilidad de encontrar brotes de Foc R4T, si estuviera presente. Si se estimara conveniente, en particular para encuestas de detección, podría incluirse un procedimiento completamente al azar para seleccionar para inspección determinado porcentaje o número de áreas.

Para las encuestas de monitoreo, cuando su objetivo sea determinar la incidencia de la plaga o verificar la eficacia de las medidas de erradicación-confinamiento o supresión-contención puestas

en práctica, convendría que se considerara una base estadística para los procedimientos, por ejemplo los de muestreo a un nivel de confianza elegido, selección y número de sitios, frecuencia de las encuestas, etc. Para esto puede partirse de una incidencia estimada o de diseño de la plaga en el área. En McMaugh (2005) se incluyen procedimientos estadísticos que pueden emplearse para calcular el tamaño de la muestra en encuestas de detección y monitoreo (es probable que se requiera de la asesoría de un experto en estadística para elaborar un diseño apropiado).

6. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA

6.1 *Selección de los lugares a encuestar y cálculo del tamaño de la muestra*

Para efectos de interpretación, el área a abarcar por una encuesta estará acorde con el concepto de “área”, definido en la NIMF No. 5: *“un país determinado, parte de un país, países completos o partes de diversos países, que se han definido oficialmente”*. A partir de este concepto, podrá partirse para hacer las divisiones (por ejemplo, estados, departamentos, provincias, distritos, entre otros) hasta llegar a la división política territorial más pequeña (del país o países) que pueda identificarse y delimitarse, particularmente en un mapa, sea esta de carácter rural o urbano; a esta área podrá denominarse como “localidad”. Una “localidad” puede contener uno o más “lugares” a encuestar, por ejemplo: lugares de producción, campos, plantas de traspatio, lugares con hospedantes silvestres, lugares con plantas voluntarias de musáceas de frutos comestibles o lugares con musáceas u otros hospedantes ornamentales. Todos los planes de encuesta deben considerar la realización de las encuestas, al menos, hasta el nivel “lugares”, ya que este es un nivel límite al cual una encuesta puede realizarse. Si los lugares son muy grandes y no es posible inspeccionarlos directamente en su totalidad, probablemente convenga hacer otra división que coincida con los “sitios” que se inspeccionarán, estos “sitios” podrán ser parte o partes del lugar (campos, o partes de campos tales como cuadrados, triángulos, círculos o rectángulos), macollas de plantas, hileras del cultivo, transectos (con dirección y sentido sobre hospedantes). Además, podrá haber una última subdivisión o “punto de muestreo”, este consistirá en la parte de la planta donde se hará el reconocimiento visual de los síntomas de la plaga en los tejidos, que también podrá ser la parte de la planta donde se tome(n) la(s) muestra(s) para remitirla(s) al laboratorio. Cuando se tomen muestras de suelo o de cualquier otro material para análisis en laboratorio, el “punto de muestreo” será el punto geográfico en el cual se tomen dichas muestras.

6.1.1 **Procedimientos para la selección de lugares y sitios a encuestar en encuestas de delimitación**

Para las encuestas de delimitación, debido a que están orientadas a detectar la plaga, es recomendable emplear el método dirigido para la selección de los lugares o sitios a encuestar, escogiendo aquellos con mayor probabilidad de haber sido infestados. Por esta razón, puede decirse que este método está deliberadamente sesgado a favor del hallazgo de la plaga.

Para determinar las localidades y lugares con mayor probabilidad de ser infestados debido a incursiones iniciales de Foc R4T tener en cuenta, entre otros, los criterios siguientes:

- El área circundante al brote (donde se encuentra la planta o plantas enfermas y con síntomas) a una distancia de 7.5 m de la planta o plantas enfermas y con síntomas tiene una

alta probabilidad de estar infestada con cuerpos reproductivos del hongo y por tanto, las plantas hospedantes ubicadas dentro de esta área;

- El área circundante al brote (donde se encuentra la planta o plantas enfermas y con síntomas) a una distancia de 20 m desde la planta o plantas enfermas y con síntomas, es muy probable que esté infestada con la plaga. Si el terreno es inclinado, se sugiere calcular la distancia en relación con la pendiente del terreno (por ejemplo si la pendiente del terreno es de 50%, la distancia hacia la parte baja podría ser de 30 m, mientras que hacia parte alta de 10 m, en estos casos la forma tenderá a ser elíptica en lugar de circular);
- El área circundante al brote (donde se encuentra la planta o plantas enfermas y con síntomas) a una distancia de 80 m desde la planta o plantas enfermas y con síntomas se considera con probabilidad de estar infestada con la plaga. Si el terreno es inclinado, para delimitarla emplear el mismo procedimiento indicado en la viñeta anterior;
- Las áreas de la cuenca con hospedantes, situadas aguas abajo del brote, que puedan recibir desde el cauce, aguas desbordadas o extraídas, ya sea por fenómenos naturales (por ejemplo inundaciones por exceso de lluvia) o artificiales (por ejemplo agua de riego) se consideran con probabilidad de estar infestadas con la plaga. En la Figura 12 se representa un brote hipotético de este tipo;
- Si el brote está cerca de un cauce, existe la posibilidad que sea un brote originado a partir de otro brote ubicado aguas arriba, por lo que, en estos casos, todas las áreas de la cuenca o subcuenca aguas arriba tendrían alguna probabilidad de contener un brote y deberían ser monitoreadas mediante encuestas de delimitación, detección o monitoreo. En la Figura 13 se presenta un brote hipotético de este tipo. Tener en cuenta que si un brote ocurre en el colector principal de la cuenca, es prácticamente toda la cuenca la que debería considerarse como área con posibilidades de contener brotes aún no detectados, por lo que tendría que establecerse como área reglamentada toda su extensión. No olvidarse también de considerar la investigación sobre los antecedentes del brote (examen retrospectivo de las posibles causas del brote);
- Si el o los brotes se ubican cerca de caminos o carreteras, las áreas con hospedantes en la ruta o rutas de estos caminos o carreteras podrían considerarse como áreas con probabilidad de haber sido infectadas (por ejemplo para caminos a pie podría ser hasta 2 Km, para caminos rurales con paso de vehículos hasta 20 Km y para carreteras hasta 60 Km por la red vial, en todas las direcciones donde exista una carretera);
- Las áreas con las que se haya compartido trabajadores, el uso de maquinaria agrícola, o se haya intercambiado (movilizado en una o en ambas direcciones) materiales de propagación de banano con el lugar de producción o campo donde ocurra la incursión o brote. Éstas áreas deben considerarse con probabilidad alta de estar infestadas.

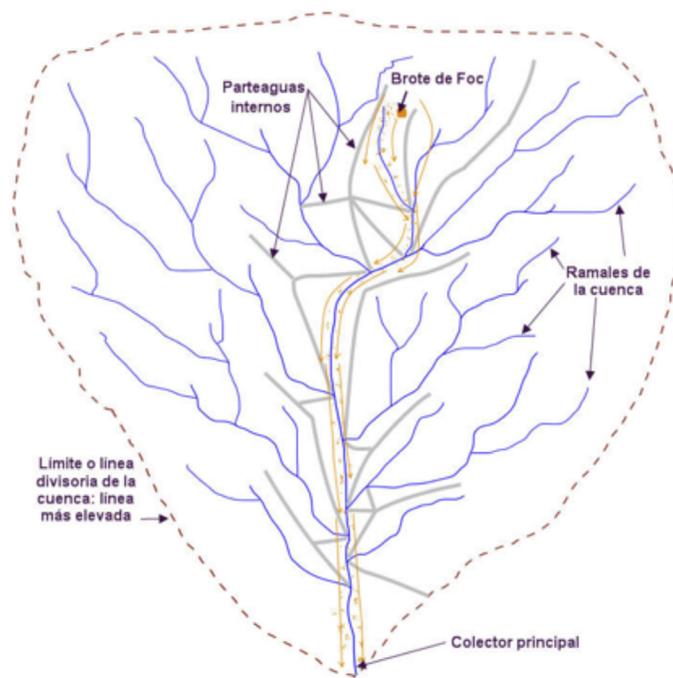


Figura 12. Brote hipotético de Foc R4T en la parte superior de una cuenca y las áreas aguas abajo (entre flechas anaranjadas) pueden considerarse con mayor probabilidad de presentar brotes secundarios de la plaga. (Adaptado de Wikipedia, Alfredobi).

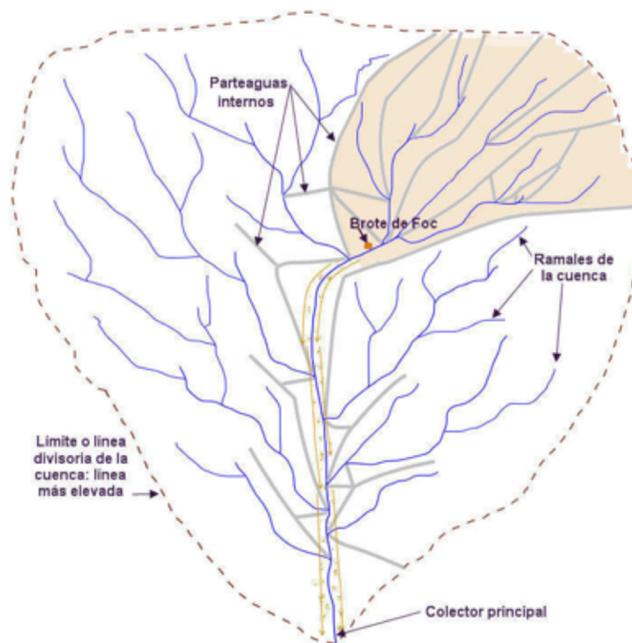


Figura 13. Brote hipotético de Foc R4T cerca del cauce de un río, toda la subcuenca superior (parte sombreada) y las áreas aguas abajo (entre flechas anaranjadas) pueden considerarse con mayor probabilidad de presentar brotes de la plaga. (Adaptado de Wikipedia, Alfredobi).

Teniendo en cuenta los criterios antes señalados y otros que se consideren válidos, trazar sobre un mapa con un escala grande (1:25,000 a 1:50,000) que permita observar los detalles de interés (calles, caminos, ríos, riachuelos y de ser posible curvas de nivel), un esquema del área total que podría someterse a encuestas. De toda esta área debe recopilarse información sobre las áreas con presencia de plantas hospedantes (en especial de la familia Musaceae), sean cultivadas (para distintos fines, por ejemplo para consumo o para ornato) o silvestres (musáceas ornamentales, guineo con semilla o plantas voluntarias de bananos o plátanos comestibles). De no estar disponible la información, es necesario recopilarla directamente en el campo y mapearla. Tener en cuenta que si este trabajo consume mucho tiempo, las encuestas de delimitación en las áreas circundantes al brote o brotes deberían hacerse sin retraso mediante la inspección del 100% de las plantas, teniendo en cuenta los procedimientos para la inspección que se describen más adelante para lugares o sitios a encuestar.

Una vez recopilada la información, clasificar las áreas con presencia de hospedantes según sea la probabilidad de que estén infestadas (por ejemplo alta, media y baja). Las áreas con alta probabilidad de presencia de brotes de la plaga deberían ser inspeccionadas en su totalidad, así como las plantaciones comerciales con probabilidad media. Por lo general, las plantaciones comerciales, son de variedades resistentes a las razas 1 y 2 de Foc [bananos tipo Cavendish (AAA) y Plátano (AB)]. Los huertos de subsistencia, el banano o plátano en asocio con otros cultivos (por ejemplo con café) y huertos de traspatio con probabilidad media podrán inspeccionarse en forma parcial mediante el muestreo (tener en cuenta que en estos huertos se encuentran variedades susceptibles a las razas 1 y 2 de Foc, por lo que las muestras para confirmación en laboratorio podrían aumentarse en forma significativa). Para evitar un sesgo excesivo que pueda tener un efecto negativo en cuanto a los objetivos de la encuesta, es conveniente agregar localidades seleccionadas mediante un procedimiento completamente aleatorio (por ejemplo podría recurrirse a la selección de un número determinado de localidades a partir de una lista completa de las unidades territoriales más pequeñas del área total a encuestar), el número de estas localidades podría fluctuar entre 5 y 10% de las elegidas con criterios de mayor probabilidad de estar infestadas por la plaga.

Si por alguna razón no es posible considerar todas las áreas identificadas para realizar la encuesta de delimitación, podría emplearse un método aleatorio estratificado para determinar las muestras a inspeccionar en todas las áreas, teniendo en cuenta las probabilidades de infestación (las áreas con mayor probabilidad de infestación, así como los huertos comerciales deberían tener mayor proporción en el total general de muestras). Las áreas a inspeccionar en cada estrato deberían seleccionarse al azar, por ejemplo: 1) asignar un código a cada área; 2) seleccionarlas mediante un método que garantice aleatoriedad, por ejemplo, la generación de números aleatorios⁹. En zonas extensas de cultivo la selección de áreas a inspeccionar puede facilitarse comparando el mapa de áreas de cultivo con el mapa de división política; las divisiones políticas más pequeñas podrán emplearse para seleccionar y localizar en mejor forma el área a inspeccionar, en este caso se codificarán estas divisiones para someterlas al proceso de selección al azar. No obstante lo anterior, conviene mencionar que el registro (inventario) de lugares de producción de banano y plátano es el que ofrece información más detallada, por lo que si existe, debería de preferirse para la selección de las áreas a inspeccionar. En todo caso debería procurarse someter a inspección al

⁹ En MS Excel 2003 puede generarse una cantidad (muestra) de números aleatorios copiando en igual número de celdas la fórmula =ALEATORIO()*K, donde "K" coincide con el número total de áreas en cada estrato (puede copiarse esta fórmula en un número de celdas mayor que la muestra para eliminar los números que se repitan y utilizar siempre los primeros números hasta completar la muestra). No escribir nada entre los paréntesis. Antes de calcular las muestras, tienen que haberse numerado las áreas en cada uno de los estratos desde uno hasta "K". Si se desea continuar trabajando en MS Excel con los datos desplegados, a fin de evitar un recálculo automático, abrir otro libro de Excel y copiar estos datos.

menos el 25% de la superficie total de cultivo no comercial y el 50% de la superficie total de cultivo comercial en el área considerada. Las áreas cercanas al brote (comerciales y no comerciales), con probabilidad alta de estar infestadas deberían inspeccionarse en un 100%.

6.1.2 Procedimientos para el cálculo del tamaño de la muestra en lugares y sitios a encuestar en encuestas de detección

Las encuestas de detección de la plaga en áreas amplias podrá dirigirse particularmente a plantaciones comerciales de banano y plátano. Como es muy probable que no pueda realizarse una inspección en todos los lugares y plantaciones identificadas, podrá recurrirse a un proceso aleatorio o sistemático o a una combinación de ambos, para seleccionar una muestra de los lugares o sitios a encuestar. Los procedimientos de selección de lugares sugeridos para las encuestas de delimitación podrían emplearse para estas encuestas. En este caso debería procurarse someter a inspección al menos el 5% de la superficie total del cultivo no comercial y el 15% de la superficie total de cultivo comercial en el área considerada para la encuesta. Las encuestas de detección en áreas amplias podrían aprovecharse para recopilar información con fines de mapeo de los hospedantes. Consultas con los administradores de los lugares de producción o con personas que hayan recorrido los campos (por ejemplo los trabajadores) pueden proporcionar información sobre posibles brotes o sobre nichos específicos donde la plaga podría encontrarse.

Si en las encuestas de detección se requiere determinar la ausencia de la plaga en el área o en huertos a un nivel de confianza determinado, se necesitará de un diseño de encuesta que prevenga en lo posible los sesgos, a fin de calcular el tamaño de la muestra a ese nivel de confianza. A continuación se describe un procedimiento obtenido de McMaugh (2005) para calcular el tamaño de la muestra en encuestas cuyo propósito sea la detección de la plaga, esté o no esté presente en el área. Es oportuno aclarar que este procedimiento no es aplicable para calcular el tamaño de muestra a fin de medir la incidencia de la plaga, por ejemplo el porcentaje promedio de plantas (matas o macollas) visiblemente enfermas de Foc R4T en un área.

En este caso se asume que existe una interrelación entre el tamaño de la muestra, el nivel de confianza y el umbral de detección. La confianza se expresa en porcentaje y el umbral de detección en una escala de valores entre cero y uno. Se recomienda el empleo de la fórmula cuando se estime que la incidencia (real o actual) de la plaga es baja.

Fórmula:

$$\text{Nivel de confianza} = 1 - (1 - \text{incidencia de diseño})^{\text{tamaño de muestra}}$$

Al despejar aplicando logaritmos se tiene:

$$\text{Tamaño de muestra} = \frac{\log(1 - \text{nivel de confianza})}{\log(1 - \text{incidencia de diseño})}$$

En el Cuadro 4 se presentan tamaños de muestra calculados a diferentes niveles de confianza e incidencias de diseño.

Los valores pueden obtenerse en MS Excel. Para una incidencia de diseño del 1% (0.01) y con un nivel de confianza del 95% (0.95), la fórmula es:

$$=(\text{LOG}((1-0.95),10))/(\text{LOG}((1-0.01),10))$$

Si la precisión del método de muestreo es menor que 0.95, es necesario ajustar el tamaño de la muestra. Para el ajuste puede emplearse la siguiente fórmula.

$$\text{Tamaño de muestra ajustado} = (\text{tamaño de muestra calculado}) / \text{precisión del método}$$

Cuadro 4 - Tamaños de muestra calculados sin tomar en cuenta la precisión del método de muestreo¹⁰

Confianza	1-Confianza	Incidencia de diseño	1- Incidencia de diseño	Tamaño de muestra
0.95	0.05	0.01	0.99	298
0.95	0.05	0.02	0.98	148
0.99	0.01	0.01	0.99	458
0.99	0.01	0.02	0.98	228
0.95	0.05	0.001	0.999	2,994
0.95	0.05	0.002	0.998	1,946
0.99	0.01	0.001	0.999	4,603
0.99	0.01	0.002	0.998	2,300

Si la detección es temprana, se podrá asumir que la incidencia de Foc R4T será muy baja en los primeros meses o años después de la incursión; no obstante, podría darse una dispersión muy amplia si hay condiciones para que esto ocurra en los sitios de los brotes iniciales (abundancia de hospedantes, movilización de material de propagación y condiciones climáticas, topográficas, edafológicas e hidrográficas favorables). Todas las estimaciones que se hagan deben fundamentarse en evidencias documentales, teniendo en cuenta la biología de la plaga. Así, será necesario hacer una predicción, de acuerdo al caso, de la incidencia de la plaga (incidencia de diseño) que puede estar ocurriendo al momento del inicio de la encuesta. Por el método de detección empleado para Foc R4T (mediante sintomatología), esta incidencia puede expresarse como porcentaje de los lugares o sitios de muestreo en el área de la encuesta, con plantas hospedantes que presentan síntomas visibles de la plaga.

6.1.2.1 Estrategias para realizar las inspecciones en los lugares o sitios en encuestas de detección

- a) **Cuando se inspeccionan todas las plantas del lugar o sitio (sin muestreo):**
- Guarda griega o en bandas. El desplazamiento se realiza por las “calles” (entre las hileras de plantas) en los sentidos según se indica en las Figuras 14 y 15. Es necesario asegurarse que pueden observarse todas las plantas existentes entre dos recorridos simultáneos. Como ya se ha señalado en el apartado 6.1.1, si los sitios forman parte de un lugar a en-

¹⁰ Tomado de: McMAUGH, T. 2005. Guidelines for surveillance for plant pests in Asia and the Pacific. Canberra, Australia. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), pp. 52. Capítulo 1. Disponible en Internet: <http://aciarc.gov.au/files/node/2311/MN119%20Part%201.pdf>; o, <http://aciarc.gov.au/publication/MN119>; o, http://aciarc.gov.au/files/node/2311/mn119_guidelines_for_surveillance_for_plant_pests_16233.pdf

cuestar, podrá emplearse un procedimiento aleatorio para su selección, por ejemplo usando Microsoft Excel o mediante el empleo de otras herramientas, por ejemplo la generación de números al azar mediante una calculadora o una tabla impresa de números aleatorios. Al observar una o varias plantas con síntomas proceder según el procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos” que se describe más adelante.

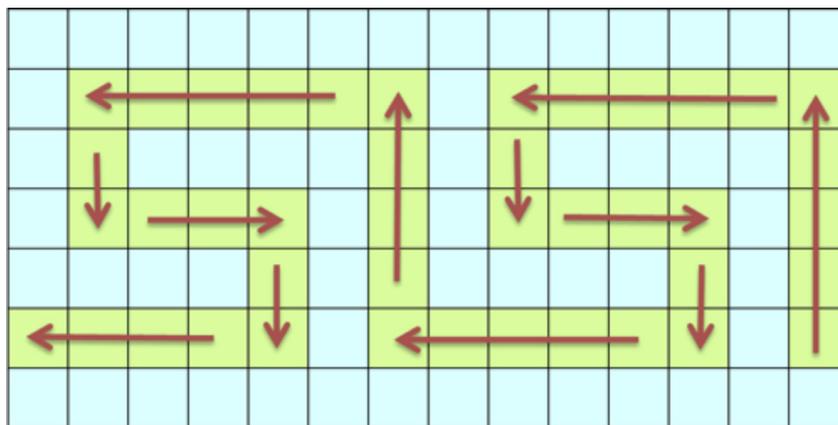


Figura 14. Sistema de inspección en “Guarda griega” de plantaciones de banano o plátano para la detección de Foc R4T.

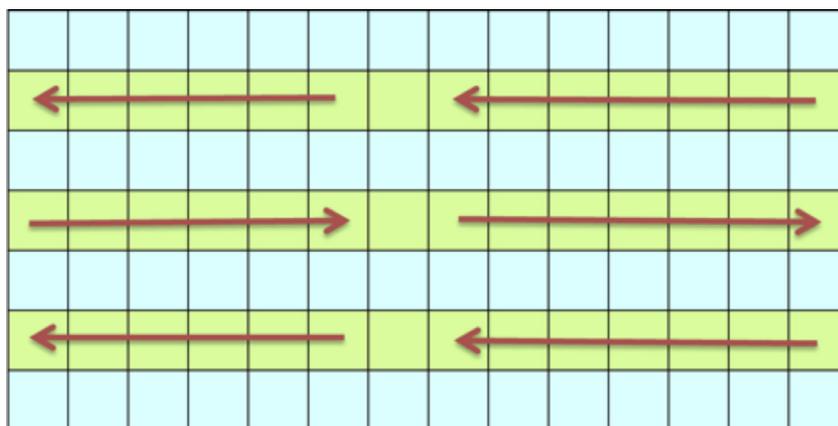


Figura 15. Sistema de inspección en bandas de plantaciones de banano o plátano para la detección de Foc R4T.

b) Cuando no se inspeccionan todas las plantas del lugar o sitio (con muestreo):

- ❖ Muestreo en “W”. Esta estrategia es apropiada cuando no se requiere examinar todas las plantas del lugar o sitio seleccionado y hay facilidad de desplazamiento y observación en todas las direcciones dentro de la plantación. Se observarán, en busca de síntomas de la plaga, todas las plantas que sea posible visualizar a ambos lados de las líneas de recorrido en “W” (ver Figura 16). Si el campo va a ser muestreado más de una vez, para

que todas las plantas tengan la misma oportunidad de ser inspeccionadas, podrá rotarse el esquema “W” o comenzarlo en forma desfasada (por ejemplo unos metros más adelante), aunque siempre se tendrá una escasa superposición. Al observar una planta con síntomas, el inspector deberá realizar a distancia, un examen con más detenimiento a fin de determinar si corresponden con los de Foc, si lo confirma, procederá tal como se indica en el procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos” que se describe más adelante.

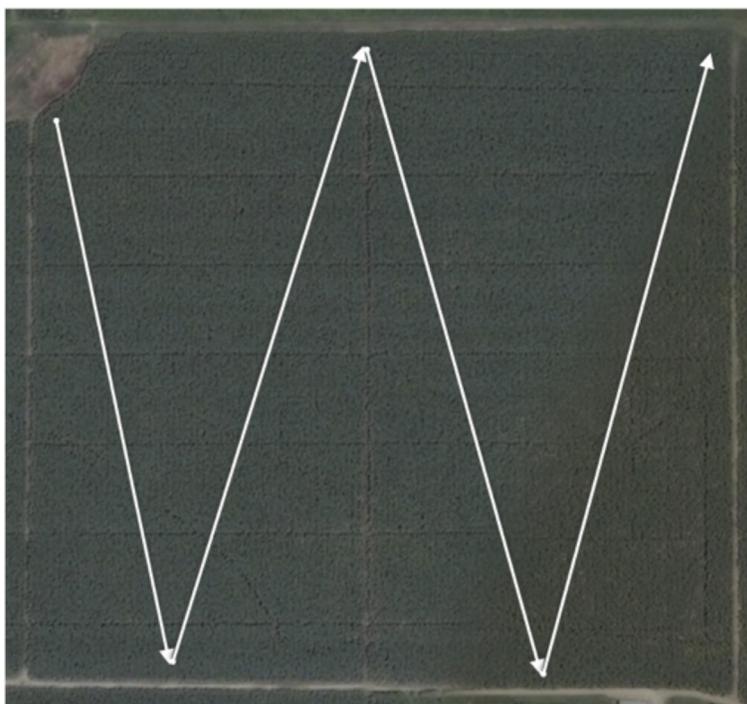


Figura 16. Esquema de la estrategia de inspección en “W” para encuestas de detección de Foc R4T en un sitio cultivado de banano.

6.1.3 Procedimientos para el cálculo del tamaño de la muestra en lugares o sitios a encuestar con encuestas de monitoreo

Cuando el objetivo del monitoreo sea verificar la eficacia de las medidas de erradicación-confinamiento o supresión-contención aplicadas, o determinar la incidencia de la plaga, convendrá considerar una base estadística para los procedimientos de encuesta; por ejemplo: el muestreo para un nivel de confianza elegido, la frecuencia de las encuestas y el establecimiento de los lugares o sitios a encuestar; pues en estos casos interesa tanto determinar con alguna certidumbre la eficacia de las medidas (grado de supervivencia de la plaga después de un tratamiento), como la incidencia de la plaga en un momento o en un período determinado. Debido a que en muchos casos probablemente no será posible inspeccionar todos los lugares, o inspeccionar cada uno de ellos en forma completa, podrá recurrirse a escoger un subconjunto de lugares, sitios o plantas para realizar la inspección. Para eliminar los sesgos en esta selección, todos los lugares o sitios u hospedantes deben de tener igual probabilidad de ser escogidos.

Un método que reduce la influencia humana de sesgo en la selección de sitios u hospedantes es el muestreo aleatorio; no obstante, si se prevé que con este método existe la posibilidad de dejar fuera algunos lugares u hospedantes de interés, puede combinarse con otro método, tal como

el sistemático. Debe tenerse en cuenta que si existe amplia variación en el número de sitios y hospedantes por localidad, el muestreo de un determinado número de sitios por localidad puede ser que no permita estimar la incidencia verdadera (actual) de la plaga; en este caso, convendrá introducir un índice de ponderación (peso) para las localidades con más sitios o para los lugares con más hospedantes. El muestreo sistemático implica el mapeo del sitio y encuestado a intervalos regulares de distancia, área o planta hospedante. Por ejemplo, el examen de hileras o surcos de plantas a cada veinte hileras o surcos; cada tercer campo o cada tercer lugar de producción en una ruta de muestreo; cada décimo cuadrante de cien metros cuadrados de una rejilla de cuadrantes numerada ordinalmente de un lugar o campo de producción; recorridos paralelos (transectos) en un sitio. En caso de que la encuesta de monitoreo se repita una o más veces en los mismos lugares, para evitar que se examinen los mismos sitios o las mismas plantas, puede moverse su punto de inicio cada vez que la encuesta se realice.

Para calcular la proporción de los huertos infestados, o la proporción de plantas (macollas) infestadas de un huerto por la plaga a un determinado nivel de confianza, se necesitará de un diseño de encuesta que prevenga en cuanto sea posible los sesgos, a fin de calcular el tamaño de la muestra a un nivel de confianza determinado. A continuación se describe un procedimiento obtenido de McMaugh (2005) para calcular el tamaño de la muestra en encuestas de monitoreo.

En el caso de las encuestas de monitoreo se conoce que la plaga está presente en el área de la encuesta; por lo tanto, es posible que haya datos disponibles o anécdotas sobre la incidencia de la plaga en algunos puntos. Por otra parte, es probable que sea necesario tener en cuenta la relación entre el tiempo de la encuesta y el ciclo de la plaga y del cultivo y otras condiciones que puedan afectar la incidencia, tales como las condiciones ambientales. Todos los elementos antes mencionados pueden ser útiles para establecer una incidencia esperada (incidencia de diseño).

La fórmula que se propone se usa cuando se escoge el 95% de confianza y la incidencia esperada es mayor que el 2%. Se emplea la variable “Z” que se deriva de la distribución normal y que posee un valor de 1.96 para un 95% de confianza (empleado en la fórmula que se presenta). Nótese que para el 99% de confianza “Z” tiene un valor de 2.58 y para 90% de 1.65. La amplitud del intervalo de confianza y la incidencia de diseño se expresan en decimales entre cero y uno para la fórmula siguiente:

Tamaño de muestra $= (Z/\text{ancho del intervalo de confianza})^2 \times \text{incidencia de diseño} \times (1 - \text{incidencia de diseño})$

Por ejemplo, cuando el ancho del intervalo de confianza es de 5% y el de la incidencia de diseño de la plaga es del 20%, el tamaño es:

$$\text{Tamaño de muestra requerido} = ((1.96/0.05)^2 \times 0.2 (1-0.2)) = 246$$

Este mismo resultado puede obtenerse con MS Excel, empleando la fórmula siguiente:

$$\text{Tamaño de muestra} = ((1.96/0.05)^2 * 0.2 * (1-0.2))$$

En el Cuadro 5 se presentan ejemplos para cálculos de tamaños de muestra a un nivel de confianza del 95% y a diferentes incidencias de diseño.

Cuadro 5 - Ejemplos de cálculos de tamaños de muestra realizados con niveles de confianza del 95%¹¹

Amplitud del intervalo de Confianza ¹	Incidencia de diseño					
	2% o 98 % ^{**}	5% o 95 %	10% o 90 %	20% o 80 %	30% o 70%	50%
± 1%	753	1,825	3,457	6,147	8,067	9,604
± 2%	188	456	864	1,537	2,016	2,401
± 5%	30	73	138	246	323	384
± 7.5%	13	32	61	109	143	170
± 10%	8	18	35	61	81	96
± 15%	3	8	15	27	35	42
± 20%	2	5	9	15	20	24

Notas:

¹Estos valores de porcentajes son una función del porcentaje de la incidencia de diseño. Por ejemplo, un ancho de intervalo de confianza de 5% en derredor a una incidencia de diseño del 20% significa que el ancho es igual al 5% de 20%, esto es ± 1%. Esto significa también que el intervalo de confianza se extiende entre 19% y 21%.

^{**} El tamaño de muestra es el mismo para una incidencia de diseño de 2% y 98% porque la fórmula usada para calcular el tamaño de muestra implica la multiplicación de la incidencia de diseño por 1 – la incidencia de diseño, esto significa que las parejas que suman 100% requieren del mismo número de sitios (unidades) de muestreo.

6.1.3.1 Estrategias para la inspección en los lugares o sitios para encuestas de monitoreo

Para las inspecciones de los lugares o sitios en huertos comerciales puede recurrirse a estrategias tales como las que se describen a continuación.

a) Cuando se inspeccionan todas las plantas del lugar o sitio seleccionado:

- Guarda griega o en bandas. Proceder de la misma forma como se ha señalado para este caso en las encuestas de detección. Al observar una o varias plantas con síntomas proceder según el procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos” que se describe más adelante.

En función del marco muestral de todos los “lugares” (unidades productivas) o de todos los “sitios” (campos, parcelas, lotes) de una o varias localidades podrá hacerse un muestreo aleatorio para estimar la incidencia de Foc R4T en el área de la encuesta de monitoreo. Lo recomendable es contar con una lista completa de todos los “lugares” o “sitios” del área de la encuesta (si hay mucha desigualdad en el tamaño de los sitios, podrá ser conveniente una estratificación por tamaño).

¹¹ Tomado de: McMAUGH, T. 2005. Guidelines for surveillance for plant pests in Asia and the Pacific. Canberra, Australia. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). pp. 55. Capítulo 1. Disponible en Internet: <http://aciar.gov.au/files/node/2311/MN119%20Part%201.pdf>; o, <http://aciar.gov.au/publication/MN119>; o, http://aciar.gov.au/files/node/2311/mn119_guidelines_for_surveillance_for_plant_pests_16233.pdf

b) **Cuando no se inspeccionan todas las plantas del lugar o sitio seleccionado:**

- Por hileras o surcos. Cuando el campo lo permita, la selección de los sitios de muestreo (plantas) podrá hacerse seleccionando de manera secuencial la o las hileras o surcos a inspeccionar. La frecuencia de la inspección dependerá de lo proyectado como apropiado en el plan general de la encuesta, también deben considerarse otros factores, tales como la forma de siembra del cultivo. Por ejemplo, puede iniciarse con la inspección de cuatro hileras, luego dejar veinte hileras o surcos, para volver a inspeccionar otras 4 hileras o surcos y así sucesivamente hasta finalizar la encuesta en el lugar. Si la incidencia se va a expresar como una proporción del total de plantas (macollas), habrá que hacer un cálculo de las plantas (macollas) inspeccionadas y de las encontradas visiblemente enfermas. Al observar una o varias plantas con síntomas, proceder según el procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos” que se describe más adelante.
- “Cinco deoros”. Para esta estrategia el procedimiento, en forma resumida, descrito en “Lineamientos para la elaboración, revisión y dictamen de los programas de trabajo de vigilancia epidemiológica fitosanitaria”¹² es como sigue:
 - Cada punto de inspección constará de cinco plantas, por lo que se tendrán veinticinco en total por trazo. Los sitios de muestreo no deberán ser mayores a diez ha, de lo contrario el área deberá subdividirse en superficies menores o iguales a diez ha.
 - En la Figura 17, debido a que el área es superior a 30 ha, se hicieron cuatro trazos de cinco deoros, por lo que el total de plantas a examinar en el campo es de 100.
 - Al observar una o varias plantas con síntomas, proceder según el procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos” que se describe más adelante.

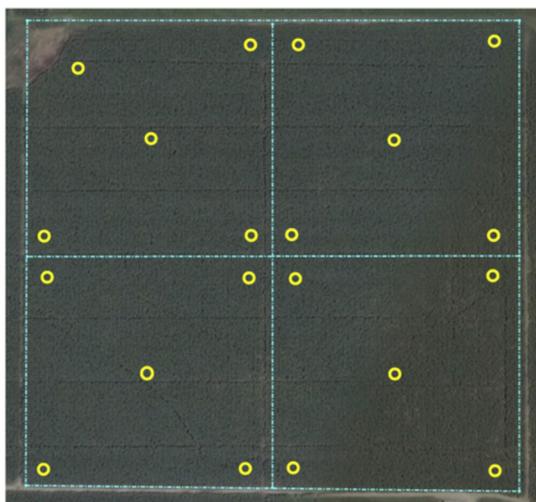


Figura 17. Ilustración de la estrategia de inspección en “Cinco deoros” en encuestas de monitoreo de Foc R4T. Debido a que el lugar (campo) tiene una superficie mayor de 10 ha (aproximadamente 32.5 ha), se han hecho 4 trazos de cinco deoros.

¹² Tomado de: México. Dirección General de Sanidad Vegetal. 2011. Lineamientos para la elaboración, revisión y dictamen de los programas de trabajo de vigilancia epidemiológica fitosanitaria. s.l. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. pp. 30-34. CNRF. Disponible en Internet: <http://www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento=19906&idurl=35439>

- Por transectos. Esta estrategia se considera apropiada para lugares con plantaciones extensas (para que los transectos vayan siempre paralelos, el inspector puede auxiliarse de una brújula profesional o de un dispositivo GPS). La separación entre los puntos de inspección sobre la línea del transecto no podrá ser mayor que 100 m, la separación entre las líneas de transecto no podrá ser mayor que 200 m y la longitud de los transectos podrá adecuarse a las dimensiones del lugar (en posteriores inspecciones, a fin de no examinar las mismas plantas, pueden correrse un poco los transectos o rotarlos de dirección, por ejemplo de norte-sur a oriente-poniente). En la Figura 18 la separación entre los puntos de inspección sobre la línea de transecto es de 100 m y los transectos se encuentran a 150 m entre sí, por lo que en una superficie de 10 ha habrá 7 puntos de muestreo aproximadamente (al igual que en la estrategia de “Cinco de oros” el área máxima a considerar para un “sitio de muestreo” es de 10 ha; por tanto, el cálculo del tamaño de la muestra se hará según esta superficie). Con base en lo señalado en el apartado 6.1.3, si se escoge una incidencia de diseño del 2% a un intervalo de confianza del 5%, el número de plantas que correspondería examinar por “sitio de muestreo” es de 30. Siendo 10 ha el límite, las plantas por punto = 30 plantas/7 puntos \sim 4. El total de puntos en el área es de 30 (Figura 18), por lo que el total de plantas a muestrear en el campo es de 120 ($=30 \times 4$). Al observar una o varias plantas con síntomas, proceder según el procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos” que se describe más adelante.

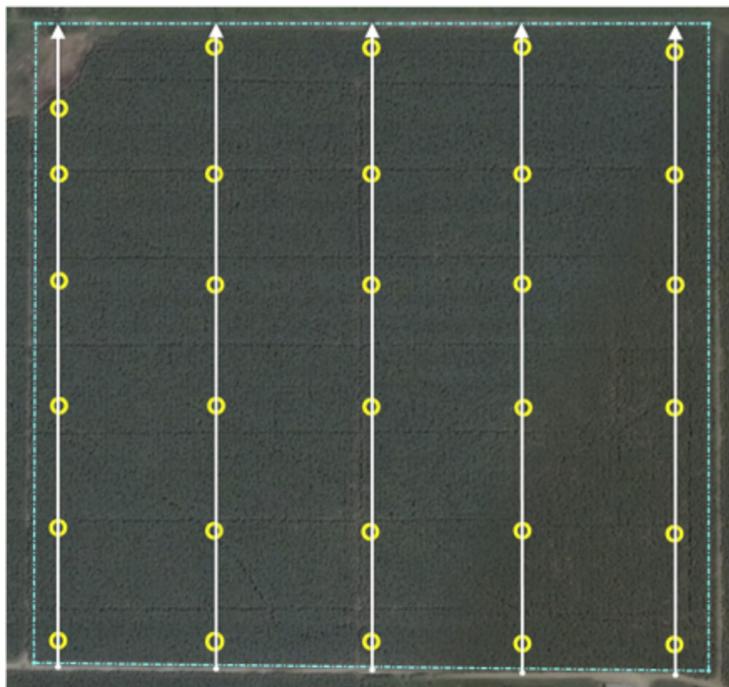


Figura 18. Ilustración de la estrategia de muestreo por transectos en encuestas de monitoreo de Foc R4T. En este caso los puntos de muestreo sobre el transecto están separados por 100 m entre sí y los transectos por 150 m entre sí.

En los tres casos anteriores, se asume que los lugares o sitios de una localidad se inspeccionan en su totalidad, por lo que la fórmula aplica para plantas (o macollas). Debido a que la incidencia se

expresará como una proporción de plantas enfermas del total de plantas, deberá verificarse si con el número de plantas por “punto de inspección o unidad de muestreo” y con el número de “puntos de inspección”, se está cumpliendo con el tamaño de la muestra calculado con el método sugerido (ver Cuadro 5), caso contrario, habrá que hacer las modificaciones según sea apropiado (tener en cuenta para esto que la superficie máxima a considerar para el cálculo es de 10 ha). En áreas pequeñas (por ejemplo menores que 0.5 ha), lo más indicado es examinar el 100% de las plantas.

Para las inspecciones de los lugares o sitios seleccionados en poblaciones urbanas, áreas o zonas rurales y áreas silvestres puede recurrirse a estrategias tales como las que se describen a continuación.

En poblaciones urbanas el marco muestral podrá estar compuesto por subdivisiones de ciudades tales como colonias, barrios, residenciales, etc. Las subdivisiones seleccionadas se inspeccionarán en su totalidad para determinar la incidencia de plaga en los huertos de traspatio, familiares y de subsistencia que resulten, aunque también podrá recurrirse al muestreo. En este caso la incidencia de la plaga por planta corresponderá a la colonia (con base en el número de plantas o macollas inspeccionadas). Mediante un procedimiento estadístico apropiado, podrá calcularse la incidencia en toda la población urbana, siempre y cuando la selección de estas colonias, barrios y residenciales se haya hecho al azar.

En áreas o zonas rurales, el marco muestral podrá estar compuesto por localidades, por lo que las inspecciones deberán hacerse a nivel de huertos de traspatio o familiares y de subsistencia. Las inspecciones podrán hacerse en todas los huertos o mediante un muestreo. La incidencia de la plaga por planta corresponderá a la localidad (con base en el número de plantas inspeccionadas). De igual forma podrá procederse para las áreas silvestres que se localicen. Mediante un procedimiento estadístico apropiado, podrá calcularse la incidencia en todas las localidades del área considerada en la encuesta, siempre y cuando la selección de estas localidades se haya hecho al azar.

6.1.4 Cálculo del tamaño de la muestra en distintos niveles sucesivos

Calcular el tamaño de la muestra para muchos sitios en más de un nivel se vuelve complicado rápidamente en niveles sucesivos, ya que puede haber una gran cantidad de lugares o sitios a elegir en cada nivel, así como muchos o incluso demasiados lugares o sitios para encuestar (inspeccionar). Al muestreo aplicable en estas circunstancias se le denomina “por etapas”, “en múltiples etapas”, “multietápico”, “polietápico” o, “submuestreo”, pues se realiza un análisis jerárquico para determinar el número de sitios que corresponde escoger en cada nivel, con base en el nivel superior precedente. Debido a la matemática compleja que el análisis implica, se requiere de una persona capacitada para realizar estos cálculos.

6.2 Procedimiento para la inspección en lugares o sitios

Debido a que las razas 1 y 2 de Foc muestran selectividad de hospedantes según la estructura genética de los bananos y plátanos comestibles [variedades de las dos especies diploides reconocidas *Musa acuminata* Colla (genoma A) y *Musa balbisiana* Colla (genoma B), variedades de sus híbridos tanto interespecíficos con diferentes grados de ploidía como intraespecíficos y variedades de sus poliploides, es necesario que los encuestadores sepan distinguir los diferentes tipos de plantas de bananos y plátanos y su comportamiento ante las razas 1 y 2 de Foc. Conviene recalcar que Foc R4T puede afectar a todas las variedades, no importando su conformación genética.

6.2.1 Procedimiento recomendado antes de ingresar a un lugar para inspeccionarlo

- Apuntar en la libreta de campo o en un formulario el nombre del encuestador, la fecha, la hora, el nombre del lugar de producción, campo o sitio, su localización (incluyendo coordenadas), el clon sembrado en el campo y el área de cultivo (si son varios, apuntar los clones sembrados, su proporción estimada en el campo y su ubicación en un croquis), las condiciones climáticas del momento; los nombres y datos de contacto de las personas del lugar que han colaborado;
- Hacer un diagrama a mano alzada del campo y de las rutas de inspección que se seguirán (la inspección puede realizarse en diversas formas, ver Figuras 14, 15, 16, 17 y 18, y escoger la forma según sea más apropiado);
- Hacer un chequeo de todos los equipos y materiales que deben llevarse durante el recorrido;
- Desinfectar el calzado en una solución desinfectante apropiada

6.2.2 Procedimiento para el recorrido en un lugar bajo inspección

- Realizar el recorrido según el diagrama trazado (procurar que la dirección y el sentido del recorrido sea el que permita una mejor y mayor visibilidad de posibles síntomas en las plantas a inspeccionar);
- Cuando se decida inspeccionar todas las plantas, el espacio entre recorridos dependerá de la amplitud que se logre observar dentro del cultivo;
- Registrar en la libreta de campo o formulario los datos que se tomen durante el recorrido, por ejemplo las coordenadas de los puntos de inspección (de muestreo), apariencia de las plantas, tipo de suelo, condiciones de humedad, presencia de otra vegetación (incluyendo malezas), toma de fotografías cuando así se haya indicado;
- En trechos extensos convendría auxiliarse de una brújula o de un dispositivo GPS para evitar la desorientación dentro del cultivo y para realizar los recorridos en el sentido y dirección planteados en el esquema;
- Al encontrar un brote sospechoso de Foc R4T, proceder como se especifica más adelante en: Procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos”.

6.2.3 Procedimiento antes de abandonar un lugar que se haya inspeccionado

- Completar en la libreta o formulario los datos pendientes;
- Apuntar en la libreta de campo la hora a la que finalizó la inspección y los resultados obtenidos y corroborar los datos sobre el clon o clones de banano sembrado en el campo y el área de cultivo inspeccionada;
- Desinfectar el calzado en una solución desinfectante apropiada (ver apartado 9);
- Si el vehículo se introdujo al lugar de inspección, desinfectar las llantas (mediante lavado a presión) con un desinfectante apropiado después de salir del perímetro;

6.3 Procedimiento para el examen de los “brotes sospechosos”, toma y envío de las muestras

- a) En inspecciones muy cercanas al brote, proceder primero a inspeccionar las partes que se consideren con menos probabilidad de estar infestadas hacia las que se consideres con más probabilidad y no al contrario;
- b) Si el brote se observa a la distancia, no ingresar al área donde se encuentran las plantas enfermas. Si no ha sido posible evitar el ingreso al brote, antes de salir de los límites de la planta o plantas enfermas, desinfectar el calzado con una solución desinfectante apropiada;
- c) Demarcar el brote mediante el examen visual de las plantas enfermas y calcular una distancia de 7 a 8 m a partir de la planta o plantas enfermas de la periferia e instalar una banda, de preferencia de plástico y de color amarillo, para indicar la restricción de ingreso al área infestada;
- d) Instalar una pileta con desinfectante en el perímetro indicado por la banda de plástico, en un lugar que permita el mejor acceso al área del brote;
- e) Protegerse ambas manos con guantes de polietileno (por ejemplo como los usados para palpación de bovinos);
- f) De una de las plantas visiblemente enfermas tomar al menos dos muestras. Para evitar cortar la planta es recomendable extraer del tallo una porción de 15 a 20 cm de largo por 5 a 10 cm de ancho, en forma de cuña, que llegue hasta el centro del pseudotallo, si se encuentran secciones de vasos (haces vasculares) con necrosamiento, cortar dos secciones delgadas longitudinales de los mismos (de 3 mm de espesor por 1 cm de ancho por 10 cm de largo), volver a insertar la cuña en la incisión de donde se extrajo, procurando que quede en el mismo sentido y a la misma profundidad, presionar la cuña contra el seudotallo y sellar todas las heridas de la incisión (abarcando todo el cilindro del seudotallo) mediante vueltas sucesivas traslapadas realizadas con una cinta adhesiva (por ejemplo la cinta para ductos) resistente a las condiciones ambientales y a la secreción de savia de la planta;
- g) Desinfectar la herramienta antes y después de la toma de muestras (cuchillo, navajas u otros objetos) y desechar guantes y otros materiales descartables que se hayan usado en forma segura para su destrucción;
- h) Desinfectar el calzado y cualquier otro objeto que haya estado en contacto con savia de la planta enferma o con suelo al salir del área infestada (considerar el uso de vestimenta descartable como overoles, cubiertas de botas y guantes para que cuando haya finalizado la acción en el sitio, estos se depositen en una bolsa sellada para eliminarlos en forma apropiada o esterilizarlos – usar vestimenta nueva para cada sitio sospechoso de estar infestado);
- i) Tomar, en una libreta de campo o formulario, los siguientes datos del brote:

- Ubicación del brote (localidad, lugar de producción, nombre o número del campo, de ser posible ubicado mediante esquema, coordenadas geográficas);
 - Nombre de la plaga que se sospecha;
 - Nombre del hospedante incluyendo variedad;
 - Descripción del brote (número total de plantas visiblemente enfermas, número de plantas probablemente infestadas, distanciamiento promedio entre plantas o macollas, estados fenológicos de las plantas en el brote, severidad del brote incluyendo el número de plantas muertas si las hubiere, superficie del brote, condiciones ambientales durante la inspección y toma de muestras, posibles orígenes del brote y campos o superficie bajo riesgo debido al brote);
 - Número de muestras tomadas para análisis de laboratorio incluyendo la parte de la planta de donde se tomó, el código de campo de la muestra, fecha de recolección, recolector;
- j) Rotular las muestras a enviar al laboratorio en forma apropiada sobre papel o superficie resistente con un lápiz o con un plumón con tinta permanente y a prueba de agua, así podrán destruirse en forma apropiada cuando sea necesario. Los datos mínimos son los siguientes:
- Nombre de la plaga;
 - Nombre del hospedante incluyendo variedad;
 - Localidad;
 - Número o código de campo de la muestra (este código debería también apuntarse en la libreta de campo o en el formulario de registro de datos). Un código apropiado puede ser el ligado al recolector y a la fecha de toma de muestra, por ejemplo: EM201205084b, que significa, duplicado “b” de la muestra 4, recolectada el 8 de mayo de 2012 (formato ISO de fecha) por el recolector EM (un arreglo de esta forma permite que los números de los especímenes puedan ordenarse en forma cronológica, además no hay riesgo de usar el mismo número de nuevo en otras fechas);
 - Fecha de recolección y;
 - Nombre del recolector;
- k) Acompañar el paquete que contenga la muestra con la información siguiente:
- Una rotulación que contenga el nombre del destinatario, dirección y teléfono, el nombre del remitente, dirección y teléfono, una advertencia con el texto siguiente: “Urgente, se sospecha de una plaga cuarentenaria, manténgase en refrigeración”

- Adjuntar una nota dirigida al laboratorio de diagnóstico describiendo que la plaga de la muestra es sospechosa de ser plaga cuarentenaria e indicar de qué plaga puede tratarse;
- l) Notificar por adelantado al laboratorio de que se está enviando una plaga sospechosa de ser plaga cuarentenaria a fin de que se hagan los arreglos para que alguien esté para hacer el diagnóstico
- m) Transportar las muestras en recipientes cerrados, bien protegidos y herméticos. Si los recipientes que las contienen pueden romperse (por ejemplo si son de vidrio o cualquier otro material frágil), colocarlos en forma protegida, empacándolos dentro de otro recipiente más grande (al menos con 2.5 cm de holgura en todos los lados) y rellenar los espacios con material de empaque suave. Si son de vidrio, evitar el roce directo entre sí o con otro material rígido. Si se transportan muestras de diferentes lugares en un mismo paquete, asegurarse de que cada una de las muestras se encuentre bien etiquetada;
- n) Debe asegurarse una entrega formal del espécimen a cada persona en la cadena de envío de las muestras, por ejemplo cada entrega tiene que ser firmada como recibida por el receptor;
- o) En posteriores visitas a las áreas donde se hayan detectado brotes, es recomendable dejar los vehículos fuera de éstas. Si los vehículos se introducen, es necesario desinfectarlos mediante lavado a presión con detergente o un desinfectante apropiado al momento de abandonar el área.

6.4 Materiales y equipo recomendado para las encuestas

6.4.1 Efectos personales

- Sombrero
- Capa de lluvia
- Botas de goma a prueba de serpientes y resistentes a desinfectantes
- Agua potable y alimentos
- Repelente de insectos
- Protector solar
- Reloj
- Gafas de sol
- Kit de primeros auxilios
- Teléfono celular activo en la localidad
- Fotocopia del pasaporte si alguien es extranjero
- Ropa para cambiarse (por si se encuentra un brote, ya que se trata de una plaga cuarentenaria)
- Carnet de inspector (oficial)

- Mochila de encuestador

6.4.2 Equipos y materiales auxiliares

- Cámara fotográfica (activar en la cámara la impresión de fecha en las tomas y de las coordenadas si cuenta con GPS)
- GPS que registre la fecha, el tiempo y la ubicación (si hay varios encuestadores con GPS verificar que todos los equipos funcionen correctamente y estén configurados de la misma forma antes de cada jornada)
- Mapas
- Brújula
- Guía para reconocimiento de hospedantes (variedades de musáceas)
- Generador de números aleatorios (calculadora)
- Cinta métrica
- Pintura en espray
- Bandas o cintas para barreras (delimitadoras) coloreadas para demarcar de emergencia áreas confinadas o para marcar plantas hospedantes (pueden usarse las adhesivas)
- Binoculares
- Desinfectante para calzado y herramientas

6.4.3 Para la toma de datos

- Lápices y marcadores de texto permanente a prueba de agua y alcohol
- Cuaderno de notas de campo (foliado)

6.4.4 Para la toma de muestras

- Machete y cuchillo rígido de cocina de acero inoxidable de 22 cm, mango de plástico
- Tijeras
- Guantes (de preferencia desechables)
- Bolsas desechables para calzado
- Bolsas de plástico de diversos tamaños (las zip-lock pueden ser útiles) y de papel
- Etiquetas
- Hojas de afeitar y bisturíes para seccionar el material que se llevará al laboratorio
- Pinzas de acero inoxidable
- Placas de Petri o viales con tapa de hule o de rosca
- Tabla de corte de polietileno de alta densidad o charola de acero inoxidable
- Parafilm para sellar las placas
- Etanol y lámpara (mechero) de etanol para esterilizar los bisturíes y pinzas

- Paños para desinfección (para desinfección de herramientas y manos)
- Pañuelos grandes o toallas de mano
- Cinta adhesiva de tela para ductos (50 mm de ancho) o de otro material similar que resista la intemperie y a la savia del banano
- Hielera portátil y cubos de hielo de silicona

6.5 Informe de la encuesta

Después de concluida la encuesta elaborar un informe con el contenido siguiente:

- Carátula (institución responsable, título de la encuesta, responsable del informe, lugar y fecha del informe)
- Antecedentes
- Justificación
- Propósito de la encuesta
- Alcance de la encuesta, período de realización
- Descripción de la metodología empleada
- Responsables y actividades desarrolladas
- Resultados obtenidos (si se hace un resumen de los resultados, los formularios con todos los registros deben agregarse en un anexo del informe) y discusión (si es necesario)
- Conclusiones y recomendaciones
- Anexos (formularios utilizados, formularios llenos si no se incluyen en resultados, diagnósticos de laboratorio de muestras identificadas)

7. ORGANIZACIÓN PARA LA EJECUCIÓN DE LA ENCUESTA

Las encuestas estarán a cargo del Grupo Básico de Trabajo (GBT). Con base en la superficie a encuestar de cultivo hospedante en el área de interés y los recursos disponibles, seleccionar las localidades, determinar los lugares a encuestar, calcular la superficie a atender por equipo de trabajo (brigada) y determinar las unidades de transporte y demás recursos logísticos necesarios. Nombrar a los responsables por equipo y establecer sus funciones. Programar las capacitaciones que se impartirán a los técnicos de campo (incluyendo un ejercicio en campo sobre las encuestas). Antes de realizar la encuesta, organizar el sistema de diagnóstico para muestras de la plaga procedentes de brotes sospechosos, disponer del resguardo para las muestras de comprobación y del sistema para la recopilación y procesamiento de la información, tanto de diagnóstico como de las encuestas en general. Los asuntos relativos a la supervisión y control de calidad de las encuestas, si los recursos lo permiten, podrán ser realizados por un grupo especial, o por el coordinador del GBT, teniendo en cuenta los principios enunciados en el apartado 5.7 de este plan de contingencia. La evaluación de las encuestas podrá realizarse a partir de los informes que se elaboren, confrontándolos con los objetivos, metas e indicadores de cumplimiento propuestos; un indicador de las encuestas podría ser, por ejemplo, la relación de la superficie inspeccionada entre la superficie programada a inspeccionar expresada en porcentaje. Si existieran recursos

disponibles, convendría examinar la pertinencia de realizar una evaluación durante el período de realización de las encuestas.

8. PROGRAMACIÓN DE ACTIVIDADES

Las actividades a ejecutar por encuesta deben programarse según las necesidades y los recursos disponibles. Las encuestas de delimitación deben de realizarse en el menor tiempo posible, pues son fundamentales para tomar las decisiones sobre el objetivo a perseguir contra la plaga (contención-confinamiento; supresión-contención). Las encuestas de detección podrían ser útiles para reafirmar que el objetivo propuesto es alcanzable, o por el contrario, para hacer un replanteamiento, por lo que es recomendable su realización en el corto plazo. Las encuestas de monitoreo deben iniciarse a partir del momento en que se desee confirmar la eficacia de las medidas de control implementadas. El Cuadro 6 puede emplearse para elaborar la programación de actividades de las diferentes encuestas.

Cuadro 6 - Programación de actividades de encuestas específicas contra Foc R4T

ÁREA PROGRAMÁTICA O COMPONENTE: (por ejemplo: ENCUESTAS ESPECÍFICAS O VIGILANCIA; CAPACITACIÓN; DIAGNÓSTICO)																
Actividades y subactividades por resultados	Descripción (de la actividad)	Meta	Meses/año												Responsable	Recursos/rubros
			E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D		
RESULTADO 1:																
1																
1.1																
1..																
2																
2.1																
2..																
3..																

La columna "Recursos/rubros" una vez cuantificados y convertidos a valores monetarios puede sustituirse por una columna de "Presupuesto".

9. PRESUPUESTO

El presupuesto para las diferentes encuestas puede elaborarse por actividad principal; sin embargo, puede haber bienes que se emplearán para más de una actividad principal, por lo que se apuntarán solamente en una de ellas para evitar duplicidad. Para elaborar el presupuesto se sugiere seguir el formato del Cuadro 7:

Cuadro 7 - Presupuesto de encuestas específicas contra Foc R4T

Actividades principales	Concepto (bien)	Unidad de medida	Cantidad (requerida)	Precio unitario	Monto total	Comentarios

El presupuesto también puede elaborarse según el tipo de bien, por ejemplo: 1) Recursos humanos, 2) Recursos materiales y 3) Servicios, en este caso la columna de “Actividades principales” podría eliminarse. Para una mejor ejecución presupuestaria y evaluación del plan de encuestas podrá elaborarse una calendarización (semanal o mensual) de metas según actividades-subactividades y una calendarización de ejecución presupuestaria en relación con las metas programadas.

10. RECOMENDACIONES GENERALES

- Elaborar mapas de riesgo epidemiológico de Foc R4T a fin de ubicar sitios con mayor probabilidad de ser infestados por la plaga, calcular daños potenciales y tomar decisiones sobre el establecimiento de medidas fitosanitarias para prevenir incursiones iniciales a nuevas áreas;
- Implementar procedimientos de vigilancia general contra Foc R4T a fin de aumentar la probabilidad de detección temprana de nuevos brotes de la plaga;
- Debido a que el material de propagación es una vía importante de dispersión de la plaga, es importante considerar los canales de distribución y comercialización de este material entre productores al momento de la selección de sitios a encuestar; además, es conveniente determinar los movimientos de personal, maquinaria y otros equipos y materiales entre productores, así como tener en cuenta información adicional proporcionada por ellos, pues conocen en detalle las zonas de producción;
- Debido a que los cursos de agua son otra vía importante para la dispersión de la plaga, los flujos de escorrentía, drenajes, agua de riego y ríos deben ser considerados en la planeación de encuestas específicas para determinar las áreas con más probabilidad de ser infestadas;
- Brotes de Foc en plantaciones de la variedad Cavendish y plátanos AAB tendrán una alta probabilidad de ser provocados por Foc R4T ya que estos clones son resistentes a las razas 1 y 2, por lo que deberán manejarse siempre como brotes sospechosos de la plaga (con todas las medidas de prevención y control que sean necesarias);
- Deben especificarse adecuadamente las unidades de medida cuando sea necesario. Si las unidades de medida son de sistema, debe emplearse el sistema métrico decimal. Si se emplean valores que corresponden a una escala, debe ofrecerse una explicación sobre la escala. Cuando se trate de encuestas de detección y la plaga no se encuentre, debe cuantificarse el esfuerzo hecho.

APÉNDICE II

FORMULARIOS (EJEMPLOS)

Formulario 1. Encuesta de detección de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc R4T).

Fecha (aaaa/mm/dd) y Hora (formato militar, de 24 h) _____/____/____ : ____	Nombre (s) completo del o los encuestadores
Nombre del propietario:	Lugar, municipio, provincia:
Ubicación y nombre del lugar de producción o campo donde se realizó la inspección (incluyendo nombre o número del campo)	Coordenadas del sitio de muestreo Lat. _____ Lon. _____
Descripción de las condiciones ambientales incluyendo aspecto, tipo de vegetación y de suelo ¹	Historial del área (cultivos anteriores, fertilización, procedencia de la semilla y otros insumos)
Superficie del lugar de producción o campo (ha): _____	Superficie inspeccionada (m ²): _____
Incidencia de la plaga (% de plantas con síntomas del total examinado) No. de plantas examinadas: _____ No. de plantas con síntomas: _____ Incidencia: _____	Nombre (s) común (es) del o los hospedante (s)
Se tomaron muestras Sí ___ No ___ Cuántas muestras: _____ Qué tipo de muestras? (pedazos de pseudotallo, pedazos de rizoma, haces vasculares, suelo)	Patrón de distribución espacial de la enfermedad [Irregular : hay plantas infectadas distribuidas aleatoriamente; Agregado : hay varias plantas infectadas en un mismo sitio] Irregular: _____ Agregado: _____
Medidas o recomendaciones que se tomaron o instruyeron;	Organizaciones que fueron contactadas
Observaciones y comentarios adicionales	

¹ Relieve plano, tipo de suelo arenoso, clima cálido y húmedo con presencia de arvenses diversas

**Formulario 2. Encuesta de delimitación de la raza 4 tropical de
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* (Foc R4T).**

Fecha (aaaa/mm/dd) y Hora (formato militar, de 24 h) ____/____/____ : ____	Nombre (s) completo del o los encuestadores
Nombre(s) del (de los) propietario (s):	Lugar, municipio, provincia:
Ubicación y nombre (s) del lugar (es) de producción o campo (s) donde se inició la inspección [incluyendo nombre (s) o número (s) de campo(s)]	Coordenadas del sitio principal de inspección Lat. _____ Lon. _____
Ubicación y nombre (s) del lugar (es) de producción o campo (s) donde se concluyó la inspección [incluyendo nombre (s) o número (s) de campo(s)] y se estima esté libre de la plaga	Vías de acceso, flujo de operaciones
Extensión estimada del brote (m ²)	Descripción de las condiciones ambientales incluyendo aspecto, tipo de vegetación, tipo de suelo del área considerada libre
Superficie evaluada (m ²)	Plantaciones cercanas al área consideradas infestadas (indicar si son hospedantes de Foc R4T)
Se tomaron muestras en área considerada libre? Sí ___ No ___ Cuántas muestras: _____ Qué tipo de muestras? (pedazos de pseudotallo, pedazos de rizoma, haces vasculares, suelo)	Medidas o recomendaciones que se tomaron o instruyeron;
Observaciones y recomendaciones para el establecimiento de área(s) bajo cuarentena, controlada	

Formulario 3. Encuesta de monitoreo de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc R4T)

Fecha (dd/mm/aa) Hora ___/___/___ : ___	Nombre (s) completo del o los encuestadores
Nombre del propietario	Lugar, municipio, provincia
Ubicación del lugar de producción, o campo, donde se tomó la muestra (incluyendo nombre o número del campo)	Nombre (s) y/o número (s) del sitio donde se tomó la o las muestras;
Descripción de las condiciones ambientales incluyendo aspecto, tipo de vegetación y de suelo	Localización del o los sitios de muestreo (coordenadas) Lat. _____ Lon. _____
Superficie evaluada (m ²)	Incidencia de la plaga (% de plantas afectadas del total)
Nombre (s) común (es) del o los hospedante(s)	Síntomas del hospedante
Tratamientos aplicados en el lugar	Medidas o recomendaciones que se tomaron o instruyeron;
Observaciones y comentarios adicionales	

Formulario 4. Formulario para el envío de muestras vegetales al laboratorio para el diagnóstico de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Muestras vegetales para el diagnóstico de Foc R4T				
Datos del remitente de la muestra				
Nombre:				
Entidad, empresa, etc.				
Dirección:				
Ciudad o Lugar:			Estado/Provincia/Municipio y País:	
Teléfono:			Fax:	
Correo electrónico:				
Datos del destinatario de la muestra				
Nombre:				
Entidad, empresa, etc.:				
Dirección:				
Ciudad o Lugar:			Estado/Provincia/Municipio y País:	
Teléfono:			Fax:	
Correo electrónico:				
NOTA: Urgente, se sospecha de una plaga cuarentenaria, manténgase en refrigeración				
Lugar específico del muestreo:				
Fecha de toma de la(s) muestra(s):				
Identificación de las muestras (se incluye un ejemplo en la primera fila)				
No. de muestra	Variedad	síntomas	Tejido muestreado	Observaciones
EM201205081 ²	Gran Enano	Si	Pseudotallo	Planta en estado inicial de floración con síntomas de marchitez intermedia

² Ver literal j del apartado 6.3 del Apéndice 10.

Formulario 5. Planilla para estimación de costos en un plan de contingencia ante un brote de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Actividades	Rubro costos	Precio /Uds.	Cant. Unidades	Monto total
FASE DE DIAGNÓSTICO				
Activación del CESV	Costos de reuniones, transportes, locales, refrigerios, viáticos			
Diagnóstico preliminar	Viajes, transporte, viáticos,			
Encuestas	Transporte, Toma de muestras, materiales, herramientas, material de oficina, computadoras, impresoras, etc.			
	Calzado y ropas para acceder al área de riesgo			
Transporte seguro de muestras	Tarifa de transporte			
Diagnóstico en laboratorio	Tarifa de laboratorio por muestras procesadas			
Declaración de emergencia				
Activación GBT				
Plan de acción				
Total diagnóstico				
FASE DE CONTENCIÓN				
Establecimiento del área de cuarentena	Salarios trabajadores de apoyo			
Confirmación del área del brote	Viajes, transporte			
Información al público	Materiales			
	Equipos			
	Comunicación y administración			
Total contención				
FASE DE ERRADICACION				
Tratamiento del área del brote; Gastos de personal	Salarios y viáticos, refrigerios, materiales gastables y medicinas para primeros auxilios.etc.			
Capacitación a equipo de trabajo	Viajes, transporte, alquiler de locales de capacitación, refrigerios, viáticos			
Mantenimiento de área de cuarentena	Equipos tratamiento. Carpas para fumigar y herramientas de trabajo			
	Equipos protección personal de trabajadores			
	Herbicidas			
	Fumigantes			
	Materiales			
	Comunicación y administración			

	Compensaciones			
	Comunicación y administración			
Total erradicación				
FASE DE EVALUACIÓN, MONITOREO Y DOCUMENTACION				
Pruebas de confirmación	Salarios, refrigerios, materiales gastables, tarifa de laboratorio			
Monitoreo y encuestas	Viajes, transportes, viáticos, materiales descartables, materiales para desinfección de zapatos e instrumentos, tarifa de laboratorio			
Evaluación del programa	Muestras, tarifas de laboratorio, análisis de datos			
Documentación	Equipos, papel, mantenimiento de base de datos, soporte informático			
Total evaluación				
Total Absoluto				

APÉNDICE I 2

AVANCES EN INVESTIGACIÓN Y PERSPECTIVAS EN *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* RAZA 4 TROPICAL (FOC R4T)

La identificación de Foc R4T renovó los intereses de investigación en *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Varios grupos de investigaciones iniciaron estudios principalmente enfocados en:

- a) Estudiar variabilidad genética de Foc y desarrollo de métodos de diagnóstico molecular;
- b) Determinar la distribución de Foc R4T en Asia y desarrollar estrategias para la contención de la plaga al Sur de Asia;
- c) Desarrollar métodos de tamizaje confiables y caracterizar las variedades existentes en cuanto a la resistencia a Foc R4T;
- d) Entender las bases genéticas y moleculares de la resistencia a Foc en *Musa*

a) **Estudios de variabilidad genética y métodos de diagnóstico**

Entre los avances más notables en estudios de variabilidad genética de Foc en los últimos 5 años pueden ser citados los desarrollados por Groenewald *et al.* (2006) y Fourie *et al.* (2009). Estos autores estudiaron un amplio grupo aislado de Foc, identificaron marcadores moleculares que permitieron cierta asociación con los diferentes grupos de compatibilidad vegetativa. Por su parte, Molina *et al.*, (2008, 2009) han publicado datos al respecto de la distribución de grupos de compatibilidad en Asia. Estos estudios han servido para corroborar la gran variabilidad genética presente en Foc discriminando este patógeno en clados y grupos genéticos ofreciendo informaciones valiosas. Sin embargo, son necesarios mayores esfuerzos para asociar estas informaciones a características fenotípicas del patógeno y, más importante aún, su relación con el hospedante. En ese sentido, Dita *et al.* (sin publicar) obtuvieron secuencias EST (*expressed sequence tags* - secuencias de genes expresadas) de cuatro grupos de aislamientos de Foc pertenecientes a las razas 1, raza 2, raza 4 subtropical y raza 4 tropical.

Con relación a métodos de diagnóstico, Dita *et al.* (2010), publicaron un método de diagnóstico basado en PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que detecta específicamente aislados pertenecientes al grupo de compatibilidad 01213, que es el correspondiente a Foc R4T. Este método permite detectar el patógeno, tanto en tejido de plantas, como en cultivos puros y es el que debe ser utilizado para brotes sospechosos en áreas libres a fin de confirmar el diagnóstico. Resultados recientes con el uso de este método, permitieron la detección de Foc R4T en muestras de suelo y en tejidos asintomáticos (Dita *et al.* sin publicar). El uso del mismo deberá ser aliado importante para verificar la efectividad de medidas de erradicación.

b) **Determinar la distribución de Foc R4T en Asia y desarrollar estrategias para la contención de la plaga al Sur de Asia;**

Ha sido estudiada la distribución de Foc R4T así como de otros grupos de compatibilidad vegetativa de Foc en Asia y en la actualidad, se cuenta con datos precisos en este sentido (O'Neil *et al.*, 2009; Molina *et al.*, 2011). Sin embargo, han sido publicados pocos resultados sobre la eficiencia de las medidas para contener la plaga o disminuir su avance en la región. Deben desarrollarse estudios para determinar la efectividad de medidas como la rotación de cultivos, eliminación de plantas y cepas donde se hayan detectado síntomas y hospedantes alternativos, así como siembra de material certificado.

c) **Desarrollar métodos de tamizaje confiables y caracterizar las variedades existentes en cuanto a la resistencia a Foc R4T;**

Han sido publicados diferentes métodos de tamizaje para la resistencia a Foc (Smith 2008), pero no hay un método estandarizado que sea utilizado como referencia mundial para caracterización de genotipos en relación con la resistencia a Foc. Con la amenaza de R4T, esta necesidad aumentó. Ribeiro *et al.* (2009) y Dita *et al.* (2009), publicaron métodos de inoculación y evaluación que fueron utilizados eficientemente para discriminar genotipos de *Musa* para la resistencia a Foc, los cuales mostraron asociación completa con el comportamiento de estas variedades en campo. Con el objetivo de simular lo máximo posible el proceso de infección de campo y disminuir falsos resultados debido a la presión de inóculo, en la actualidad se trabaja en establecer métodos de inoculación únicamente basados en clamidosporas como fuente de inóculo y utilizando la concentración mínima efectiva.

Hasta el momento, del grupo de genotipos que ha sido evaluado para R4T [Manzano (AAB), Prata (AAB;) Banksii (AA), CIRAD930 (AA), Pahang (AA), Gran Enano (AAA), Matavaia/Bluggoe (ABB); Gros Michel (AAA)] solamente CIRAD930 y Pahang han mostrado niveles de resistencia parcial contra R4T (Dita *et al.*, 2010). Deben ser conducidos estudios con un mayor número de genotipos, no solo con el objetivo de identificar fuentes de resistencia, sino para anticipar impactos y tomar medidas preventivas ante la potencial entrada de esta plaga a las áreas libres.

d) **Entender las bases genéticas y moleculares de la resistencia a Foc en *Musa***

Las bases genéticas y moleculares de la resistencia a Foc en *Musa* son todavía desconocidas. Lo que se conoce hasta el momento es que hay interacción diferencial entre patógeno-hospedante que apuntan tanto resistencia completa (Gran Enano – Foc R1) y resistencia parcial, como son los casos de Thap Maeo-Foc R1 y de la interacción antes mencionada Pahang – Foc R4T. La evaluación de poblaciones segregantes de Pahang para la resistencia a Foc R4T ha mostrado evidencias de segregación, pero aún se necesitan más esfuerzos en ese sentido. De manera similar, es necesaria la evaluación de poblaciones segregantes para la resistencia a las razas 1 y 2 para entender las bases genéticas de la resistencia a esta enfermedad en soporte al mejoramiento genético. Se han iniciado estudios para entender las bases moleculares de la interacción, pero están en la fase inicial (Dita *et al.*, sin publicar).

REFERENCIAS

- Dita, MA.; Waalwijk, C.; Buddenhagen, IW.; Souza, MT.; Kema, GHJ. 2010. A molecular diagnosis for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathology* 59: 348–359.
- Dita, MA.; Waalwijk, C.; Paiva, LV.; Souza Junior, MT.; Kema, GHT. 2010. A greenhouse bioassay for the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Tropical race 4) x *Musa acuminata* (Cavendish subgroup) interaction. *In* Proceedings of the International ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges. Van den Bergh, I. et al. (eds.). Acta Horticulturae 897. ISHS 2011.
- Fourie, G.; Steenkamp, ET.; Gordon, TR.; Viljoen, A. 2009. Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* vegetative compatibility groups. *Applied and Environmental Microbiology*: 4770–4781.
- Groenewald, S.; Van den Berg, N.; Marasas, WFO.; Viljoen, A. 2006. The application of high-throughput AFLP's in assessing genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Mycological Research* 110: 297 – 305.
- Ribeiro, L.; Amorin, EP.; Cordeiro, Z.; Silva, SO.; Dita, MA. 2010. Discrimination of banana genotypes for *Fusarium* wilt resistance in Greenhouse. *In* Proceedings of the International ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges. Van den Bergh, I. et al. (eds.). Acta Horticulturae 897. ISHS 2011.
- O'Neil, WT.; Pattison, AB.; Daniells, JW.; Hermanto, C; Molina AB. 2010. Vegetative Compability Group Analysis of Indonesian *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Cubense* Isolates. *In* Proceedings of the International ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges. Van den Bergh, I. et al. (eds.). Acta Horticulturae 897. ISHS 2011.
- Smith, LJ.; Smith, MK.; Tree, D., O'Keefe, D.; Galea, VJ. 2008. Development of a small-plant bioassay to assess banana grown from tissue culture for consistent infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Australasian Plant Pathology* 37: 171-179.

APÉNDICE 13

FUENTES INTERNACIONALES DE FINANCIAMIENTO.

I. Agencias de financiamiento

- Agencia de Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID) www.usaid.gov/espanol/donde.html
- The World Bank El Banco Mundial es una fuente vital de financiamiento y asistencia técnica para los países en desarrollo alrededor del mundo.
- European Commission (EC) ec.europa.eu/index_en.htm
- United Nations Food and Agricultural Organization (FAO) www.fao.org

II. Otras agencias en los Estados Unidos listadas por Foundation Center (<http://foundationcenter.org/getstarted/international>)

- Kellogg Foundation www.wkkf.org
- International Aid www.internationalai-
- Bill & Melinda Gates Foundation www.gatesfoundation.org
- Ford Foundation www.fordfound.org
- William and Flora Hewlett Foundation www.hewlett.or
- Gordon and Betty Moore Foundation www.moore.org
- Rockefeller Foundation <http://www.rockfound.org>
- John D. and Catherine T. MacArthur Foundation www.macfound.org
- Starr Foundation www.starrfoundation.org
- WK. Kellogg Foundation www.wkkf.org
- Susan Thompson Buffett Foundation
- www.buffettscholarships.org/scholarships.shtml
- David and Lucile Packard Foundation www.packard.org/home.aspx
- Citi Foundation www.citigroup.com/citi/foundation
- Carnegie Corporation of New York www.carnegie.org/n.org
- Andrew W. Mellon Foundation www.mellon.org
- Freeman Foundation www.freemanfoundation.org
- Harry and Jeanette Weinberg Foundation
- <http://www.hjweinbergfoundation.org> -
- Peninsula Community Foundation <http://pcf.transforme.com/>
- Charles Stewart Mott Foundation www.mott.org
- Annenberg Foundation www.annenbergfoundation.org
- Open Society Institute www.soros.org
- Howard G. Buffett Foundation
- dynamodata.fdncenter.org/990s/990search/ffindershow.cgi?id=BUFF014

III. Organizaciones que ayudan a buscar financiamiento listadas por International Grant Resources (<http://www.proposalwriter.com/intgrants.html>).

- Fogarty International Center Research grants, training grants, fellowships and other opportunities related to global health.
- Current Members Of the European Foundation Centre Visit the websites of these organizations to find funding opportunities.
- Foundation Database A database of grant makers and foundations in Latin America, Central America, and the Caribbean.
- Foundation/Grants Reference Desk Funders Online - Philanthropic Community in Europe Covers North America, Latin America, Europe, Asia, Russia, Middle East, Africa, South Pacific, and Global Information.
- European foundations and corporate funder websites. Searchable by subject, location, population focus, and types of support.
- Global Development Network - Funding Opportunities Funding opportunities for development researchers and research institutes in low and middle-income countries.
- Global Philanthropy Foundations and grant makers by country, with a focus on Latin America.
- Grants to Non-U.S. Organizations The Foundation Center provides some useful links and resources for international grants.
- International Affairs and Development Grants. The Foundation Center's RFP Bulletin for recently announced international grants.
- International Agriculture Grants A directory of selected international grants, exchanges, fellowships, and collaborative research opportunities in agriculture
- International Funding. a listing of international, regional, and country-specific directories, and information about their contents.
- International Donor Directory
- International and Foreign Grant makers listing of relevant international websites and books, with annotated entries.
- International/Foreign Grant makers yet another list, this one from the International Nobel Peace Prize Recommendation Forum (INPPRF).
- International Forestry Grants A Guide to Grants, Fellowships, and Scholarships in International Forestry and Natural Resources.
- International Forestry and Natural Resources.
- International Funding covering all regions of the world.
- International Grants from Fundsnet, a lengthy list of links to international grants, initiatives, foundations and directories on the web.
- Japan Foundation Center Contains a lengthy list of links to Japanese Grant-Making Foun-

dations as well as additional background information history and trends, assets, and features of grant programs.

- Science and Development Network Funding agencies and foundations for international science research.
- SRA International Foundation List this list is brought to you courtesy of the Society of Research Administrators (SRA) International.
- United States International Grant makers (USIG) this site is designed to facilitate international grant making by providing access to recommended forms and instructions, country reports and laws, and other resources and materials.
- Welcome Europe a search engine for European grants and loans. You'll also find EU funding news, calls for tenders, and other information.
- Women in International Development A compilation of web pages of funding opportunities related to women in international development. Some of the organizations focus on providing economic security to women around the world and in the United States.

