



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

DOCTORADO EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN

**ESTRATEGIAS DE MANEJO
INTEGRADO DE *Fusarium*
oxysporum f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”,
EN MÉXICO**

JOSE GUADALUPE FLORENCIO ANASTASIO

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Estrategias de manejo integrado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza "1 o 2", en México**, realizada por el estudiante: **José Guadalupe Florencio Anastasio**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
DOCTORADO EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. ALEJANDRO ALARCÓN

CO-DIRECTOR



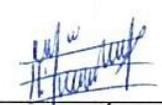
DR. CLEMENTE DE JESÚS GARCÍA ÁVILA

ASESOR



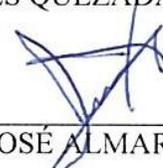
DR. RONALD FERRERA CERRATO

ASESOR



DR. ANDRÉS QUEZADA SALINAS

ASESOR



DR. JUAN JOSÉ ALMARAZ SUÁREZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, agosto de 2022

ESTRATEGIAS DE MANEJO INTEGRADO DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” EN MÉXICO

José Guadalupe Florencio Anastasio, D.C.

Colegio de Postgraduados, 2022

RESUMEN

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* Razas 1, 2 y 4 Tropical (Foc R4T) causa la marchitez de musáceas, y se distribuye en 22 países de Asia, África, Europa y Oceanía, y en Colombia y Perú; por lo que se tiene alto riesgo de su ingreso a México. El presente trabajo se divide en tres capítulos. El Capítulo I presenta un análisis de riesgo para Foc R4T, en el que se identifican los posibles sitios o regiones de riesgo de establecimiento y de dispersión del patógeno y se proponen medidas dirigidas para evitar la diseminación de este patógeno. El Capítulo II evaluó el efecto de sales cuaternarias de amonio y fungicidas sistémicos en la inhibición del crecimiento *in vitro* de cinco aislamientos de FocR1 o R2. La dosis 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de sales cuaternarias inhibió 100% el crecimiento micelial; mientras que el fungicida Tebuconazole (50, 100 y 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) inhibió al 100% el crecimiento micelial de las cinco cepas, en contraste, la dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Carbendazim o Benomyl mostraron una inhibición de 99.8% y 99.7%, respectivamente. El Capítulo III analizó la inhibición fúngica por efecto de bacterias antagonistas, en cuatro bioensayos. En el primer bioensayo, las bacterias *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) y *Serratia* sp. (AC35) ejercieron mayor inhibición (44.7% y 27.3%, respectivamente) hacia los cinco aislamientos fúngicos comparados con el testigo. En el segundo bioensayo, *Bacillus subtilis* (BASU) y *B. velezensis* tuvieron mayor inhibición (55.1% y 45.8%, respectivamente) hacia tres aislamientos fúngicos (MIC17188, MIC17191 y MIC17192) comparados con el testigo. El tercer bioensayo evaluó efecto inhibitorio de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC35) en tres tiempos de preinoculación bacteriana; *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) presentó mayor inhibición (80.1%) cuando se preinoculó siete días antes del hongo, y después de siete días de confrontación *in vitro*. En el cuarto bioensayo, la adición de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) en suelo estéril redujo la viabilidad de conidios de los aislamientos MIC17192 (61%), MIC17191 (56%), MIC17189 (47%), y MIC17188 (2%), a los 42 días de evaluación; sin embargo, el porcentaje de inhibición de la viabilidad de esporas disminuyó en todos los aislamientos fúngicos, incluso se presentaron valores negativos para los aislamientos MIC17188 (-18%) y MIC17191 (-31%), a los 49 días de evaluación. La dosis de 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de sales cuaternarias de amonio inhibió el desarrollo micelial *in vitro* de Foc Raza “1 o 2”, por lo que, se puede emplear para establecer medidas de bioseguridad en los puertos, aeropuertos y fronteras de México y así evitar la posible incursión y/o introducción de Foc R4T, el cual no está presente en México; además, estas sales son útiles para establecer medidas de bioseguridad (profilácticas) para evitar la dispersión de FocR1 o R2 en México. En el mismo sentido, la dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Tebuconazol, Carbendazim y Benomyl inhibieron 100%, 99.8% y 99.7%, respectivamente, el desarrollo micelial de FocR o R2; por lo que, se pueden utilizar en esquemas de manejo integrado en campo contra este patógeno junto con la rizobacteria *Paenibacillus* BSP 1.1, sola o en consorcio con *Serratia* sp., *B. subtilis* y *B. velezensis*.

Palabras clave: Fusariosis de las musáceas; Exclusión; Medidas de bioseguridad; Sales cuaternarias; fungicidas sistémicos; Biocontrol.

MANAGEMENT STRATEGIES FOR *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race “1 o 2” IN MÉXICO

José Guadalupe Florencio Anastasio, D.C.

Colegio de Postgraduados, 2022

ABSTRACT

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* Races 1, 2 and Tropical Race 4 (Foc TR4) causes the musaceae wilt, whose distribution covers 22 countries in Asia, Africa, Europe and Oceania, and Colombia and Peru; so there is a high risk of its incursion into our country. This work is divided into three chapters. Chapter I shows a risk analysis for Foc TR4, in which possible sites or regions at risk of establishment and spread of the pathogen are identified, as well as possible phytosanitary measures aimed at preventing the spread of this pathogen. Chapter II shows the evaluation of the effect of quaternary ammonium salts and systemic fungicides on the growth inhibition of five Foc Race “1 or 2” isolates. The 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dose of quaternary salts inhibited 100% mycelial growth; while the fungicide Tebuconazole (50, 100 and 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) inhibited 100% the mycelial growth of the five strains, in contrast, the dose of 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of Carbendazim or Benomyl showed an inhibition of 99.8% and 99.7%, respectively. Chapter III analyzed fungal inhibition by antagonistic bacteria, in four bioassays. In the first bioassay, the bacteria *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) and *Serratia* sp. (AC35) exerted greater inhibition (44.7% and 27.3%, respectively) towards the five fungal isolates compared to control. In the second assay, *Bacillus subtilis* (BASU) and *B. velezensis* had higher inhibition (55.1% and 45.8%, respectively) towards three fungal isolates (MIC17188, MIC17191 and MIC17192) compared to control. The third bioassay evaluated the inhibitory effect of *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC35) in three timings of bacterial preinoculation; *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) showed greater inhibition (80.1%) when it was preinoculated seven days before the fungus, and after seven days of *in vitro* confrontation. In the fourth bioassay, the addition of *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) in sterile soil reduced the viability of conidia of isolates MIC17192 (61%), MIC17191 (6%), MIC17189 (47%), and MIC17188 (2%), at 42 days of evaluation; however, the percentage of inhibition of spore viability decreased for all fungal isolates, including negative values for isolates MIC17188 (-18%) and MIC17191 (-31%), at 49 days of evaluation. Dose 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of quaternary ammonium salts was effective to inhibit mycelial development of FocR1 or R2, so it can be used to establish biosecurity measures in ports, airports and borders of Mexico and thus avoid the possible incursion and/or introduction of Foc TR4, which is not present in Mexico, in addition to being useful for establishing biosecurity (prophylactic) measures to prevent the spread of FocR1 or R2 in Mexico. In the same manner, the dose of 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Tebuconazole, Carbendazim and Benomyl inhibited 100%, 99.8% and 99.7%, respectively, the mycelial development of FocR1 or R2; therefore, they can be used to establish an integrated management scheme against this pathogen together with the rhizobacteria *Paenibacillus* BSP 1.1, alone or in consortium with *Serratia* sp., *B. subtilis* and *B. velezensis*.

Key words: Musaceae fusariosis, Exclusion, Biosecurity actions; Quaternary salts; Systemic fungicides; Biocontrol.

AGRADECIMIENTOS

Al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica) y al Colegio de Postgraduados (Colpos) por la firma del Convenio de colaboración, a través del **Proyecto PM17-4048**, por medio del cual se financió mis estudios de Doctorado en Ciencias por Investigación.

A los miembros de mi Consejo Particular, por la dirección, sugerencias, consejos, paciencia y por todo el apoyo invaluable que me proporcionaron para poder concluir mis estudios de doctorado: Dr. Alejandro Alarcón, Dr. Clemente de Jesús García Ávila, Dr. Ronald Ferrera Cerrato, Dr. Andrés Quezada Salinas y Dr. Juan José Almaraz Suárez, en especial al Dr. Alejandro Alarcón.

Mi agradecimiento a Dr. Francisco Trujillo Arriaga, Ing. Francisco Ramírez y Ramírez, M.C. Guillermo Santiago Martínez, M.C. Daniela Alejandra Bocanegra Flores, y M.C. Gustavo Torres, así como al Dr. Abel López Buenfil, Dr. Clemente de Jesús García, y M.C. Ulises García por brindarme la oportunidad de participar en este proyecto y poder superarme profesionalmente.

A los laboratorios Micología, Bacteriología, Biología Molecular y Malezas; así como al Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) del Senasica y al Laboratorio de Microbiología de suelos del CP, por el apoyo brindado y facilitar sus instalaciones para llevar a cabo parte de esta investigación.

A Margarita Oliva, Zenaida Juárez, Isabel Celis, Carmen Lara, Iván Almaraz, Rocío Hernández, Francisco Rosas, Sonia Monroy, Magnolia Moreno, Lervín Ramos, Nayeli Carrillo, Mario Espinoza, Israel Morales, Johan Rodríguez y a mis compañeros de Análisis de Riesgo de Plagas por todo su apoyo, consejos, sugerencias y palabras de motivación.

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, por darme tres hermosos regalos, que son mis hijos y por darme la oportunidad de superarme profesionalmente y académicamente.

A mis hijos **Ana Gabriela, Alexa Selene y José Héctor**. Gracias por las alegrías y satisfacciones que me han dado, por darme el privilegio de verles crecer y cuidarlos, por entender que hemos sacrificado momentos en nuestra vida familiar para poder concluir esta etapa de mi vida profesional.

A mi madre **María de Jesús Anastasio**. Gracias por darme la vida y por el apoyo que siempre me has brindado, pero sobretodo mil gracias por todo el amor y cuidados que siempre les has dado a mis hijos.

A toda mi familia. Gracias por todo su apoyo, pero también mil gracias por todo el amor y cuidados hacia mis hijos.

A la memoria de mi padre **Gervasio Florencio†**. Que en paz descanse, gracias por darme la vida y porque aun después de tu partida me sigues apoyando.

Gracias por ser la fuente de mi esfuerzo y motivación cada día y ser la razón de mi inspiración y superación profesional y personal en todo momento.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
LISTAS DE CUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
Introducción.....	6
Perspectivas	31
CAPÍTULO I. ANÁLISIS DE RIESGO PARA <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	
Raza 4 Tropical	33
1.1 RESUMEN.....	33
1.2 ABSTRACT	34
1.3 INTRODUCCIÓN.....	35
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
1.4.1 Localización.....	36
1.4.2 Recopilación de información.	36
1.4.3 Fuentes de información.....	36
1.4.4 Procesamiento de la información.....	37
1.4.5 Etapa I. Iniciación de un Análisis de Riesgo de Plagas.....	37
1.4.6 Etapa II. Evaluación del riesgo	37

1.4.7 Etapa III. Manejo del riesgo de plagas.....	38
1.4.8 Grado de incertidumbre	38
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
1.5.1 Etapa I. Inicio	39
1.5.2 Etapa II. Evaluación de Riesgo	39
1.5.3 Etapa III. Medidas de manejo del riesgo de la plaga	79
1.6 CONCLUSIONES.....	84
 CAPÍTULO II. EFECTO <i>in vitro</i> DE SALES CUATERNARIAS Y FUNGICIDAS	
SISTÉMICOS CONTRA <i>Fusarium oxysporum f. sp. cubense</i> Raza “1 o 2”.....	
2.1 RESUMEN.....	85
2.2 ABSTRACT	86
2.3 INTRODUCCIÓN.....	87
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	90
2.4.1 Aislamientos de <i>Fusarium oxysporum f. sp. cubense</i>	90
2.4.2 Caracterización molecular de los aislamientos	90
2.4.3 Sensibilidad de aislamientos de Foc a sales cuaternarias de amonio en sistema <i>in vitro</i>	92
2.4.4 Sensibilidad de los aislamientos de Foc a fungicidas comerciales en sistema <i>in vitro</i>	93
2.4.5 Diseño experimental y análisis estadístico de los datos.....	94
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	95
2.5.1 Análisis filogenético	95

2.5.2 Sensibilidad de aislamientos de Foc Raza “1 o 2” a sales cuaternarias de amonio <i>in vitro</i>	96
2.5.3 Sensibilidad <i>in vitro</i> de aislamientos de Foc raza “1 o 2” a fungicidas comerciales	102
2.6 CONCLUSIONES.....	108
CAPÍTULO III. INHIBICIÓN <i>in vitro</i> DE BACTERIAS ANTAGONISTAS EN	
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i> Raza “1 o 2”	110
3.1 RESUMEN.....	110
3.2 ABSTRACT	111
3.3 INTRODUCCIÓN.....	112
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	114
3.4.1 Aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i> Raza “1 o 2”	114
3.4.2. Pruebas de inhibición de bacterias antagonistas <i>in vitro</i> hacia los aislamientos de Foc.....	115
3.4.3 Diseño experimental y análisis estadístico de los datos.....	118
3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	119
3.5.1 Pruebas de inhibición del crecimiento micelial del patógeno.....	119
3.5.2 Pruebas de viabilidad de propágulos del patógeno	130
3.6 CONCLUSIONES.....	132
DISCUSIÓN GENERAL DE LOS RESULTADOS.....	134
CONCLUSIONES GENERALES.....	140
PERSPECTIVAS GENERALES	142
LITERATURA CITADA	143

LISTAS DE CUADROS

Cuadro 1. Producción y exportación de bananos y plátanos a nivel mundial, América y México (FAOSTAT, 2021).....	8
Cuadro 1.1. Mercancías de plátano y banano que han sido interceptadas en las OISAS de la Dirección General de Inspección Fitozoosanitarias (DGIF, 2019).....	41
Cuadro 1.2. Intercambio comercial de México vía marítima por regiones en toneladas durante 2019 (SCT, 2021).....	53
Cuadro 1.3. Intercambio comercial marítimo de México con países con presencia de Foc R4T, durante 2019 (SCT, 2021).....	54
Cuadro 1.4. Movimiento total de contenedores operados por puerto, durante 2019 (SCT, 2021).	55
Cuadro 1.5. Cantidad de flujo de contenedores equivalentes a 20 pies vía marítima durante el periodo de 2015-2017 de algunos países con presencia de Foc R4T (Grupo Banco Mundial, 2019).....	55
Cuadro 1.6. Arribo de buques de carga y embarcaciones menores a 500 toneladas que arribaron a los puertos de México en 2018 (SCT, 2019).....	60
Cuadro 1.7. Arribo de buques en los principales puertos del México por tipos de carga (SCT, 2021).	60
Cuadro 1.8. Número de cruceros internacionales que arribaron a México, en 2019 (SCT, 2021).	62
Cuadro 1.9. Variedades de banano y plátano cultivadas en México, ciclo agrícola 2020 (SIAP, 2021).	64

Cuadro 1.10. Evaluación de Riesgo total determinado para Foc R4T para México de acuerdo a la NIMF no 11. Elaboración propia Departamento de Análisis de Riesgo (2021).	79
Cuadro 2.1. Origen de los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> depositadas en la colección del Laboratorio de Micología, del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-SENASICA).	90
Cuadro 2.2. Ingredientes activos, grupos toxicológicos y modo de acción de los seis fungicidas sistémicos evaluados en el presente estudio (Jeschke <i>et al.</i> , 2019).	93
Cuadro 2.3. Inhibición del crecimiento micelial de cinco aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> raza “1 o 2”) a sales cuaternarias de amonio.	97
Cuadro 2.4. Inhibición del crecimiento micelial de cinco aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> Raza “1 o 2”) a dosis de 500 µg mL ⁻¹ de seis fungicidas comerciales.	104
Cuadro 3.1. Origen de los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> Raza “1 o 2”, depositadas en la colección del Laboratorio de Micología, del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-Senasica).	114
Cuadro 3.2. Origen de las cepas de bacterias antagonistas evaluadas	116
Cuadro 3.3. Inhibiciones fúngicas comparativas (promedio de las cinco cepas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> Raza “1 o 2”) obtenidas de dos bioensayos de confrontaciones fúngicas con siete y tres bacterias antagonistas, después de 14 días de evaluación.	119
Cuadro 3.4. Efecto inhibitorio de las bacterias <i>Paenibacillus</i> sp. (BSP 1.1), <i>Serratia</i> sp. (AC 35) y su combinación, contra <i>Fusarium oxysporum</i> (MIC17188) f. sp. <i> cubense</i>	

Raza “1 o 2”, con 7 días de preinoculación bacteriana, y después de 7 días de
confrontación. 128

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* esporas observadas al microscopio: (a) microconidio, (b) macroconidio y (c) clamidospora (Lara-Fiallos, 2009). 11
- Figura 2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. (A) macroconidios, (B) microconidios, (C) fialides y microconidios agrupados en falsas cabezas, (D) clamidosporas, (E) crecimiento miceliar de Foc RT4 en medio PDA, y (F) coloración naranja de esporodoquios de Foc RT4 desarrollados en PDA (Pérez-Vicente *et al.*, 2014). 12
- Figura 3. *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 en medio K2 modificado, las colonias de aislamientos de los cultivares Cavendish se observan de un color amarillento en el fondo (Qi *et al.*, 2008). 12
- Figura 4. Distribución mundial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical. (Bentley *et al.*, 1998; Ploetz and Pegg, 2000; Molina *et al.*, 2008; Molina *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013; IPPC, 2013a; Stellenbosch University, 2013; García-Bastidas *et al.*, 2014; Ordoñez *et al.*, 2016; Hung *et al.*, 2018; Maymon *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2018; Ploetz, 2018; ICA, 2019; IPPC, 2019a; PHA, 2019; EPPO, 2020; Thangavelu *et al.*, 2019; Özarıslan dan y Akgül, 2020; SENASA, 2021). 14
- Figura 5. Ciclo de vida de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en banano. A. Reservorio de propágulos. B. Germinación de clamidosporas y penetración de tubos germinativos a las raíces. C. El hongo penetra la epidermis y coloniza el sistema vascular. D. Producción de conidios y clamidosporas en el tejido vascular. Los conidios son distribuidos rápidamente a través de la planta mediante el sistema de transpiración. El micelio y la goma producida, bloquean los tejidos vasculares

y el primer síntoma de amarillamiento se observa en las hojas más viejas. E. La destrucción del tejido vascular provoca marchitamiento intenso. F. La planta infectada muere y cae, y el hijuelo, que fue contaminado a través de la conexión vascular muestra síntomas iniciales. el ciclo de la enfermedad comienza nuevamente (Dita *et al.*, 2018)..... 18

Figura 1.1. Flujo de migrantes venezolanos en Colombia. (Tomado de Colombia Information Management and Analysis Unit, 2019)..... 49

Figura 1.2. Intercambio comercial marítimo (toneladas) de México con los principales países, durante el 2018 (SCT, 2021)..... 53

Figura 1.3. Total del número de buques que arribaron por puerto en 2019 (SCT, 2019)..... 61

Figura 1.4. Producción nacional de plátano en México por variedad y municipio, ciclo agrícola 2020 (SIAP, 2022). 64

Figura 1.5. Modelo de distribución potencial (Maxent) mundial para de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical. Elaboración propia Coordinación de Análisis de riesgo de plagas (2019). 65

Figura 1.6. Modelo de distribución potencial (Maxent), de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical en México. Elaboración propia Coordinación de Análisis de riesgo de plagas (2019). 66

Figura 1.7. Condiciones climatológicas óptimas para el posible desarrollo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical en México. Elaboración propia Coordinación de Análisis de riesgo de plagas (2021)..... 68

Figura 2.1. Análisis filogenético de 4 aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> (MIC17188, MIC17189, MIC17190, and MIC17191) aislados de Puebla y Michoacán, México.....	96
Figura 2.2. Crecimiento micelial <i>in vitro</i> de cinco aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> (MIC17188, MIC17189, MIC17190, MIC17191 y MIC17192) en medio de cultivo PDA con sales cuaternarias de amonio de cuarta generación (31.25, 62.5, 93.75, 125, 187.5, 250, 312.5, 375 $\mu\text{g mL}^{-1}$), después de 8 días de evaluación.	97
Figura 2.3. Inhibición del crecimiento micelial <i>in vitro</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en PDA enriquecido con 8 dosis de sales cuaternarias de amonio ($\mu\text{g mL}^{-1}$), después de 8 días de evaluación.....	98
Figura 2.4. Crecimiento micelial <i>in vitro</i> de cinco aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en medio de cultivo PDA enriquecido con sales cuaternarias de amonio de cuarta generación (125, 250, 500, 750, 1000 y 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), después de 8 días.	99
Figura 2.5. Inhibición del crecimiento micelial <i>in vitro</i> de cinco aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> (A-E) en medio de cultivo PDA enriquecido con cuatro dosis (125, 250, 500 y 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación, a 1, 5, 6, 7 y 8 días de evaluación. N=5.....	101
Figura 2.6. Inhibición del crecimiento micelial <i>in vitro</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en PDA enriquecido con 8 dosis de sales cuaternarias de amonio ($\mu\text{g mL}^{-1}$), después de 8 días de evaluación.....	102

- Figura 2.7. Crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. *sp. cubense* raza “1 o 2” (MIC17188, MIC17189, MIC17190, MIC17191 y MIC17192) en medio PDA enriquecido con 10, 50, 100 y 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de seis fungicidas comerciales (Quinoxifen, Pyraclostrobin, Epoxiconazol, Tebuconazol, Carbendazim y Benomyl), después de 8 días..... 103
- Figura 3.1. Inhibición *in vitro* de *Serratia liquefaciens* (CPA C53), *Bacillus pumilus* (R44), *B. pumilus* (A1), *B. pumilus* (BFIES 4C), *Pseudomonas tolaasii* (P61), *Serratia* sp. (AC 35), *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) contra cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. *sp. cubense* Raza “1 o 2”, a los 14 días de evaluación. A) Efecto en el crecimiento micelial, y B) Porcentaje de inhibición. Medias + Error estándar. n=4. 120
- Figura 3.2. Crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. *sp. cubense* en presencia de las bacterias antagonistas, *Pseudomonas tolaasii* (P61), *Serratia* sp. (AC 35), *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1), después de 3, 7, 10 y 14 días. Medias + Error estándar. n=4. 121
- Figura 3.3. Crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. *sp. cubense* Raza “1 o 2” aislamiento MIC17188 en presencia de las bacterias antagonistas *Paenibacillus* sp. BSP1.1 y *Serratia* sp. AC35, después de 14 días de evaluación. 121
- Figura 3.4. Inhibición *in vitro* de *Bacillus subtilis* (BASU), *Bacillus sonorensis* (BASO), y *Bacillus velezensis* (BAVE) contra los aislamientos MIC17188, MIC17191 y MIC17192 de *Fusarium oxysporum* f. *sp. cubense* Raza “1 o 2”. A) Crecimiento

micelial, y B) porcentaje de inhibición. Después de 14 días de evaluación. Medias + Error estándar. n=4.....	125
Figura 3.6. Crecimiento micelial <i>in vitro</i> de los aislamientos MIC17188, MIC17191 y MIC17192, de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> Raza “1 o 2” en presencia de las bacterias <i>Bacillus subtilis</i> (BASU), <i>Bacillus sonorensis</i> (BASO) y <i>Bacillus</i> <i>velezensis</i> (BAVE). Después de 14 días de evaluación. Medias + Error estándar. n=4.	127
Figura 3.7. Inhibición <i>in vitro</i> del consorcio <i>Paenibacillus</i> sp. (BSP 1.1) y <i>Serratia</i> sp. (AC35) contra el aislamiento MIC17188 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> a tres tiempos de preinoculación bacteriana (2, 4 y 7 días). A) Crecimiento micelial, y B) Porcentaje de inhibición. Después de siete días de evaluación. Medias + Error estándar. N=3.....	128
Figura 3.9. Porcentaje de inhibición de conidios de los aislamientos MIC17188, MIC17189, MIC17191 y MIC17192 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> en suelo estéril más la adición de <i>Paenibacillus</i> sp. (BSP 1.1). Después de 42 días de evaluación. Medias + Error estándar. n=3.....	131
Figura 3.10. Tendencia de la inhibición de la viabilidad de los conidios de los aislamientos MIC17188, MIC17189, MIC17191 y MIC17192 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> en suelo estéril más la adición de <i>Paenibacillus</i> sp. (BSP 1.1). Periodo de 21 a 42 días de evaluación. Medias + Error estándar. n=3.	132

INTRODUCCIÓN GENERAL

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* (Foc), agente causal de la Fusariosis de las musáceas, se reportó por primera vez en Australia, en 1874, y posteriormente, en 1890 se reportó en Panamá y Costa Rica (América); por lo que, hipotéticamente este patógeno se dispersó desde estos dos países al resto de este continente (Ashby, 1913; Fish, 1970). Existen tres razas de este patógeno que afectan plátanos y bananos: i) Raza 1 (FocR1) afecta a *Musa textilis* (abacá), bananos de los clones Gros Michel (AAA), Maqueño (AAB), Silk (AAB), Pome (AAB), Pisang Awak (ABB) e IC2 (AAAA); ii) Raza 2 (FocR2) afecta bananos de clones Bluggoe (ABB) y otros híbridos del genoma AAAA; y iii) la Raza 4 Tropical (Foc R4T) es un patógeno agresivo en los cultivares Cavendish (AAA), como Dwarf Cavendish, Grand Nain y Williams, así como en los demás cultivares susceptibles a FocR1 y FocR2 (Su *et al.*, 1986; Ploetz, 2005). En México, esta enfermedad se reportó por primera vez en 1932 (Ploetz, 2018). FocR1 provocó daños que impactaron en la industria bananera en América, cuya producción se basaba en la variedad Gros Michel, lo que ocasionó la desaparición de la mayoría de las plantaciones comerciales de esta variedad en el período de 1950 a 1960, provocando pérdidas económicas de hasta \$2.3 mil millones de dólares (Dita *et al.*, 2013). En el Valle de Ulúa (Honduras) se perdieron 30,000 ha en el período de 1940 a 1960; mientras que en Surinam y Quepos (Costa Rica) se perdieron alrededor de 4,000 y 6,000 ha en un período de ocho y 12 años, respectivamente (Ploetz, 2000). En México, durante la década de 1960 y principios de 1970, cerca de 40,000 ha cultivadas con la variedad Gros Michel fueron arrasadas; tan solo en 1994 había alrededor de 4,000 ha de plátano Manzano, las cuales se redujeron a 1,260 ha, en 2004 (Orozco-Santos, 2013) y para el ciclo 2020 se tenían establecidas 1,690 ha (SIAP, 2022). Para contrarrestar las pérdidas económicas provocadas por FocR1, la solución a nivel mundial consistió en reemplazar aquellas plantaciones establecidas con Gros

Michel por variedades resistentes del subgrupo Cavendish, que representan más del 99 % del banano de exportación (Dita *et al.* 2018). Por otra parte, se reportó por primera vez a Foc R4T en Taiwán en 1989 (Ploetz, 2018), para 2022 su distribución comprende Australia, Birmania, China, Colombia, Filipinas, India, Indonesia, Islas Mayotte (Francia), Israel, Jordania, Laos, Líbano, Malasia, Mozambique, Omán, Pakistán, Perú, Reino Unido, Tailandia, Taiwán, Turquía y Vietnam (Ploetz *et al.*, 2018; Promusa, 2018; DOA. 2019; ICA, 2019; Aguayo *et al.*, 2021; García-Bastidas *et al.*, 2020a; Özarslandan y Akgül, 2020; SENASA, 2021). La presencia de este patógeno en dos países de América podría incrementar el riesgo de su introducción en México. Aun cuando los bananos del grupo Cavendish son resistentes a las razas 1 y 2 (Su *et al.*, 1986), no existen variedades de banano o plátano resistentes Foc R4T (Cook *et al.*, 2015). En ese sentido, dentro del grupo de clones de banano obtenidas por variación somaclonal por el Taiwan Banana Research Institute (TBRI) solamente el cultivar GCTCV-215 se comporta como altamente resistente a Foc R4T (Mintoff, 2021), dicho cultivar fue registrado de manera comercial en 1992 como Tai-Chiao No. 3 y ha sido remplazado por el clon GCTCV registrado de manera comercial en 2002 como Formosana (ProMusa, 2020), el cual presenta una resistencia intermedia a Foc R4T (Mintoff, 2021). Por otra parte, los híbridos FHIA-01 (Goldfinger), FHIA-02 y FHIA-25, así como los clones SH-3362, SH-3142 y SH-3748 son altamente resistentes al patógeno (Mintoff, 2021) también los nuevos híbridos Cirad-03, Cirad-04, Cirad-05, Cirad-8 y Pisang Gajih Merah desarrolladas por el Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) presentan una alta resistencia a Foc R4T (Mintoff, 2022). Sin embargo, actualmente no existe ninguna variedad, clon o híbrido de plátano o banano con resistencia completa a Foc R4T disponible de manera comercial. Tampoco existen productos químicos efectivos contra Foc R4T (Cook *et al.*, 2015).

En cuanto a la aplicación de fungicidas, Soma *et al.* (2008) reportaron que Carbendazim a dosis de 100 y 200 ppm inhibió el 100% del crecimiento micelial *in vitro* de *F. oxysporum*, mientras que la dosis de 50 ppm inhibió de 57%; sin embargo, no especificaron la *forma specialis*, ni la raza fisiológica. Por su parte Somu *et al.* (2014), reportaron que Carbendazim, Carboxin, Propiconazole y Benomyl a dosis de 500, 1000 y 2000 ppm inhibieron el 100% del crecimiento micelial *in vitro* de *F. oxysporum* f. sp *cubense*; mientras que Difenconazol a dosis de 2000 ppm, 1000 ppm y 500 ppm inhibió 100%, 85.9% y 81.6% el desarrollo micelial del hongo, respectivamente; en el caso de Aoxystrobin a dosis de 2000 ppm, 1000 ppm y 500 ppm inhibió 73.5%, 48.7%, 41.4% el desarrollo micelial del hongo, respectivamente. Sin embargo, no se especificó la raza fisiológica del patógeno. Por su parte, Niwas *et al.* (2020) reportaron que los fungicidas Carbendazim, Aoxystrobin y Propiconazol a dosis de 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm y 100 ppm no inhibieron completamente el desarrollo micelial de *F. oxysporum* f. sp *cubense* (tampoco se especificó la raza fisiológica), en promedio los fungicidas Carbendazim, Aoxystrobin y Propiconazol inhibieron 82.3%, 83.3% y 72.4% respectivamente para las cuatro dosis. Además, Solpot y Cumagun (2019) informaron que los fungicidas Dibromo-3-nitropropionamida a dosis de 30, 20 y 10 ml L⁻¹ y Tebuconazol+Trifloxistrobina a las mismas dosis inhibieron completamente el desarrollo micelial *in vitro* de Foc R4T, así mismo, Dibromo-3-nitropropionamida a dosis de 10 ml L⁻¹ y Tebuconazol+Trifloxistrobina a dosis de 1 g L⁻¹ inhibieron completamente la infección y severidad de Foc R4T en condiciones de campo. Por su parte, Kavino y Manoranjitham (2018) reportaron que la aplicación de Carbendazim 2% a plántulas de banano micropropagadas redujo 53.3% la incidencia de reducida Foc Raza1.

Respecto al uso de desinfectantes, Nel *et al.* (2006) reportaron que una dosis de 10 µg mL⁻¹ de una mezcla de sales de amonio cuaternario y polímeros clorhidrato de biquanidina resultó en una

inhibición completa del crecimiento micelial de Foc, mientras que la aplicación de Farmcleanse (un producto comercial) a la misma dosis no induce inhibición total. Además, Meldrum *et al.* (2013) informó que las concentraciones de Farmcleanse sean inferiores al 2.0 %, no inhibió la germinación de microconidios Foc.

Así mismo, se han propuesto algunos esquemas de control biológico basados en el uso de bacterias y hongos antagonistas contra las razas Foc (Bubici *et al.*, 2019); por ejemplo, la bacteria *Burkholderia cenocepacia* 869T2 presentó 44.4% de inhibición *in vitro*, y redujo en 86.1% la incidencia de Foc R4T en banano Cavendish en campo (Ho *et al.*, 2015). También *Pseudomonas fluorescens* y *P. fluorescens* WCS417 redujeron (83.4% y 87.4%, respectivamente) la severidad de Foc R4T en banano Cavendish en invernadero. El uso de biofertilizantes basados en abono de cerdo en combinación con *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 redujo 75% la incidencia de Foc R4T en banano Cavendish en invernadero (Shen *et al.*, 2015), mientras que la misma bacteria disminuyó 68.5 % la incidencia de Foc R4T en campo (Xue *et al.*, 2015). Por otra parte, *B. amyloliquefaciens* W19 redujo 42.8% y 44.4% la incidencia de Foc en dos campos de banano Cavendish (Wang *et al.*, 2016); *B. subtilis* N11 redujo 82.1% la incidencia de Foc R4T, mientras que la combinación de *Paenibacillus polymyxa* SQR21 + *Trichoderma harzianun* T37 redujo 64.3% la incidencia de Foc R4T, en banana Cavendish (Zhang *et al.*, 2011).

Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron: **Capítulo I**, 1) Evaluar el riesgo que representa la posible llegada del hongo a México y el impacto económico que puede tener en el sector agrícola nacional; 2) Identificar sitios potenciales de riesgo de introducción y establecimiento de Foc R4T en México, y 3) Documentar y recomendar posibles técnicas de monitoreo y manejo de la plaga. **Capítulo II**, Evaluar el efecto *in vitro* de sales cuaternarias de amonio y fungicidas sistémicos, en el desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Raza “1 o 2”, como modelo de hongo fitopatógeno, dada su presencia en México, con la finalidad de proponer la implementación de medidas preventivas de bioseguridad en puntos de entrada a nuestro país para evitar la introducción de Foc R4T a México y esquemas de control químico en plantaciones comerciales. **Capítulo III**, evaluar el efecto *in vitro* de bacterias en el desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2. Lo anterior, con la finalidad de proponer un esquema de manejo fitosanitario ante el riesgo de introducción de Foc R4T al país.

REVISIÓN DE LITERATURA

Introducción

Los bananos y plátanos son originarios del sureste de Asia y oeste del Pacífico, son especies monocotiledóneas de la familia Musaceae, generadas a partir de cruces entre *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana* (genoma B), existen bananos diploides (AA y AB), triploides (AAA, AAB y ABB) y tetraploides (AAAA, AAAB y AABB) [Nadal-Medina *et al.*, 2009; Robinson y Galán Saucó, 2010]. Los bananos dulces o de postre frecuentemente (no siempre) son diploides o triploides de *M. acuminata*; mientras que los plátanos y otros bananos de cocción frecuentemente (no siempre) son triploides derivados de la cruce de *M. acuminata* con *M. balbisiana* (OECD, 2010); por ejemplo, las bananas de postre y algunas bananas de cocción presentan genoma AAA, los plátanos genoma AAB y las bananas de cocción genoma ABB (Swennen y Ortiz, 1997). La principal diferencia entre plátanos y bananos es la conversión de almidón a azúcares solubles durante la etapa de maduración, en los frutos de plátanos maduros aun contienen altos niveles de almidón de 10-15 % los cuales afectan al sabor de los frutos, por lo que se consumen ya sea hervidos o fritos; mientras que frutos verdes de bananas contienen alto contenido de almidón y es convertido en azúcar soluble, principalmente sucrosa durante la maduración de los frutos en donde se presentan niveles de 0.5 a 2.0% de almidón (Borges y Maraschin, 2016). Por lo tanto, las bananas de postre se consumen cuando los frutos están completamente maduros; mientras los plátanos se consumen desde que los frutos están verdes hasta que están maduros, los cuales son consumidos hervidos o fritos (Adeniji *et al.*, 2006). En cuanto a morfología, los bananos presentan una inflorescencia completa (flores femeninas, flores neutras y yema terminal masculina) mientras que los plátanos presentan inflorescencias incompletas excepto por el plátano Francés que presenta una inflorescencia completa (Swennen y

Ortiz, 1997). Los principales cultivares comerciales son triploides, altamente estériles, partenocárpicos y propagados asexualmente, estas especies son importantes debido a que generan divisas y son medios de subsistencia; en América Central y el Caribe el cultivo de híbridos tetraploides de *M. acuminata* cobró importancia en el siglo XIX como un cultivo de exportación, donde actualmente, el 95% del cultivo de banano se basa en el grupo Cavendish. Mientras que el mayor cultivo y consumo de los plátanos se encuentra en la parte central y oeste de África (Nadal-Medina *et al.*, 2009; Robinson y Galán Sauco, 2010). Las musáceas son de los cultivos agrícolas de mayor valor económico a nivel mundial, en el ciclo agrícola 2019, se cosechó una superficie de 10,872,821 ha con una producción mundial de 158,360,411 toneladas (t) que correspondieron al 74% de banano y 26% de plátano. En el caso de banano se exportó el 24% de la producción mundial de este fruto, el 68% de dicha exportación provenía de la zona de producción del Continente Americano; por otra parte, México exportó el 24% de su producción (**Cuadro 1**) [FAOSTAT, 2021].

Fenómenos climáticos adversos, tales como “El Niño”, además de la marchitez por *Fusarium* (Fusariosis) han afectado la producción y exportación de plátanos y bananos a nivel mundial; por ejemplo, en Filipinas, una prolongada sequía afectó la calidad y volumen de producción de bananos, este país registró en 2015 una disminución de 1,827,900 t en sus exportaciones, respecto al año anterior (FAO, 2017a; FAO, 2017b). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) Raza 4 Tropical (R4T) es uno de los principales patógenos que afectan al cultivo de las musáceas (Ploetz, 2018). La identidad, clasificación taxonómica, morfología, origen, razas, hospedantes, biología, impacto económico son imprescindibles para proponer esquemas de manejo ante una eventual introducción de este patógeno a nuestro país.

Cuadro 1. Producción y exportación de bananos y plátanos a nivel mundial, América y México (FAOSTAT, 2021).

Cultivo	Superficie mundial (miles de hectáreas)	Producción (miles de toneladas)			Exportación (miles de toneladas)		
		Mundial	América	México	Mundial	América	México
Banano	5,158	116,781	29,738	2,227	24,760	16,866	572
Plátano	5,715	41,580	9,695	---	967	732	7
Total	10,873	158,361	39,433	2,227	25,727	17,598	579

Posición taxonómica de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* Raza 4 Tropical

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *F. oxysporum*

Forma especial: *cupense*

Raza: Raza 4 Tropical (IMA, 2021).

Sinonimias

Fusarium cupense E.F. Sm., *Fusarium oxysporum* var. *cupense* (E.F. Sm.) Wollenw y
Fusarium oxysporum f. *cupense* (E. F. Sm.) W. C. Snyder & H. N. Hansen (IMA, 2021).

Nombres comunes

Inglés: banana wilt, Fusarium wilt of banana, vascular wilt of banana and abaca. Español: fusariosis del plátano (CAB International, 2021; EPPO, 2021).

Notas taxonómicas

Se han identificado cuatro razas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* con base en la patogenicidad asociada a cultivares diferenciales en condiciones de campo (Moore *et al.*, 1993). Raza 1 ataca *Musa textilis* (abacá), bananos de los clones Gros Michel (AAA), Maqueño (AAB), Silk (AAB), Pome (AAB), Pisang Awak (ABB) y I.C.2 (AAAA); Raza 2 ataca bananos de clones de Bluggoe (ABB) y otros híbridos de genoma AAAA; Raza 3 afecta a las heliconias (*Heliconia* spp.) y Raza 4 Tropical es patogénica a cultivares de Cavendish (AAA), como Dwarf Cavendish, Grand Nain y Williams, y a todos los demás cultivares susceptibles a las razas 1 y 2 (Dita *et al.*, 2013).

Maryani *et al.* (2019) realizaron análisis filogenéticos de 180 aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, determinaron que existen nueve linajes independientes de este hongo, para lo cual propusieron especies nuevas: *F. odoratissimum* (*F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical), *F. purpurascens*, *F. phialophorum*, *F. grosnichelii*, *F. duoseptatum*, *F. tardichlamydosporum*, *F. cugenangense*, *F. hexaseptatum*, *F. tardicrescens*; las cuales presentaron patogenicidad en las variedades Cavendish y/o Gross Michel, excepto para *F. cugenangense*, y en el caso de *F. tardicrescens* no fue evaluada. También propusieron las especies *F. kalimantanense* y *F. sangayamense* para aislamientos obtenidos de *Musa* sp., pero no presentaron patogenicidad en Cavendish y Gross Michel. Lombard *et al.* (2019) y García-Bastidas *et al.* (2020a) utilizaron esta nueva propuesta de clasificación; Torres-Bedoya *et al.* (2021) mencionaron que existen discrepancias y errores en los análisis filogenéticos propuestos por Maryani *et al.* (2019).

Por lo tanto, esta nueva propuesta de clasificación aun no es aceptada y se sugiere mantener el nombre de Foc R4T hasta que la comunidad científica, la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) y las Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria (ONPF) a nivel internacional definan una postura oficial sobre la nueva propuesta de clasificación. Derivado de lo anterior, en la presente tesis, incluyendo el estudio de Análisis de Riesgo de Plagas, se tomará como nombre válido el de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Foc R4T).

Descripción morfológica

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* es una de las más de 100 formas especiales de *F. oxysporum*, contiene cepas patógenas y saprófitas que no se pueden distinguir morfológicamente (Ploetz, 2000). Además, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* es un hongo anamorfo sin etapa sexual (teleomorfo) conocida. El hongo produce macroconidios, microconidios y clamidosporas para su reproducción y dispersión (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

Los macroconidios y microconidios (**Figuras 1a, 1b, 2A y 2B**) se producen en estructuras conocidas como esporodoquios de color naranja (**2F**) [Pérez-Vicente *et al.*, 2014]. Los macroconidios miden de 27 a 55 x 3.3 a 5.5 μm (Ploetz, 2000; Pérez-Vicente *et al.*, 2014), son abundantes, falcados a casi rectos, de paredes delgadas, con 3 a 5 septos (generalmente 3 septos). La célula apical es atenuada o en forma de gancho en algunos aislamientos y las células basales tienen forma de pie. Los macroconidios se desarrollan en fialides únicas en hifas (Pérez-Vicente *et al.*, 2014). Los microconidios miden de 5 a 16 x 2.4 a 3.5 μm (Ploetz, 2000; Pérez-Vicente *et al.*, 2014), generalmente sin septos, de forma ovalada, elíptica o reniformes, y se forman abundantemente en falsas cabezas en monofiálides cortas (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

Las clamidosporas terminales e intercalares miden de 7 a 11 μm de diámetro, generalmente son globosas y se forman individualmente o en pares en hifas (**Figura 2D**) su desarrollo puede ser más lento en algunos aislamientos (Ploetz, 2000; Pérez-Vicente *et al.*, 2014). Atípicamente para la especie, las clamidosporas no son producidas por aislamientos de *F. oxysporum* f. sp. *ubense* en el grupo de compatibilidad vegetativa (VCG) 01214 (Ploetz, 2000).

Las colonias (**Figura 2E**) crecen de 4 a 7 mm / día en medio papa-destrosa-agar (PDA) a 24 °C (Ploetz, 2000) y, además, presentan una morfología variable. El micelio puede ser veloso a algodónoso, disperso o abundante y de color blanco, con tonos variables de salmón a violeta pálido (**Figura 3**); y algunos aislamientos pueden producir esclerocios de color negro a violeta (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

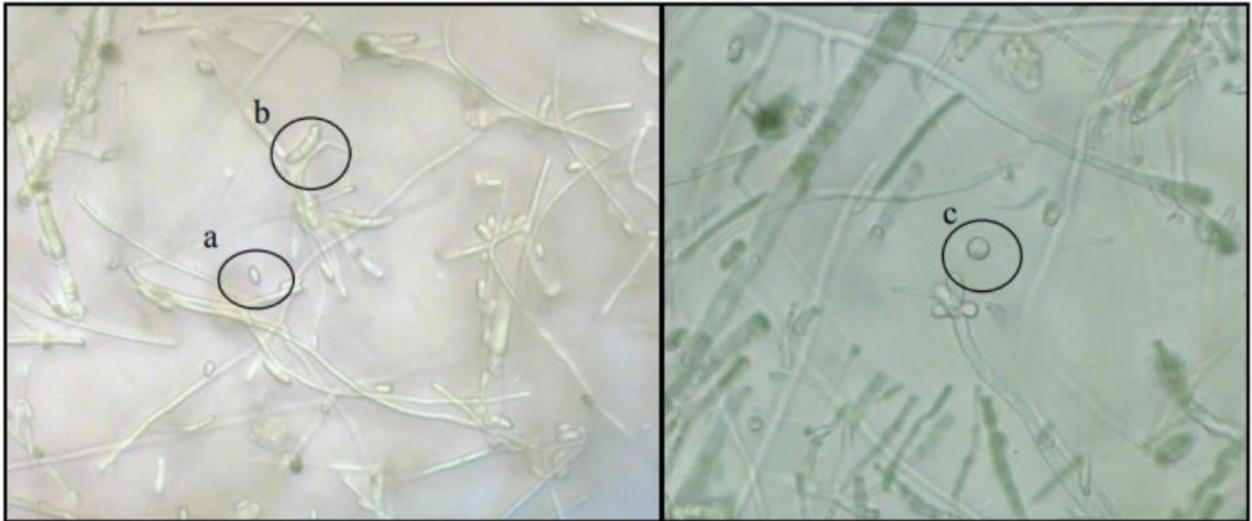


Figura 1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* esporas observadas al microscopio: (a) microconidio, (b) macroconidio y (c) clamidospora (Lara-Fiallos, 2009).

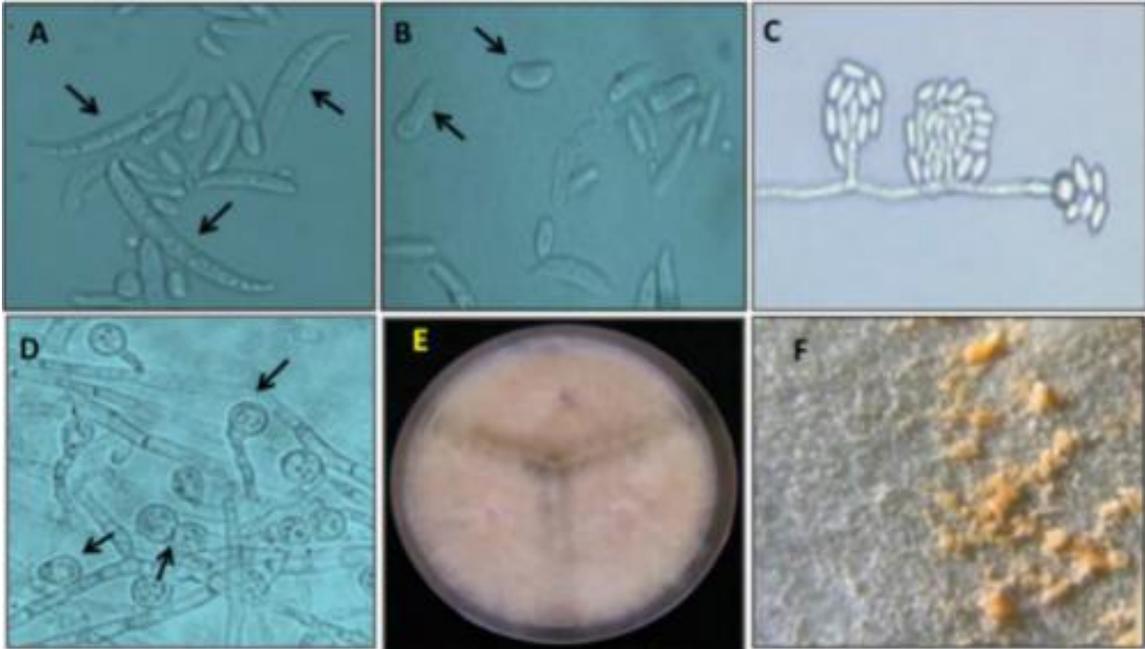


Figura 2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. (A) macroconidios, (B) microconidios, (C) fialides y microconidios agrupados en falsas cabezas, (D) clamidosporas, (E) crecimiento micelial de Foc RT4 en medio PDA, y (F) coloración naranja de esporoquios de Foc RT4 desarrollados en PDA (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).



Figura 3. *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 en medio K2 modificado, las colonias de aislamientos de los cultivares Cavendish se observan de un color amarillento en el fondo (Qi *et al.*, 2008).

Distribución geográfica

Origen y distribución de las razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

La fusariosis del banano causada por *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (raza 1), Bancroft reportó por primera vez esta enfermedad en Australia en 1874 (Fish, 1970), en *Musa maculata* y en plátanos dulces (Simmonds, s/a); su centro de origen posiblemente es el sureste de Asia, debido a su coevolución con sus plantas hospedantes (Ploetz y Pegg, 1997). En América, se reportó por primera vez en Costa Rica y Panamá (Ashby, 1913) en el cultivar de banano Gros Michel, base de la producción y del comercio internacional en esa época, debido a los daños que causó Foc raza 1 en esta variedad fue reemplazada por los cultivares resistentes del grupo Cavendish (Dita *et al.*, 2017 y 2018).

La cronología de la dispersión de las razas 1 y 2 de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en el continente Americano es la siguiente: Panamá y Costa Rica en 1890, Jamaica en 1902-1903, Surinam en 1906, Trinidad y Tobago en 1907-1909, Cuba 1908-1910, Puerto Rico y Guatemala en 1910, Belice en 1913, Honduras en 1916, Nicaragua en 1919, República Dominicana en 1926, Colombia y Ecuador en 1929, Guyana y Venezuela en 1930, Brasil en 1931, Martinica y México en 1932, Dominica en 1936, Guadalupe en 1937, Haití e Islas Caimán en 1938, El Salvador en 1956, Perú en 1959 y Estados Unidos de Norteamérica (Florida) en 1986 (Ashby, 1913; Viljoen, 2015; Ploetz, 2018).

En 1989, Ploetz detectó el nuevo aislamiento de Foc en muestras provenientes de Taiwan el cual pertenecía a un nuevo Grupo de Compatibilidad Vegetativa (VCG 01213), y lo designó como Foc Raza 4 Tropical (Ploetz, 2018). La cronología de la dispersión mundial de Foc R4T (**Figura 4**) es la siguiente: Taiwán en 1989, Indonesia y Malasia en 1992, China en 1996, Australia en

1997, Isla de Sumatra en 1998, Filipinas en 2005, Jordania en 2006, Oman en 2012, Pakistán en 2012, Líbano y Mozambique en 2013, Vietnam en 2014, India en 2015, Birmania, Israel y Laos en 2016, Turquía en 2019, Colombia y Tailandia en 2019, Islas Mayotte en 2020, y Perú en 2021 (Bentley *et al.*, 1998; Ploetz and Pegg, 2000; Molina *et al.*, 2008; Molina *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013; IPPC, 2013a; Stellenbosch University, 2013; García-Bastidas *et al.*, 2014; Ordoñez *et al.*, 2016; Hung *et al.*, 2018; Maymon *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2018; Ploetz, 2018; ICA, 2019; IPPC, 2019a; PHA, 2019; EPPO, 2020; Thangavelu *et al.*, 2019; Özarslandan y Akgül, 2020; SENASA, 2021).

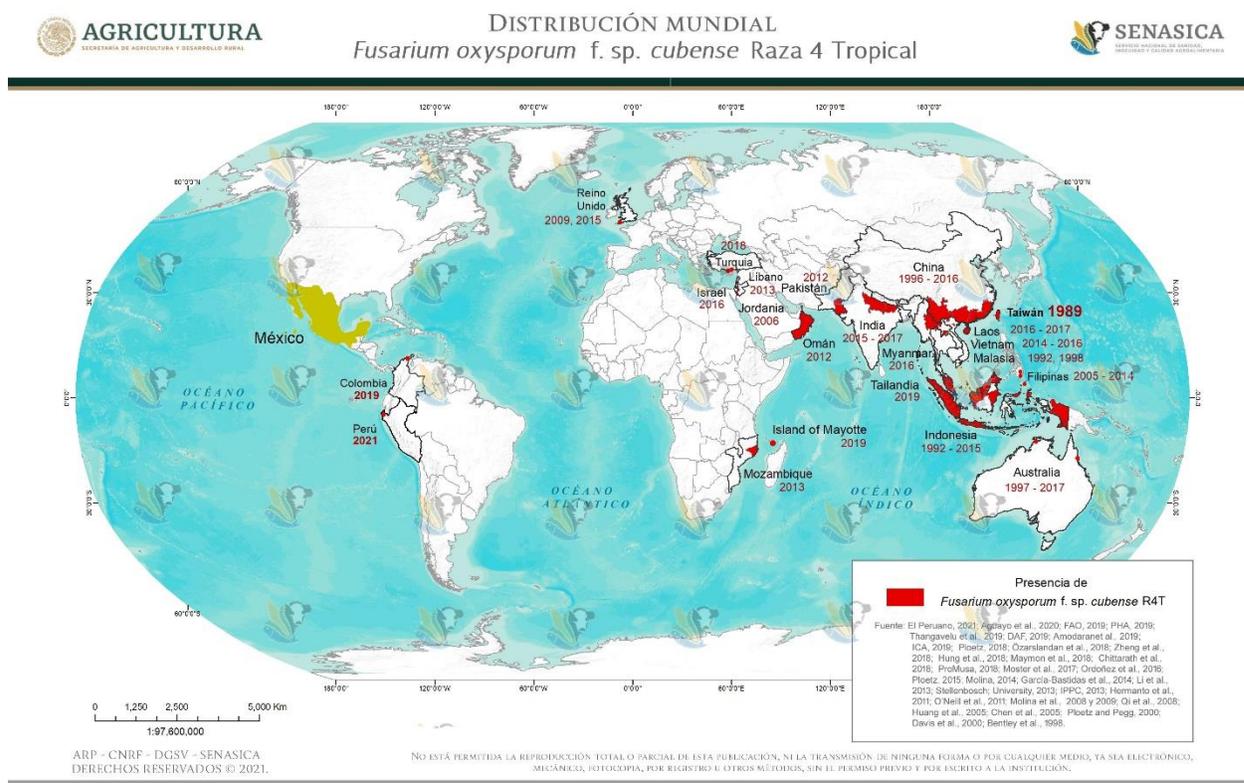


Figura 4. Distribución mundial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical. (Bentley *et al.*, 1998; Ploetz and Pegg, 2000; Molina *et al.*, 2008; Molina *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013; IPPC, 2013a; Stellenbosch University, 2013; García-Bastidas *et al.*, 2014; Ordoñez *et al.*, 2016; Hung *et al.*, 2018; Maymon *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2018; Ploetz, 2018; ICA, 2019; IPPC, 2019a; PHA, 2019; EPPO, 2020; Thangavelu *et al.*, 2019; Özarslandan y Akgül, 2020; SENASA, 2021).

Rango de hospedantes de las 4 razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Los hospedantes de importancia económica reportados para Foc son las especies y variedades del género *Musa* spp., así como las especies ornamentales de heliconias (Su *et al.*, 1986; Dita *et al.*, 2013).

- Raza 1 ataca a *Musa textilis* (abacá), Gros Michel (genoma AAA), Maqueño (genoma AAB), Silk (genoma AAB), Pome (genoma AAB), Pisang Awak (genoma ABB) y I.C.2 (híbrido de genoma AAAA) [Ploetz, 2005; CAB International, 2021].
- Raza 2 ataca bananos de cocción, especialmente del subgrupo Bluggoe (genoma ABB) [Ploetz, 2005; CAB International, 2021].
- Raza 3 ataca *Heliconia* spp. (CAB International, 2021).
- Raza 4 ataca cultivares del subgrupo Cavendish (genoma AAA) como Dwarf Cavendish, Grand Nain y Williams, cultivares en los subgrupos de plátano y todos los cultivares susceptibles a las razas 1 y 2 y diversas variedades adicionales como Pisang Mas (genoma AA) [Ploetz, 2005].

Hospedantes silvestres de las 4 razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Como hospedantes secundarios para las razas de Foc se han reportado diferentes especies silvestres, algunas de las cuales son malezas en las plantaciones de bananos y plátanos como: *Chloris (inflata) barbata*, *Commelina diffusa*, *Cyanthilium cinereum*, *Cyperus iria*, *C. rotundus*, *Ensete ventricosum*, *Euphorbia heterophylla*, *Fimbristylis koidzumiana*, *F. purpureum*, *Gnaphalium purpureum*, *Ixophorus unisetus*, *Panicum purpurascens*, *Paspalum fasciculatum*, y

Tridax procumbens (Thangavelu y Uma, 2018; Waite y Dunlap, 1953; Su *et al.*, 1986; Hennessy *et al.*, 2005).

Como resultado de la investigación llevada a cabo en Australia por Hort Innovation, se tienen registros de especies alternativas (malezas) que pueden fungir como reservorio de Foc R4T, clasificados en base a las pruebas de inoculación en invernadero de la siguiente manera: **Alto:** *Cyanthillium cinereum*⁺, *Euphorbia heterophylla*⁺. **Alto medio:** *Cyperus brevifolius*, *Digitaria ciliaris*⁺, *Mitracarpus hirtus*⁺, *Physalis minima*⁺. **Medio:** *Axonopus compressus*, *Cyperus rotundus*, *Dichondra repens*⁺, *Euphorbia hirta*⁺, *Panicum maximum*, *Paspalum conjugatum*, *Tridax procumbens*⁺, *Urochloa humidicola*. **Bajo:** *Ageratum conyzoides*, *Chloris gayana* cv. *Callide*⁺, *Cleome aculeata*⁺, *Digitaria milaniana* cv. *Strickland*, *Eleusine indica*⁺, *Stachys arvensis*, *Synedrella nodiflora*, *Urochloa decumbens*. **Muy bajo:** *Amaranthus viridis*, *Arachis pintoi*, *Bidens pilosa*⁺, *Centella asiatica*, *Praxelis clematidea*. **No hospedante (no expresaron síntomas en pruebas de inoculación):** *Commelina cyanea*, *Conyza canadensis*⁺, *Conyza sumatrensis*, *Gamochaeta calviceps*, *Macroptilium atropurpureum*, *Solanum nigrum*⁺, **No identificado:** *Cynodon radiatus*⁺, *Microlaena stipoides*⁺, *Oxalis corniculata*⁺, *Sedum requienii*⁺, *Urochloa mutica*⁺, *Youngia japonica*⁺ (QDAFHI, 2020). **Nota:** en las especies marcadas con ⁺ se detectó alguna de las razas de Foc en campo.

Por otra parte, Li *et al.* (2018) reportaron la susceptibilidad de tomate variedad MoneyMaker a Foc R4T en condiciones de invernadero, la cual es una de las variedades más producidas en México (SIAP, 2017).

Biología, hábitos y daños

Proceso de infección: interacción planta-patógeno y desarrollo de la enfermedad. A continuación, se describe el ciclo de vida de Foc de acuerdo con lo publicado por Dita *et al.* (2018). En el suelo, las diferentes formas especiales de *F. oxysporum* muestran poca capacidad de movimiento o crecimiento sin el tejido del hospedante (**Figura 5A**). Las estructuras de Foc permanecen inactivas hasta que son estimuladas para germinar mediante exudados de la raíz de una planta hospedante, o por el contacto directo con tejidos de raíz susceptibles (**Figura 5B**). Los conidios e hifas de Foc se adhieren a la superficie de la raíz 1 o 2 días después de la inoculación. Las hifas pueden crecer a lo largo de las uniones entre las células epidérmicas de la raíz y colonizar la superficie de éstas. La infección toma lugar en las raíces secundarias o terciarias, pero no a través de la raíz principal. La penetración de las hifas puede ocurrir directamente o a través de heridas, y no se han observado apresorios verdaderos u otras estructuras.

Una vez que ocurre la penetración y el patógeno supera las primeras barreras del hospedante, el patógeno produce hifas y microconidios. Las hifas engrosadas, posteriormente se desarrollan en clamidosporas en los espacios intra e intercelulares. Algunas hifas pueden ser vistas en los vasos del xilema y crecer en el córtex de la raíz 10 días después de la inoculación. Una red de hifas se desarrolla en los espacios intercelulares a lo largo de las uniones de las células epidérmicas de la raíz, y también las hifas se pueden observar en el xilema del rizoma después de algunos días. Una vez que Foc alcanza la zona vascular de las raíces laterales, la infección del rizoma comienza (**Figura 5C**). La colonización de Foc a los haces vasculares del rizoma, obstruye los vasos, interfiriendo con ello en la absorción de nutrientes y el transporte ascendente de agua hacia el pseudotallo y hojas. La infección del rizoma es la etapa más importante en el desarrollo de la enfermedad. Una vez que el rizoma es colonizado, la infección se vuelve sistémica, alcanzando el

pseudotallo (**Figuras 5D, 5E**), observándose una gran cantidad de hifas en el pseudotallo 17 días después de la inoculación y la planta puede morir 24 días después de este proceso. Bajo condiciones naturales, la enfermedad es principalmente percibida durante la floración (**Figura 5D**). Los cultivares susceptibles en presencia de inóculo pueden mostrar síntomas externos a los 3 meses después de la siembra. Los conidios y clamidosporas producidas se reincorporan al suelo cuando la planta muere (**Figura 5F**). Las clamidosporas pueden permanecer latentes o en hospedantes secundarios por varios años o comenzar un nuevo ciclo de enfermedad cuando se presentan las condiciones favorables y hospedantes susceptibles son disponibles (**Figura 5A**).

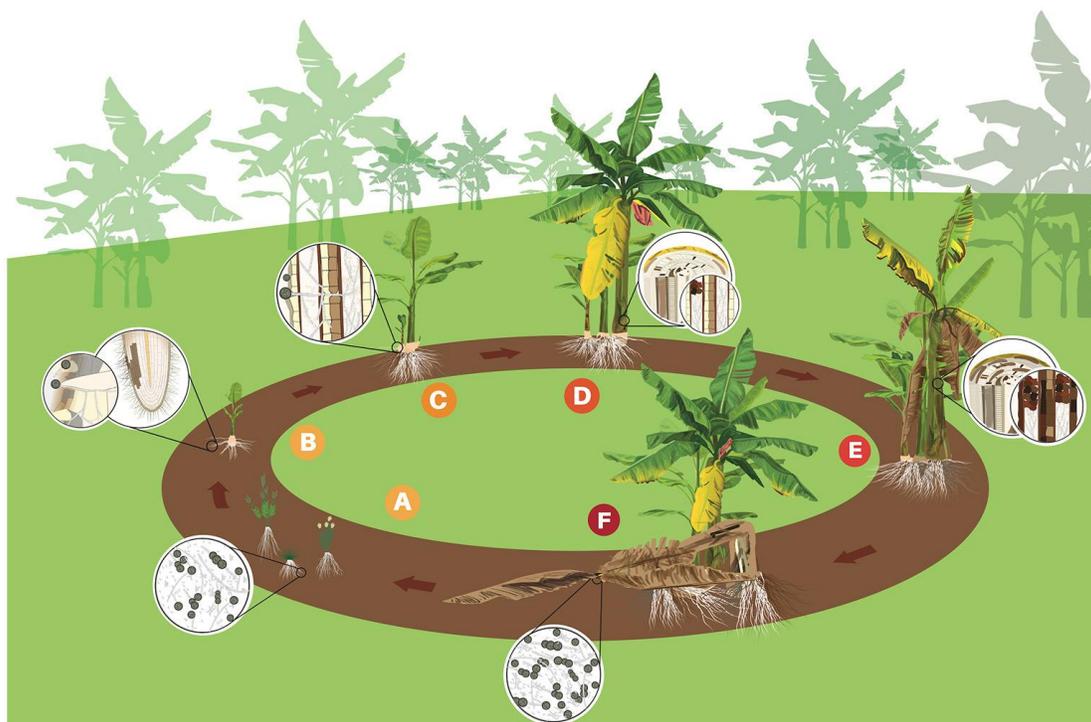


Figura 5. Ciclo de vida de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en banano. A. Reservorio de propágulos. B. Germinación de clamidosporas y penetración de tubos germinativos a las raíces. C. El hongo penetra la epidermis y coloniza el sistema vascular. D. Producción de conidios y clamidosporas en el tejido vascular. Los conidios son distribuidos rápidamente a través de la planta mediante el sistema de transpiración. El micelio y la goma producida, bloquean los tejidos vasculares y el primer síntoma de amarillamiento se observa en las hojas más viejas. E. La destrucción del tejido vascular provoca marchitamiento intenso. F. La planta infectada muere y cae, y el hijuelo, que fue contaminado a través de la conexión vascular muestra síntomas iniciales. el ciclo de la enfermedad comienza nuevamente (Dita *et al.*, 2018).

Ante una infección por Foc, la pared celular de las raíces del banano, desencadenan una serie de respuestas coordinadas, tales como la metil-esterificación de pectina y cambios en la distribución espacial y abundancia de glucoproteínas ricas en hidroxiprolina, entre otras, que tienen un impacto directo en la resistencia del hospedante. Foc ha sido considerado como un patógeno necrotrófico o hemibiotrófico y aparentemente, requiere interactuar con células vegetales vivas (Dita *et al.*, 2018).

La enfermedad causada por Foc R4T se caracteriza por ocasionar marchitez en las plantas, las cuales pueden morir en pocas semanas o meses, producto del bloqueo del sistema vascular que produce el patógeno. Se ha observado que la susceptibilidad de las plantas incrementa al aproximarse la floración, en cuyo caso el racimo podría emerger, pero no se desarrolla normalmente. En las plantas enfermas los hijuelos pueden verse normales o estimulados en su crecimiento, dando la apariencia de estar sanos, aumentando el riesgo de diseminación de la enfermedad (Carr *et al.*, 2017).

Supervivencia del patógeno

La mayoría de las especies del complejo *Fusarium oxysporum*, incluyendo Foc, son capaces de sobrevivir ante la ausencia de un hospedante primario, principalmente en la forma de clamidosporas. Estas esporas son resistentes a la desecación, son resilientes a las condiciones ambientales poco favorables y se reporta que pueden sobrevivir en el suelo por más de 20 años. Las clamidosporas de Foc son producidas constantemente una vez que el hospedante es invadido e incluso antes de que los síntomas externos sean visibles. La capacidad de Foc para colonizar y crecer saprofiticamente en los restos vegetales en proceso de descomposición que permanecen en el suelo, favorece la producción de clamidosporas y contribuye a incrementar la persistencia del

patógeno en el suelo. Adicionalmente, la supervivencia de las clamidosporas de Foc a largo plazo, es favorecida por la infección de malezas (Dita *et al.*, 2018).

Síntomas y daños

El patógeno induce dos tipos de síntomas foliares: a) Hoja amarilla, es el síntoma más característico y conspicuo de la marchitez por *Fusarium* en banano, se caracteriza por un amarillamiento de los bordes de las hojas más viejas. Este amarillamiento de las hojas progresa hacia las hojas más jóvenes, para posteriormente colapsar de manera gradual, las hojas se doblan en el pecíolo, comúnmente cerca de la nervadura central y colgando hacia abajo formando una “falda” de hojas muertas alrededor del pseudotallo y b) Hoja verde, en algunos cultivares las hojas de la planta afectada se mantienen verdes hasta que los pecíolos se doblan y colapsan. Las hojas jóvenes son las últimas en mostrar síntomas visibles, con frecuencia permanecen inusualmente erectas (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

Las hojas nuevas son de un color pálido y la lámina foliar es marcadamente reducida, arrugada y distorsionada. En el pseudotallo, se puede presentar un agrietamiento longitudinal en la base de la planta. Por otra parte, no hay evidencia de infección y síntomas en frutos (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

Una planta de banano infectada con Fusariosis difícilmente se recupera, pero puede presentarse un desarrollo de la planta por algún tiempo y producir retoños o hijuelos infectados antes de que la planta madre muera (Dita *et al.*, 2013). Los síntomas internos se caracterizan por que inician con un amarillamiento del tejido vascular de las raíces y el rizoma, el cual progresa para desarrollar hebras vasculares continuas amarillas, rojas o de color marrón en el pseudotallo (Pérez-Vicente *et al.*, 2014). Los haces vasculares del pseudotallo, pseudopeciolo y nervadura central de la hoja

adquieren tonos cafés claro a café-rojizo (Carr *et al.*, 2017). Actualmente, se reporta que no hay diferencias en los síntomas producidos por las razas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en *Musa* sp. Por lo tanto, las razas no pueden ser diferenciadas con base en síntomas que la enfermedad induce. Además, en algunos casos, el marchitamiento por *Fusarium* puede co-existir con el marchitamiento bacteriano (moko) causado por *Ralstonia solanacearum* raza 2 y los síntomas de ambas enfermedades pueden ser confundidos (Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

Dispersión

Las razas de Foc se diseminan principalmente por el movimiento pasivo de propágulos del hongo a distancias cortas (dentro de una finca) y distancias largas (a otras fincas, regiones, países o continentes). La dispersión a cortas y largas distancias se debe a factores naturales y relacionados con actividades antropogénicas, tales como corrientes de agua, animales y movimiento del suelo infestado (Dita *et al.*, 2018). En los países miembros de la Organización Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA) frecuentemente se presentan huracanes, a los cuales se debe de prestar atención, toda vez, que se ha reportado que los vientos de los huracanes podrían también, ser vías de dispersión (Dita *et al.*, 2013).

- **Dispersión en material vegetal.** La principal vía de diseminación del patógeno es por medio de material propagativo, tanto hijuelos como rizomas infectados y asintomáticos de *Musa* spp. (plátano y bananos) y *Heliconia* spp. (Dita *et al.*, 2013). Así mismo, se ha observado que otras partes de la planta como fragmentos de pseudotallo y hojas de plantas infectadas pueden también ser vías de dispersión del hongo, debido a que es frecuente que estos tejidos sean utilizados para el acondicionamiento o embalaje de bananos que son transportados de un lugar a otro (Dita *et al.*, 2013).

- **Dispersión a través de partículas de suelo.** El patógeno también puede ser dispersado mediante la movilización de suelo contaminado con propágulos del hongo; a través del arrastre de suelo provocado por escorrentías de lluvias o por acción del viento, así como por la movilización de suelo en plantas de vivero o adherido a productos vegetales, contenedores, vehículos, herramientas e implementos agrícolas, calzado y ropa (Dita *et al.*, 2013 y 2017).
- **Dispersión a través del agua.** Los propágulos del patógeno pueden dispersarse de manera eficiente a través del salpique del agua de lluvia y por los escurrimientos de agua de riego o de lluvia, así como agua de ríos cuyo cauce atraviere por áreas con presencia del hongo. (Dita *et al.*, 2013; Kema, 2015; Dita *et al.*, 2018).

Impacto económico

La raza 1 de Foc 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, con un impacto económico (solo estimado para las compañías exportadoras) de US \$2,300 millones (Dita *et al.*, 2013). Entre 1940 y 1960, solo en el Valle de Ulúa, Honduras, se perdieron 30,000 ha, los daños ocurrieron más rápidamente en Surinam, donde se perdieron 4,000 ha en 8 años y 6,000 ha fueron destruidas en el área de Quepos en Costa Rica, en 12 años (Ploetz, 2000). En México, durante la década de 1960 y principios de los 1970 fueron devastadas cerca de 40 mil hectáreas del cultivar Gros Michel; en el periodo de 1994, a 2004 se redujo superficie sembrada de plátano manzano de 4,000 a 1,260 ha (Orozco-Santos, 2013).

Durante muchos años, los clones del subgrupo Cavendish solo fueron afectados por Foc bajo condiciones de estrés nutricional y bajas temperaturas como las que ocurren en los bananos cultivados en los subtrópicos. Sin embargo, Foc R4T afecta severamente a las variedades del subgrupo Cavendish en condiciones de los trópicos, por lo que esta raza constituye una seria amenaza para la industria bananera a nivel mundial y para América Latina y el Caribe, ya que además de las variedades del grupo Cavendish, también afecta un grupo considerable de variedades importantes para la seguridad alimentaria y generación de ingresos, entre las que 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) [Dita *et al.*, 2013].

Respecto a los daños causados por Foc R4T, en el sudeste asiático grandes superficies plantadas con variedades del subgrupo Cavendish fueron afectadas por este patógeno causando pérdidas millonarias, los daños también involucran el costo de las medidas de manejo que se deben de implementar, así como a los cambios tecnológicos que tienen que ser introducidos para minimizar los impactos de la enfermedad (Dita *et al.*, 2013). En Taiwán, se reportó que 4,000 ha de banano Cavendish estaban infectadas por Foc R4T; por otra parte, en Lampung distrito de Sumatra, en el periodo de 1993-2002 la enfermedad causó pérdidas de 9 a 11 millones de dólares, provocando que cerca de 5,000 ha de plantaciones de banano Cavendish para exportación fueran abandonadas. Mientras que, en Filipinas, más de 30,000 plantas afectadas fueron erradicadas en el periodo de 1974-1991 (Molina *et al.*, 2009). En China, se reportaron daños en 40,000 ha de banano (Li *et al.*, 2013).

La dispersión de este patógeno representa una amenaza muy seria, puesto que más del 80% de los bananos y plátanos producidos en el mundo son susceptibles (Ploetz, 2009), lo cual pondría en

riesgo la seguridad alimentaria de millones de personas en el mundo, incluyendo México. La mejor opción para evitar el impacto negativo de Foc R4T en la producción de musáceas en un país es evitar su entrada. Una vez que esta plaga invade cierta área, se requiere implementar 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 el patógeno y poder manejarlo (Dita *et al.*, 2013).

Acciones Fitosanitarias de prevención y exclusión de Foc R4T en México.

Monitoreo

Con el fin de detectar de manera oportuna la marchitez de las musáceas Raza 4 Tropical, la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), a través del Programa Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (PVEF), realiza acciones para la detección temprana de esta enfermedad en 16 entidades donde se produce plátano y banano (Campeche, Colima, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Tabasco, Veracruz y Yucatán), a través de las siguientes estrategias operativas (Senasica, 2021):

- **Ruta de vigilancia:** Sitios de revisión periódica establecidos en vías de comunicación, traspatios, zonas urbanas, áreas silvestres, fronteras, centros de acopio y distribución de productos agrícolas, donde existen hospedantes cultivados o silvestres que pueden ser afectados por plagas cuarentenarias (Senasica, 2021).
- **Área de exploración:** Se inspeccionan con esquemas de muestreo, superficies de cultivos comerciales con el fin de verificar la presencia o ausencia de plagas reglamentadas (Senasica, 2021).

- **Parcela centinela:** Superficie definida, establecida dentro de áreas comerciales ubicadas en zonas de riesgo potencial a la entrada de alguna plaga y con condiciones de temperatura, humedad, luz, hospedantes, etc. donde se realizan inspecciones visuales periódicas para verificar la presencia o ausencia de una plaga (Senasica, 2021).

Control normativo

La plaga Foc R4T, actualmente no se encuentra incluido en el Módulo de Consulta de Requisitos Fitosanitarios para la importación de mercancías de origen vegetal (Senasica, 2022), tampoco en ninguna Norma Oficial Mexicana; Sin embargo, se encuentra regulada a nivel de subespecie como *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en la NOM-010-FITO-1995, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del plátano (DOF, 1996) y se encuentra incluido como *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 en la lista de plagas reglamentadas de México ante la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (IPPC, 2015).

Medidas de manejo y control implementadas en países con presencia de Foc R4T

Como ya se mencionó previamente, el manejo de Foc Raza 1 y Raza 2 se basa principalmente en el uso de variedades del grupo Cavendish (Dita *et al.*, 2017 y 2018). Sin embargo, para el caso de Foc R4T no existen variedades resistentes (Su *et al.*, 1986). Dita y colaboradores (2018) proponen una serie de medidas para prevenir o evitar epidemias de Foc R4T, tales como: exclusión, material propagativo certificado, monitoreo o detección de plantas enfermas, erradicación de plantas infectadas, contención del patógeno, variedades tolerantes, suelos supresivos, rotación de cultivos, cultivos de cobertura, abonos orgánicos, control biológico, biofertilizantes y manejo integrado del cultivo.

Control cultural

Como estrategias para controlar Foc R4T en países donde esta presente, se ha considerado:

- El uso de vitroplantas, el uso de material propagativo debe provenir de plantaciones libres de la enfermedad (Sun *et al.*, 1978).
- Rotación de cultivos, con la finalidad de reducir la cantidad de inóculo en el suelo (Dita *et al.*, 2018); en ese sentido, se ha documentado que la siembra de *Allium tuberosum* redujo la incidencia de Foc R4T en 58% y 62% en los cultivares Cavendish y Guangfen (AAA), respectivamente (Huang *et al.*, 2012).
- Aplicación de extractos vegetales, como de hojas del híbrido *Allium cepa* x *A. sativum* inhibió hasta el 100% del desarrollo *in vitro* de Foc R4T; mientras que en pruebas de invernadero se observó una supresión completa del hongo en plantas de plátano cv. enano gigante (Cavendish AAA), y en condiciones de campo se observaron bajos niveles de severidad del patógeno (Gopi y Thangavelu, 2014).
- Uso de sales cuaternarias de amonio para la desinfestación de herramientas de trabajo. En el caso de la Raza 2, se requiere la aplicación de más de 2500 ppm para eliminar el patógeno; mientras que, con 2500 ppm, se logró la eliminación total de los propagulos de la Raza 4 Tropical (Pérez-Vicente y Martínez de la Parte, 2015). Por su parte, Nguyen *et al.* (2019) evaluaron 20 productos comerciales de sales cuaternarias de amonio a diferentes tiempos de exposición (desde 8 min hasta 24 h), pero solamente en la dilución 1/100, se logró la inhibición total de la germinación *in vitro* de clamidosporas de 4 aislamientos de Foc R4T y 4 aislamientos Foc R1, cabe señalar que la concentración de ingrediente activo de los productos va de 5.4% a 60%. Izquierdo-García *et al.* (2021) reportaron que la dosis de 1200 ppm de 10 productos a base de sales cuaternarias de amonio en dos tiempos de

exposición (<1 y 15 minutos) en ausencia de suelo inhibieron completamente la germinación de microconidios, macroconidios y clamidosporas de Foc R4T; desafortunadamente, en presencia de suelo, la eficiencia de los productos fue de 52% a 100%.

- Uso de glutaraldehído, se ha reportado que 1000 ppm de glutaraldehído inhibe en 100% la germinación de clamidosporas de las razas de Foc (Guzmán *et al.*, 2017), mientras que, Izquierdo-García y colaboradores (2021) reportaron que las dosis de 1200 y 2000 ppm de glutaraldehído inhibieron completamente la germinación de microconidios, macroconidios y clamidosporas de Foc R4T después de 15 minutos de exposición.

Control genético

El patógeno Foc R4T afecta a cultivares del grupo Cavendish (Su *et al.*, 1977) y a los demás clones susceptibles a las razas 1 y 2 (Ploetz y Pegg, 1997; Su *et al.*, 1986). Por lo tanto, aunque existen variedades con niveles moderados de tolerancia al patógeno, no existen variedades disponibles con resistencia agronómicamente aceptable (Cook *et al.*, 2015). En ese sentido, las variedades de banano obtenidas por variación somaclonal desarrollados en Taiwán, presentan una resistencia parcial al patógeno (Hwang y Ko, 2004).

En condiciones de invernadero, las plantas transgénicas de plátano Lady Finger expresaron resistencia a Foc R4T al mostrar menor daño interno y externo durante 24 semanas, comparado con el testigo (Paul *et al.*, 2011). Además, se han desarrollado plantas transgénicas resistentes a la Raza 4 Tropical, en donde se introdujo el gen RGA2 (*Musa acuminata* sp. *malaccensis*) y el gen Ced9 (*Caenorhabditis elegans*), mostrando resistencia al patógeno en campo, durante 3 años (Dale *et al.*, 2017).

Control biológico

- **Bacterias antagonistas.** Las bacterias endófitas aplicadas en vitroplantas disminuyen los síntomas de la enfermedad, por lo que, podría ser una opción viable para el biocontrol de la fusariosis del banano. En Taiwán, la bacteria endofítica *Burkholderia cenocepacia* 869T2 redujo en un 86.1% la incidencia y desarrollo de la Foc R4T. De igual forma *Pseudomonas fluorescens* cepa WCS 417 en plátano cv. Chinese (Cavendish) redujo 87.4% la incidencia de la enfermedad. También *P. fluorescens* en *M. balbisina* suprimió a Foc R4T y R; además, esta bacteria promovió el desarrollo radical y altura de la planta. Para su aplicación en campo, se desarrollaron formulaciones comerciales de *P. fluorescens* cepa Pf-1, ya sea en polvo y en cápsulas (Sivamani y Gnamanickam, 1988; Rujappan *et al.*, 2002; Nel *et al.*, 2006; Ho *et al.*, 2015).
- **Hongos antagonistas.** Las especies endófitas de *Trichoderma* sp., penetran en el sistema radical y sobreviven en el tejido vegetal, y protegen a la planta contra organismos patogénicos. En ese sentido, diversas especies endófitas de *Trichoderma* han mostrado diferente grado de control y la severidad del patógeno en condiciones de invernadero, activando mecanismos de defensa, directos e indirectos. El mecanismo directo es el micoparasitismo, y como mecanismos indirectos se tiene a la competencia por nutrientes y espacio, al cambio de las condiciones del medio, y a la antibiosis e incremento de la respuesta de defensa de la planta. Además, *Trichoderma* induce que la planta produzca factores de crecimiento, proteínas relacionadas con la patogénesis (algunas especies de *Trichoderma* secretan enzimas celulasas y quitinasas que degradan la pared celular de hongos e inhiben su crecimiento), sideróforos, antibióticos y enzimas (Evan *et al.*, 2003; Harman *et al.*, 2004; Bailey *et al.*, 2008; Gajera *et al.*, 2013; Taribuka *et al.*, 2017). La

preinoculación de la cepa endófitica A34 de *T. harzianum* en plántulas de los clones de plátano Burro CEMSA y FHIA 03, una semana previa a su establecimiento en suelos infestados con *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, aportó un control de 95%. en condiciones de invernadero, *Trichoderma* sp., suprimió el desarrollo de Foc y redujo la expresión de síntomas entre 90 y 92%. Por otro lado, en condiciones *in vitro* *T. asperellum* inhibió 82% el crecimiento de Foc R1; mientras que *T. viridae* combinado con bórax, redujo el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, en condiciones *in vitro*. También en condiciones de laboratorio *T. harzianum* a una concentración del 20% inhibió 75.5% el desarrollo del *F. oxysporum* f. sp. *cubense*; mientras que en macetas redujo en 66.67% la incidencia de la enfermedad. En condiciones de invernadero, la combinación del aislamiento rizosférico NRCB3 de *Trichoderma* sp. + el aislamiento endofítico de *T. asperellum* inhibió el 100% el desarrollo de la enfermedad e incrementó en 250% el crecimiento de banano Grand Naine (AAA) [Sajeev y Eswaran, 2008; Pérez-Vicente *et al.* 2009; Caballero-Hernández *et al.*, 2013; Duque *et al.* 2015; Thangavelu y Gopi, 2015; Khan *et al.*, 2017a].

- **Aislamientos no patogénicos de *Fusarium oxysporum*.** Los aislamientos no patogénicos de *F. oxysporum* actúan como agentes de biocontrol de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* debido a que actúan como antagonistas y compiten por nutrientes y por espacios de colonización de raíces, y pueden ser la razón de la ausencia de la marchitez por *Fusarium* en un área determinada (Kumari y Kumar, 2015). En ese sentido, se han aislado y caracterizado 100 aislamientos en Sudáfrica; en condiciones de invernadero, los aislamientos no patogénicos de *F. oxysporum* CAV 255 y CAV 241 redujeron entre 87.4% y 75.0% la incidencia de Foc R4T, respectivamente (Nel *et al.*, 2006). Mientras que, en Uganda, donde los plátanos

(AAA-EA) son la principal fuente de alimento e ingresos para los productores, se observó que, en condiciones de laboratorio, las cepas no patogénicas de *F. oxysporum* (aislamientos V2w2 and III4w1) penetraron y colonizaron al tejido de cv. Nabusa (AAA-EA) sin dañarlo (Paparú *et al.*, 2006). No obstante, el uso de aislamientos no patogénicos de *F. oxysporum* como agentes de biocontrol debe manejarse con cautela, debido a que una vez que estén en contacto con aislamientos patogénicos y no patogénicos, puede ocurrir una eventual transferencia horizontal de genes entre ambos, y por ello, volver patogénicos aquellos aislamientos de biocontrol (Deltour *et al.*, 2018). También existe la posibilidad de que los aislamientos no patogénicos actúen en sinergia e incrementen la severidad de los aislamientos patogénicos (Forsyth *et al.*, 2006).

- **Biofertilizantes.** Los biofertilizantes en general, se refieren a microorganismos benéficos mezclados con abonos orgánicos. El uso de altos niveles de abono de cerdo mezclado con *Bacillus amyloliquefaciens* controlaron de manera efectiva la marchitez de las musáceas en condiciones de invernadero, con una supresión de 75% de su incidencia (Shen *et al.* 2015). Por otro lado, la aplicación del biofertilizante, aminoácido + compostas a base de abono de cerdo (2:3), mezclado con la cepa W19 de *B. amyloliquefaciens*, promovió el crecimiento de *Musa* AAA (Cavendish cv. Brasil) y suprimió al patógeno (Foc) en condiciones de invernadero. Mientras que, en condiciones de campo, el desarrollo del patógeno se suprimió entre 42.86 y 44.43% y el rendimiento se incrementó entre 25.75 y 34.53% (Wang *et al.*, 2016). También, *B. amyloliquefaciens* NJN-6 combinada con composta, disminuyó 68.5% la incidencia de Foc R4T (Xue *et al.*, 2015). Un efecto similar se obtuvo con la aplicación de composta de cerdo mezclado con la cepa N11 de *B. subtilis*, en donde se presentó 16.7% de incidencia de la enfermedad, en comparación con el 93.3%

- 90% observada en el testigo. La composta a base de abono de cerdo mezclado con *Paenibacillus polymyxa* SQR21 y *Trichoderma harzianum* T37, redujo 33.3% la incidencia del patógeno (Zhang *et al.*, 2011). Por otra parte, con el uso de *Glomus* spp., el cual forma micorrizas arbusculares, mezcladas con té de vermicomposta, se logró un retraso del desarrollo de síntomas inducidos por Foc R4T, de hasta 10 días (Ubaub y Martin, 2016). Además, se ha observado que *Trichoderma* spp. (*Trichoderma polysporum*, *T. longipile*, *T. viride* y *T. harzianum*) incrementan su actividad celulasa, degradan las estructuras celulares de Foc R4T, cuando estas especies se agregan junto con compostas (Yang *et al.*, 2016).

Perspectivas

Foc R4T es una de las principales enfermedades de plátano y banano, su importancia radica en que puede causar graves pérdidas en su producción, no obstante que no existen reportes de infección en el fruto que es la parte comercial de estos cultivos, no existe un método de control efectivo para este patógeno, ni tampoco existen variedades comerciales resistentes disponibles de manera comercial, aunque se han desarrollado, variedades de banano Cavendish con variación somaclonal (obtenidos *in vitro*) que presentan tolerancia hacia este hongo; se ha documentado que Foc R4T tiene la capacidad de superar dicha tolerancia. En México se debe de seguir fortaleciendo en marco normativo que permita seguir garantizando la condición fitosanitaria de nuestro país para retrasar la introducción de este patógeno; en el mismo sentido se debe de promover la investigación científica encaminada a la búsqueda de medidas de manejo integral el control de este patógeno, ante una eventual incursión y establecimiento de dicho patógeno. Desde luego, la divulgación hacia los productores y público en general sobre la importancia de este patógeno es primordial, junto con la implementación de las medidas de bioseguridad, tanto en los puntos de ingreso a

nuestro país (puertos, aeropuertos y fronteras) como en las fincas son esenciales para evitar un impacto en el sistema de producción de plátano y banano en México.

Además, se sugiere que establecer una línea de investigación para validar las estrategias de manejo generadas para Foc R4T para ser implementadas en México a fin de poder establecer un esquema de manejo para la raza de Foc que está presente en nuestro país, a fin de poder seguir cultivando en México las variedades susceptibles a las razas de Foc R4T, en especial variedades criollas.

Las detecciones de Foc R4T en Colombia, en los Departamentos de La Guajira y La Magdalena en 2019 y en 2021, respectivamente, así como la detección en Perú en 2021, incrementan el riesgo de introducción, establecimiento y dispersión de este patógeno en nuestro país; por lo cual es necesario determinar el riesgo que representa Foc R4T para nuestro país con base en la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias 11. Análisis de Riesgo de Plagas para Plagas Cuarentenarias para emitir las medidas fitosanitarias a fin de prevenir su introducción y en su caso contener y erradicar dicha plaga. Otro aspecto importante es la de evaluar productos desinfectantes que se podrían utilizar en los puntos de ingreso a nuestro país en tapetes fitosanitarios a fin de prevenir la introducción del patógeno y también para implementar medidas de bioseguridad en ranchos y plantaciones de plátano y banano en nuestro país, así mismo es necesario determinar la efectividad de fungicidas sistémicos y organismo de control biológico para que implementar estrategias de manejo en campo ante una eventual incursión de Foc R4T y para las otras razas de Foc presentes en México.

CAPÍTULO I. ANÁLISIS DE RIESGO PARA *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* Raza 4 Tropical

1.1 RESUMEN

Fusarium oxysporum f.sp. *cupense* Raza 4 Tropical (Foc R4T) es una de las tres razas causantes de la marchitez de musáceas, reportada por primera vez en Taiwán (1989), posteriormente, se dispersó a países del sureste asiático. En 2019, se detectó en Colombia, y su distribución en 2021 abarcó 22 países de Asia, África, América, Europa y Oceanía, además de registrarse en Perú, aumentando con ello, la probabilidad de su incursión en México. El presente capítulo se presenta un análisis de riesgo para Foc R4T, en el que se identifican los posibles sitios o regiones de riesgo de establecimiento y de dispersión del patógeno, y determinan las medidas fitosanitarias que pueden aplicarse para evitar o retrasar su incursión a nuestro país. Como resultados se tiene: 1) **Categorización de la plaga:** Foc R4T es una plaga ausente en México, por lo cual cumple con la definición de plaga cuarentenaria, con el potencial de causar pérdidas económicas en cultivos susceptibles; y 2) **Evaluación del riesgo,** considerar potenciales vías de introducción como: mercancías reguladas (material propagativo de plátano y banano, y de *Solanum lycopersicum* var. MoneyMaker), suelo adherido a contenedores, implementos agrícolas, calzado de científicos y de emigrantes sud- y centroamericanos, artesanías elaboradas con fibras naturales de musáceas, y agua de lastre de embarcaciones navieras. La legislación fitosanitaria de México no permite importar material propagativo de musáceas al ser la principal vía de introducción del patógeno; sin embargo, se tiene un nivel de riesgo medio por otras posibles vías de introducción, por ejemplo, la importación de semillas de *S. lycopersicum* var. MoneyMaker en donde es conveniente realizar el diagnóstico fitosanitario para este patógeno.

Palabras clave: Fusariosis de musáceas, Marchitez de musáceas, Análisis de Riesgo de Plagas, Plaga cuarentenaria, Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria.

CHAPTER I. PEST RISK ASSESSMENT FOR *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4

1.2 ABSTRACT

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* Race 4 Tropical (Foc R4T) is one of the three races that cause Musaceae Wilt, it was reported for the first time in Taiwan (1989), and distributed to Southeast Asian countries. By 2021, its distribution included 22 countries in Asia, Africa, America, Europe and Oceania. Recent detection of Foc TR4 in Colombia (2019) and Peru (2021) increases the risk of incursion of this pathogen in México. In this chapter it is presented the Pest Risk Analysis for Foc R4T, to identify sites or regions at risk for the establishment and dispersal of this pathogen, as well as to determine phytosanitary practices directed to avoid or delay the fungal introduction. This work reports the following findings: 1) Categorization of the pest: Foc R4T is an absent pest in Mexico, therefore meets the definition of quarantine pest that may potentially cause economic losses in susceptible crops; and 2) Certain merchandise must be regulated (propagative material of plantain and banana, and *Solanum lycopersicum* var. MoneyMaker), as well as contaminated soil adhered to containers, agricultural implements, footwear of scientists, and South and Central American immigrants. Handicrafts based on natural fibers of Musaceae and ballast water from shipping vessels, are potential ways for fungal introduction. Mexican phytosanitary legislation does not allow imports of Musaceae propagating material; but the introduction of seeds of *S. lycopersicum* var. MoneyMaker has not been regulated. Therefore, the level of risk for this way of introduction of this fungal pathogen is valued as medium, where it is convenient to carry out the phytosanitary diagnosis for this pathogen.

Keywords: Musaceae fusarium, Musaceae wilt, Pest risk assessment, Quarantenary pest, Phytosanitary epidemiological surveillance.

1.3 INTRODUCCIÓN

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Foc R4T) es uno de los principales patógenos que afectan a las musáceas, reportado por primera vez en Taiwán (1989), afectando variedades de bananos del grupo Cavendish (Ploetz, 2018). Este patógeno ha causado daños severos en el continente asiático, especialmente en China, Indonesia y Malasia, donde se han reportado afectaciones de hasta 40,000 ha de este cultivo, causando pérdidas millonarias (Li *et al.*, 2013). Las pérdidas son debidas a la enfermedad y al costo de las medidas de manejo y cambios tecnológicos introducidos para minimizar el impacto de la enfermedad (Dita *et al.*, 2013). En Taiwán, se reportaron 6,000 ha de banano Cavendish afectadas, mientras que en el periodo de 1993 a 2002, este patógeno impactó a pequeños productores en Lampung, Sumatra, donde causó pérdidas que oscilaron de 9 a 11 millones de dólares, lo que originó que cerca de 5,000 has de banano Cavendish para exportación, fueran abandonadas.

La dispersión de Foc R4T representa una amenaza muy seria para la producción de plátano y banano; más del 80% de bananos y plátanos producidos en el mundo son susceptibles (Ploetz, 2009). En 2018, la distribución de este patógeno comprendía Australia, Birmania, China, Filipinas, India, Indonesia, Israel, Jordania, Laos, Líbano, Malasia, Mozambique, Omán, Pakistán, Reino Unido, Taiwán y Vietnam (Ploetz *et al.*, 2018; Promusa, 2018). En 2019, se detectó en Turquía (Özarslandan y Akgül, 2020) y Tailandia (DOA. 2019); en 2020, en Islas Mayotte (Aguayo *et al.*, 2020). Las detecciones de Foc R4T en Colombia y Perú (ICA, 2019; García-Bastidas *et al.*, 2020a; SENASA, 2021), incrementan el riesgo de su incursión a México. Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Evaluar el riesgo que representa la posible llegada del hongo a México y el impacto económico que puede tener en el sector agrícola nacional; 2) Identificar sitios

potenciales de riesgo de introducción y establecimiento de Foc R4T en México, y 3) Documentar y recomendar posibles técnicas de monitoreo y manejo de la plaga.

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1 Localización.

El presente estudio se realizó en el área de Análisis de Riesgo de Plagas del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) del SENASICA, ubicado en Tecámac, Estado de México.

1.4.2 Recopilación de información.

Para la elaboración del Análisis de Riesgo de Plagas (ARP) de Foc R4T como plaga potencial del cultivo de plátano en México, se siguió la metodología establecida en la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias (NIMF) No. 11. “Análisis de Riesgo de Plagas para plagas cuarentenarias (IPPC, 2019b).

1.4.3 Fuentes de información.

De acuerdo con la NIMF No. 8 “Determinación de la condición de una plaga en un área” (IPPC, 2021), las fuentes utilizadas para la elaboración del ARP, fueron las siguientes: a) bases de datos, tales como el Centro de Biociencia Agrícola Internacional (CAB Internacional), Organización Europea y Mediterránea para la Protección Vegetal (OEPV/EPPO), Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF/IPPC), Compendio de Protección de Cultivos (CPC), Base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAOSTAT), Servicio Meteorológico Nacional (SMN), Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), y

Sistema de Información Arancelaria Vía Internet (SIAVI); b) documentos técnicos-científicos, tales como: artículos científicos de revistas impresas y electrónicas publicados en The American Phytopathological Society, Springer, Elsevier, Wiley Online Library, etc., además de libros técnicos, folletos técnicos, memorias de congresos científicos y tesis relacionados con el patógeno; y c) notas o noticias periodísticas de publicaciones en internet sobre usos de partes vegetativas de musáceas como vías de dispersión del hongo y migración, entre otras.

1.4.4 Procesamiento de la información.

El presente Análisis de Riesgo de Plagas, se elaboró de acuerdo a las directrices establecidas en la NIMF No 11. “Análisis de Riesgo para Plagas Cuarentenarias” (IPPC, 2019b), que contempla las siguientes etapas:

1.4.5 Etapa I. Iniciación de un Análisis de Riesgo de Plagas

- Identificación del Área de ARP.
- Información técnica de la plaga. Que incluye: Taxonomía, sinonimia, notas taxonómicas, descripción morfológica, distribución geográfica, hospedantes, biología, síntomas (proceso de infección) y daños, dispersión, impacto económico, medidas de prevención y exclusión México, y medidas de manejo en otros países.

1.4.6 Etapa II. Evaluación del riesgo

- Categorización de la plaga: presencia o ausencia en el área de ARP, estatus regulatorio y f) conclusión de categorización.
- Evaluación de la probabilidad de introducción y dispersión: a) Probabilidad de entrada de la plaga, b) probabilidad de establecimiento, la cual fue determinada mediante el modelaje

realizado con el software Máxima Entropía (MAXENT, versión 3.4.4-2021) para la determinación de las áreas con condiciones favorables para el desarrollo de Foc R4T y las áreas de riesgo, y c) probabilidad de dispersión después del establecimiento.

- Evaluación de los efectos económicos y ambientales: a) análisis de las consecuencias económicas, b) análisis de las consecuencias comerciales, y c) análisis de las consecuencias sociales y ambientales.
- Evaluación del Riesgo Total: combinación de probabilidades y combinación de probabilidades con el impacto.

1.4.7 Etapa III. Manejo del riesgo de plagas

- Identificación y selección de opciones apropiadas con respecto al manejo del riesgo.

1.4.8 Grado de incertidumbre

Para el proceso de documentación del presente ARP, se utilizaron fuentes de información confiables de acuerdo con lo expuesto en la NIMF No. 8 (IPPC, 2021). Los registros documentales se emplearon en conjunto con información oficial para determinar la situación de la plaga; sin embargo, en el presente estudio también se utilizaron notas periodísticas, las cuales, se evaluaron en conjunto para determinar el grado de incertidumbre del estudio con base en el grado de confiabilidad.

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1 Etapa I. Inicio

- Identificación del Área de ARP. La evaluación de riesgo de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical se realizó para México como país.
- Información técnica de la plaga. Para realizar la evaluación de riesgo se utilizó información técnica de la plaga, referida en la revisión bibliográfica de la presente tesis. Respecto al nombre científico de la plaga, Maryani *et al.*, (2019) propusieron la nueva especie *Fusarium odoratissimum* como sinónimo de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical; sin embargo, ante las discrepancias y errores en los análisis filogenéticos reportados por Torres-Bedoya *et al.* (2021), el presente estudio de Análisis de Riesgo, tomará como nombre válido, el de Foc R4T.

1.5.2 Etapa II. Evaluación de Riesgo

Evaluación del riesgo de plagas. El proceso de evaluación del riesgo se realizó mediante el análisis de información disponible para el establecimiento de los diferentes niveles de riesgo, estableciendo como área de riesgo al territorio de los Estados Unidos Mexicanos donde se cultiva banano y aquellas áreas con presencia de malezas hospedantes.

Categorización de plaga. Durante la búsqueda, revisión, análisis y síntesis de literatura técnico-científica, no se encontraron reportes documentales que refieran la presencia de Foc R4T en México. Por lo anterior, y de acuerdo con lo dispuesto en la NIMF No. 8 “Determinación de la condición de una plaga en un área” (IPPC, 2021), *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Foc R4T), en México se considera una plaga ausente (no hay registros de la plaga), por

lo cual cumple con la definición de **plaga cuarentenaria** establecida en la NIMF No. 5 “Glosario de términos fitosanitarios” (IPPC, 2022a), ya que es una plaga no presente que potencialmente puede causar pérdidas económicas en cultivos hospedantes susceptibles.

Probabilidad de entrada y dispersión

Con base en la información técnica disponible se determinó evaluar las siguientes vías de introducción: 1) Mercancías reguladas (material propagativo de banano (*Musa* sp.), y de *Solanum lycopersicum* (var. MoneyMaker), 2) Suelo contaminado (adherido a implementos agrícolas, calzado de científicos, calzado de migrantes sudamericanos y centroamericanos, y contenedores, 3) Artesanías elaboradas con tejidos de fibras naturales de musáceas, y 4) Agua de lastre de las embarcaciones navieras.

Mercancías reguladas

Importación de plátano. La importación de frutos y material propagativo de musáceas a México se encuentra regulada bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-010-FITO-1995, por la que, se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del plátano, con carácter de cuarentena absoluta para la introducción y tránsito internacional de frutos y material propagativo de *Musa* spp., sus órganos, sus partes y productos naturales, así como sus envases y embalajes (DOF, 1996). Sin embargo, México se encuentra en alerta ante el riesgo de una eventual introducción de material propagativo no autorizado, por lo que la Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria a través de 60 Oficinas de Inspección de Sanidad Agropecuaria (OISA) ubicadas en diferentes puntos de ingreso al territorio nacional inspecciona las diferentes mercancías con el objetivo de evitar la introducción de vías para esta plaga. Es importante señalar que durante el periodo del mes de enero al 4 de octubre de 2019 se interceptaron y decomisaron 45 482.06 kg de

plátano fresco, deshidratado y plantas vivas. En el **Cuadro 1.1**, se presentan los productos de plátano y banano provenientes de países con presencia de Foc R4T, que han sido interceptados durante el 2019 (DGIF, 2019); lo anterior, considerando que el hongo se puede desarrollar de manera externa en las hojas dañadas e incluso puede formar esporodocios (Dita, 2017).

Cuadro 1.1. Mercancías de plátano y banano que han sido interceptadas en las OISAS de la Dirección General de Inspección Fitozoosanitarias (DGIF, 2019).

OISA	PRODUCTO	CANTIDAD (KG)	PAÍSES DE ORIGEN
Aeropuerto Internacional de la Ciudad de México (AICM T1)	Plátano, hoja de plátano, productos de plátano	359.991	Alemania, Austria, Brasil, Canadá, Chile, China , India , Vaticano, Colombia , Costa de Marfil, Costa Rica, Holanda, Honduras, Hungría, Ecuador, El Salvador, USA, Cuba, España, Francia, Guatemala, India , Italia, Uruguay, Kuwait, Noruega, Panamá, Perú, Gran Bretaña, Turquía, Ucrania
Cancún	Plátano	11,306.40	Alemania, Argentina, Armenia, Bahamas, Brasil, Canadá, Chile, Colombia , Costa Rica, Cuba, Ecuador, El Salvador, Escocia, España, Micronesia, USA, Estonia, Francia, Guatemala, Holanda, Honduras, Islandia, Israel , Italia, Martinica, Noruega, Países Bajos, Perú, Polonia, Qatar, Reino Unido , Rusia, Suiza, Suecia, Turquía, Uruguay
Monterrey	Plátano	137.5	USA, Venezuela, India , Cuba, Japón, Indonesia , Panamá, Canadá
Puerto Morelos	Plátano	87.52	Perú, Panamá, USA, Canadá, Rusia, Colombia , Reino Unido .
Puerto Vallarta	Plátano	581.28	USA, Canadá, Guatemala, Reino Unido , Panamá, Ecuador, Alemania, Colombia
San Luis Potosí	Plátano	971.92	España, India , USA, Corea
Silao	Plátano	100.08	USA, China , Japón, Micronesia
Subteniente López	Plátano	159.05	Belice, Honduras, Alemania, Canadá, Australia
Aeropuerto Internacional de la Ciudad de México (AICM T2)	Plátano	84.83	Canadá, España, Colombia , Ecuador, India , Brasil, Panamá, Honduras, Guatemala, Venezuela, USA, Corea , Cuba, El Salvador, Holanda
Tijuana	Plátano	2171	China , USA, Micronesia, Ecuador

Por otra parte, en los Puntos de Verificación Interna (PVI's) del SENASICA, durante el periodo de enero a abril de 2019, se registraron importaciones comerciales de 105,451.73 kg de productos y subproductos de plátano, incluyendo, plátano deshidratado, hojuela deshidratada, seco liofilizado, seco rebanado, polvo liofilizado, hojas, plátano macho, mezcla de fresa y plátanos secos liofilizados, orgánico, bambú y corteza, tallos con corteza natural, plátano dominico, plátano morado, y flor (DGIF, 2019); de los cuales, sobresalen hojas, corteza, plátano macho, dominico, morado y flor como posibles vías, ya sea infectados o contaminados de manera externa (Dita, 2017).

Es importante considerar que algunos países de Asia donde se ha reportado la presencia de Foc R4T tales como China, Vietnam, Malasia y Tailandia (Chen *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2005; Ploetz y Pegg, 2000; Qi *et al.*, 2008; Molina *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013; Hung *et al.*, 2018; Ploetz, 2018; Zheng *et al.*, 2018; DOA, 2019), utilizan y comercializan hojas frescas de banano con la finalidad de reducir la utilización de plástico para la envoltura de productos vegetales (EcoInventos Green Technology, 2019; Liotta, 2019). También en la India se utilizan hojas de plátano como platos de arroz (EcoInventos Green Technology, 2019). Además, a través de internet se ofertan hojas frescas y refrigeradas de plátano y banano de diversos países principalmente asiáticos con fines gastronómicos. En este sentido, el Servicio Fitosanitario del Estado de Costa Rica, decomisó en marzo de 2019, 6 kg de hojas frescas de banano procedentes de Canadá originarias de Tailandia (El Mundo CR, 2019).

Importaciones de semilla de tomate

Se ha documentado la susceptibilidad de tomate (*Solanum lycopersicum*) var. MoneyMaker a Foc R4T en condiciones de invernadero (Li *et al.*, 2018). En nuestro país, esta variedad se cultiva

en los estados de Hidalgo y México (Reyes y Sánchez, 2016; SIAP, 2017; Delgado-Vargas *et al.*, 2018) aunque se desconoce el origen de las semillas (nacional o importación) y la superficie total establecida en nuestro país.

En el Módulo de Requisitos Fitosanitarios para la Importación de Mercancías existen 93 claves de combinación que permiten el ingreso de semilla de tomate (*S. lycopersicum*), para su siembra, 29 de éstas corresponden a países con presencia de Foc R4T (Senasica, 2022).

Se ha documentado que otras formas especiales de *Fusarium oxysporum* pueden infectar semilla de tomate como *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Menzies y Jarvies, 1994) y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Elwakil *et al.*, 1998) y puede ser la vía de introducción a nuevas áreas (Reis y Boiteux, 2007); por lo que, semillas de *S. lycopersicum* var. MoneyMaker infectadas con Foc R4T podría constituir un riesgo para la incursión de este patógeno a nuestro país. Sin embargo, en México no tienen registros documentales de importaciones de esta variedad ni datos de superficie sembrada con esta variedad.

Conclusión de mercancías reguladas

El marco normativo vigente de México prohíbe el ingreso de productos y subproductos de plátanos y bananos (*Musa* sp.), además de indicar que se realicen incautaciones o decomisos de dichas mercancías en los principales puntos de entrada a nuestro país, lo cual, minimiza la probabilidad de entrada de este patógeno. Por otro lado, a pesar de que el tomate es un cultivo de importancia económica en México, no es el principal hospedante de Foc R4T, no se tiene información específica de volúmenes de importación y áreas de producción de *S. lycopersicum* var. MoneyMaker. Derivado de lo anterior, se concluye que la probabilidad de entrada de Foc R4T a México a través de la vía de mercancías reguladas, es de **Riesgo Bajo**.

Suelo contaminado

El suelo contaminado con propágulos de Foc R4T es un medio de dispersión de éste patógeno, el cual, puede ser transportado por medio de maquinaria e implementos agrícolas usados, así como por zapatos de los jornaleros (Dita *et al.*, 2018).

a) Maquinaria e implementos agrícolas

En el cultivo de plátano se utiliza maquinaria e implementos agrícolas para la preparación del terreno, que podría haberse importado de países donde esta presente Foc R4T.

En ese sentido, en el periodo de enero a septiembre de 2019, México importó 7,911 piezas de maquinaria agrícola nueva, de las cuales 7,430 (94.38%) provino de Estados Unidos de Norteamérica, el resto de Canadá (305), Alemania (80), Francia (18), Italia (14), Bélgica (12), China (6), Países Bajos (2), España (1), Reino Unido (1), Japón (1), Noruega (1) y Eslovenia (1). En dicho periodo, sólo el 0.076% provino de China (DGIF, 2019), en donde se tiene la presencia de Foc R4T (Chen *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2005; Qi *et al.*, 2008; Molina *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2018).

Ante tal escenario, se considera que el riesgo de introducción de Foc R4T a México a través de maquinaria usada con restos de suelo es de **riesgo bajo**.

b) Movilización de inóculo por científicos

Para este riesgo, algunos propágulos de Foc R4T se detectaron en muestras de suelo adherido a los zapatos de personas, después de visitar huertas de plátano en Filipinas (Kema, 2015; Dita *et al.*, 2018).

Algunos de los países miembros del Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA), del cual México forma parte, integraron un “**Comando Latinoamericano para atender brotes de Foc R4T**”, el cual fue integrado por especialistas en el tema (el M. C. Efraín Medina Guerra, Director Ejecutivo del OIRSA; el Dr. Carlos Urias Morales, Coordinador General OIRSA; el Ing. Raúl Rodas Suazo, Director de Cuarentenas; el Dr. Miguel Ángel Dita Rodríguez, Embrapa-Brasil; el Dr. Luis Pérez Vicente, INISAV-Cuba; el M.C. Mauricio Guzmán, Corbana-Costa Rica; el Maestro Rigoberto González Gómez, Senasica-México; el Dr. Gustavo Mora Aguilera, Colegio de Postgraduados-México) (Urias *et al.*, 2017), quienes participan de manera activa en eventos científicos (congresos, reuniones, cursos de capacitación y simulacros relacionados con la exclusión, prevención, contención y erradicación de Foc R4T) (OIRSA, 2017).

No obstante, en países de Centro- y Sudamérica han llevado a cabo congresos, cursos de capacitación, talleres y simulacros, dirigidos a personal técnico y productores para el reconocimiento de síntomas, diagnóstico, e implementación de medidas para evitar la introducción y establecimiento de este patógeno. Estos eventos consideran el riesgo de dispersión por el uso de botas de hule o cubre zapatos en los días de campo, por lo que deben pasar por tapetes sanitarios para evitar la dispersión del patógeno a través del suelo adherido a la suela de los zapatos (OIRSA, 2019; Agrocalidad, 2020). A continuación, se enlistan algunos congresos realizados a nivel mundial en países con presencia de Foc R4T y que posiblemente hayan contemplado dentro de su programa visitas a plantaciones de banano.

Filipinas

- International Banana Symposio Philippines **2014**. Davao: From local agriculture to global agribusiness. Del 19-22 de noviembre de 2014 en el Centro de Convenciones SMX. SM

Lanang Premier, Ciudad de Davao (Bapnet, 2012). De acuerdo a la plataforma de Google maps®, el simposio se realizó a 9 km de Buhangin y a 36 km de Calinan, lugares donde se ha detectado Foc R4T en huertas de Cavendish por Molina (2008). Se desconoce los lugares visitados durante el tour industrial.

Colombia

- Gira técnica banano, Colombia **2018**, Santa Martha (BananoTecnica, 2018). De acuerdo con la plataforma de Google maps®, el evento se realizó a más de 100 km del brote de Foc R4T un año antes de la notificación oficial de la presencia de Foc R4T en Colombia (ICA, 2019). La gira técnica incluyó sesiones del congreso y visitas a huertas. En el programa no se especifica la ubicación de las huertas visitadas.

Australia

- International Banana Conference. **2018**. Ciudad de Davao, Filipinas. Centro de Convenciones SMX. Del 10-12 de octubre de 2018, el congreso se realizó en el SM Lanang Premier, en la ciudad de Dávao en la Provincia de Davos del Sur (Philexport, 2018) y de acuerdo a la plataforma de Google maps®, se ubica a 9 km de Buhangin y a 36 km de Calinan, lugares donde se ha detectado Foc R4T en huertas de Cavendish (Molina, 2008).
- Australian Banana Industry Congress. **2019**. Gold Coast, Queensland, Australia (ABGC, 2019), de acuerdo a la plataforma de Google maps®, el evento se realizó a 1600 km del valle de Tully con donde se reportó la presencia de Foc R4T (O'Neill *et al.*, 2016; DAF, 2019).

Considerando lo anterior, no existen registros documentales de la asistencia de investigadores, docentes, estudiantes o público en general a congresos y eventos en los últimos 10 años, que fueron realizados en países con presencia de Foc R4T. Además, investigadores que pudieron haber

asistido a documentar los brotes de Foc R4T en Colombia (2019) y Perú (2020) tienen conocimiento de precauciones que se deben de tomar respecto a las medidas profilácticas y manejo de equipaje, así como evitar introducir material vegetal infectado a México, por tanto, se determinó que la introducción por esta vía es de **Riesgo Bajo**.

c) Suelo adherido al calzado de migrantes

En el año 2017, se reportaron 258 millones de migrantes a nivel mundial, de los cuales, 58 millones tuvieron como destino los EUA (IOM, 2018), siendo México la principal ruta de tránsito.

Migrantes sudamericanos

En agosto de 2019, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) de Colombia confirmó la presencia de Foc R4T en plantaciones de banano Cavendish en el municipio de Dibulla y Riohacha, ambos en el Departamento de La Guajira, en Colombia (ICA, 2019). En este contexto, es pertinente considerar el arribo de migrantes sudamericanos como posible vía de ingreso de este patógeno, a través del suelo adherido al calzado de personas provenientes de Colombia, incluyendo migrantes venezolanos que pudieran transitar por la Guajira en su trayecto hacia Estados Unidos de Norteamérica.

Colombia es considerado como un país de llegada, tránsito y permanencia de personas migrantes de Venezuela (GIFMM, 2018b). De acuerdo con información del Plan Regional de Respuesta para Refugiados y Migrantes, para el mes de septiembre de 2018 había 1,263,355 venezolanos en Colombia, y se estimó que para diciembre de ese mismo año ascendería a 1,529,007 personas, y para diciembre de 2019 se estimó alrededor de 2,274,660 venezolanos. El único punto de ingreso en la zona norte de Colombia para migrantes y refugiados venezolanos, es por la aduana de Paraguachón, en el Departamento de la Guajira (Plan Regional de Respuesta para

Refugiados y Migrantes, 2019); sin embargo, de acuerdo a una estimación realizada en la plataforma de Google Maps®, el punto de ingreso a Colombia está localizada aproximadamente a 130 km de la zona de presencia de Foc R4T.

El Departamento de la Guajira y el municipio de Riohacha registraron el mayor ingreso de venezolanos a Colombia (GIFMM, 2018a); el flujo de personas por localidades de Pelechua y Dibulla es muy bajo, debido a que la principal ruta de tránsito es hacia el sur, rumbo al Departamento del César, para después dirigirse hacia el Puerto de Cartagena (**Figura 1.1**) [Colombia Information Management and Analysis Unit, 2019]. Sin embargo, se desconoce la cifra de migrantes venezolanos o colombianos que transitan la zona de presencia de Foc R4T, y que posteriormente arriban a México. También se desconoce la proporción de migrantes respecto a las vías de transporte, aunque no existen datos oficiales, se puede apreciar en las noticias periodísticas que la mayoría de los migrantes se transportan a pie (<https://www.dw.com/es/flujo-de-migrantes-venezolanos-va-a-continuar-advierte-acnur/a-50013613>). Sin embargo, por la distancia que existe entre ambos países (Colombia y México) es poco probable que las personas puedan movilizar propágulos del patógeno en suelo adherido a los zapatos.

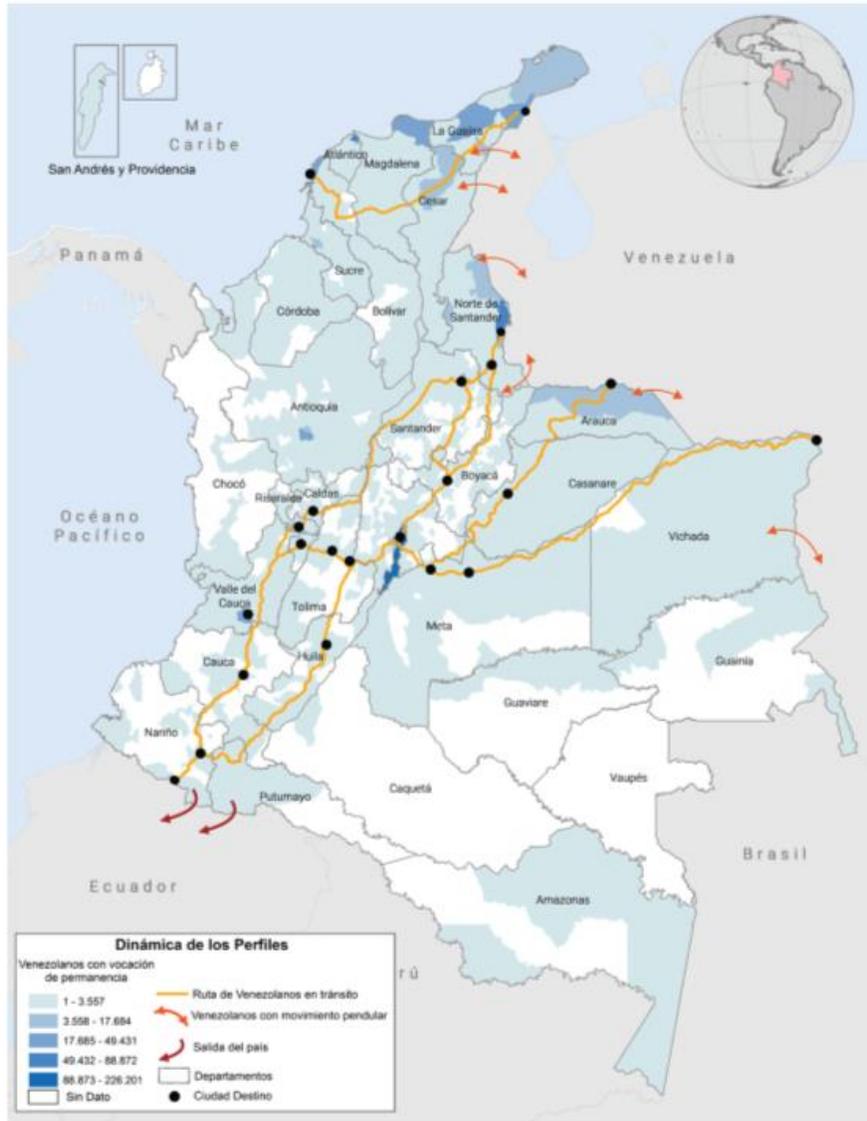


Figura 1.1. Flujo de migrantes venezolanos en Colombia. (Tomado de Colombia Information Management and Analysis Unit, 2019).

Por otra parte, el Tapón de Darién en la frontera entre Colombia y Panamá, constituye un obstáculo natural entre Norteamérica y Sudamérica (Orozco-Cuello *et al.*, 2012), se considera que migrantes colombianos o venezolanos que hayan transitado por áreas con presencia de Foc R4T en la Guajira, al llegar al Tapón de Darién después de hacer un largo recorrido, los posibles propágulos de patógeno podrían haberse desprendido de las suelas de los zapatos al pasar por una zona selvática inaccesible; por lo tanto, la probabilidad de dispersar al patógeno es muy baja.

Migrantes centroamericanos

La región de Chiapas (México)-Guatemala, se considera como un destino de migrantes internacionales (Rojas-Wiesner y Ángeles-Cruz, 2004), en especial en la región del Soconusco, la cual, presenta una intensa dinámica de movilidad poblacional, en donde se pueden distinguir, **a)** migrantes que permanecen en esta zona, y **b)** aquellos que la utilizan como vía de entrada y tránsito al interior del país y hacia EUA (Ángeles-Cruz y Rojas-Weisner, 2000).

Para los migrantes que permanecen en dicha región, Rojas-Weisner (2018), reportó que personas de origen guatemalteco (hombres y mujeres) llegan a México a laborar por temporadas, y retornan a sus lugares de origen; sin embargo, algunos migrantes se quedan a radicar en México, e incluso otros transitan de manera cotidiana para trabajar en nuestro país.

México es la segunda ruta de tránsito de migrantes a nivel mundial después del Mediterráneo. En 2019, se estimó que 500,000 personas transitaron por México hacia EUA; además, las políticas migratorias adoptadas por México y por el país vecino del norte, hacen que las personas queden atrapadas en los trámites burocráticos que los obligan a regresar a sus lugares de origen o transitar por lugares más inseguros (Médicos sin Fronteras, 2019). La Ley de Migración, establece en el Artículo 37, que para que los extranjeros ingresen a México, deberán presentar documentación de identidad, visa y tarjeta de residencia o autorización; en caso de no cumplir con estos requisitos, en el Artículo 86, se establece que los extranjeros serán rechazados y no podrán ingresar a nuestro país (DOF, 2022), de tal manera que los migrantes son retenidos en la frontera sur de México (EFE, 2020). Así mismo, para evitar los retenes, los migrantes han optado por utilizar lanchas rápidas para rodear la Península de Yucatán y arribar a Tabasco-Veracruz, para después continuar su camino hacía EUA, vía terrestre (<https://www.razon.com.mx/mexico/ante-mayor-control->

[fronterizo-polleros-abren-ruta-por-mar/](#)). Lo anterior limita la posible introducción de Foc R4T a México.

En general, existen factores que limitan la movilización de migrantes venezolanos y colombianos que transitan por la Guajira con destino hacia EUA, teniendo como ruta Centroamérica-México, como son trayectos y distancias largas, y barreras naturales tales como el Tapón de Darién ubicado en los límites de Colombia y Panamá que impiden de manera natural la movilización de migrantes hacía EUA vía México, las características naturales de dicha zona reducen la probabilidad de movilización de este hongo adherido al calzado de las personas.

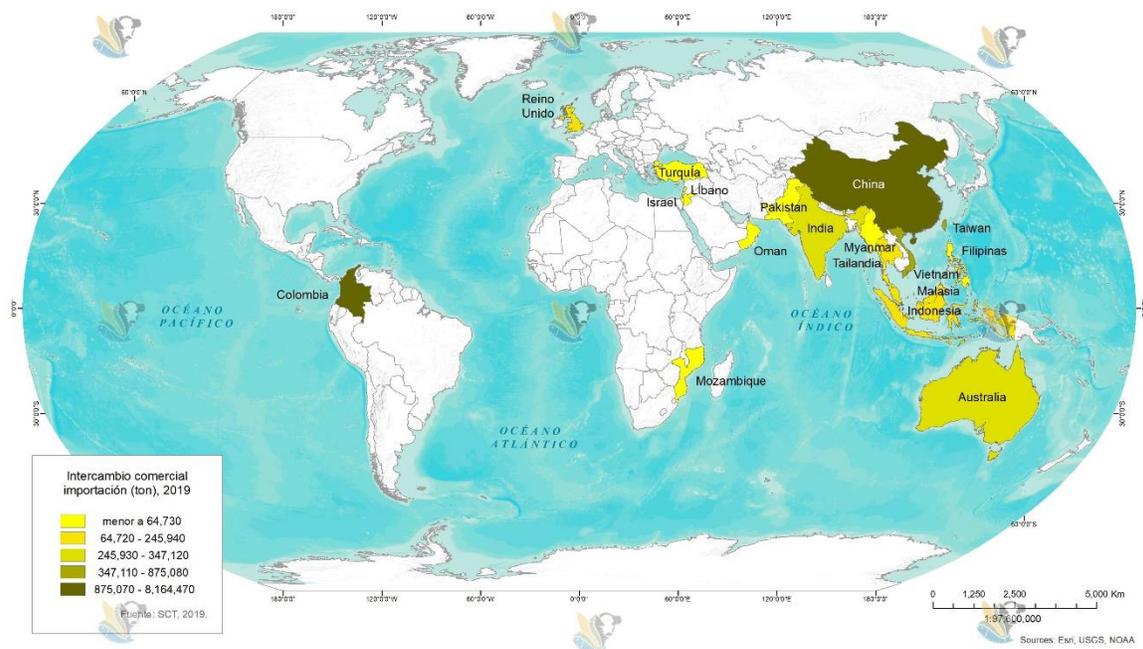
Aunado a lo anterior, es pertinente señalar que la mayoría de los migrantes que llegan a la frontera sur de México, provienen de países en donde no se ha reportado Foc R4T, como Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá, por lo que, es poco probable que el inóculo de Foc R4T pueda movilizarse adherido al calzado de los migrantes desde Colombia hacia Centroamérica y después a México. Por lo tanto, la introducción de este patógeno a nuestro país a través de personas provenientes de Centroamérica y Sudamérica es de **Riesgo Bajo**.

d) Contenedores contaminados con inóculo de Foc R4T

Las especies invasoras se introducen a hábitats por medio de diversas vías, una de las principales es el transporte marítimo. Este tipo de transporte involucra el uso de contenedores, que pueden actuar como medio de dispersión de plagas (IPPC, 2013b; FAO, 2016), ya que, en el suelo o excrementos de aves, que se encuentra encima o dentro de los contenedores, pueden encontrarse microorganismos, semillas o restos vegetales (IPPC, 2013b); por ejemplo, *Phytophthora infestans* se diseminó por esta vía (FAO, 2016). En un estudio realizado en Australia, se analizaron 3001

contenedores, de los cuales, en 1174 se encontraron 7400 insectos vivos y muertos, incluyendo plagas de madera y agrícolas; en más del 10% de los contenedores se encontraron plagas de productos almacenados (Stanaway *et al.*, 2001). Además, Dita *et al.* (2018) mencionaron que es posible que Foc R4T se disperse por medio de contenedores.

En 2018, México tuvo un intercambio marítimo total de 237,203,127 toneladas con países del continente americano un intercambio del 64.3%, seguido de Asia con 21.6%, Europa con 12.0%, África con 1.9% y Oceanía 0.3% (**Cuadro 1.2**) (SCT, 2021). Por otra parte, México en 2018, tuvo un intercambio comercial total de 41,204,657 t con países con presencia de Foc R4T, de las cuales 20,134,064 t corresponden a importaciones y 21,070,593 t a exportaciones, los principales países en orden de importancia fueron: China, India, Colombia, Taiwán y Perú (**Cuadro 1.3** y **Figura 1.2**) [SCT, 2019], cabe señalar que México mantiene intercambio comercial marítimo con 20 países con presencia de Foc R4T, incluyendo los dos países de América con presencia de este patógeno.



ARP - CNRF - DGSV - SENASICA
DERECHOS RESERVADOS © 2019.

NO ESTÁ PERMITIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTA PUBLICACIÓN, NI LA TRANSMISIÓN DE NINGUNA FORMA O POR CUALQUIER MEDIO, YA SEA ELECTRÓNICO, MECÁNICO, FOTOCOPIA, POR REGISTRO U OTROS MÉTODOS, SIN EL PERMISO BREVE Y POR ESCRITO A LA INSTITUCIÓN.

Figura 1.2. Intercambio comercial marítimo (toneladas) de México con los principales países, durante el 2018 (SCT, 2021).

Cuadro 1.2. Intercambio comercial de México vía marítima por regiones en toneladas durante 2019 (SCT, 2021).

Intercambio marítimo comercial de México por regiones						
	América	Asia	Europa	África	Oceanía	Total
	Toneladas (t)					
Importación	78,891,797	20,516,728	12,583,833	3,673,707	731,490	116,397,555
Exportación	73,534,359	30,603,673	15,805,049	800,060	62,431	120,805,572
Total	152,426,156	51,120,401	28,388,882	4,473,767	793,921	237,203,127

En 2019, México registró un flujo total de 7,100,739 contenedores en puertos de altura para la comercialización (importación y exportación) de mercancías en general a nivel nacional e internacional; los principales puertos fueron: Manzanillo (43.2%), Lázaro Cárdenas (18.5%), Veracruz (16.1%) Altamira (12.3%) y Ensenada (4.7%), los cuales representaron el 95.0% del movimiento de contenedores del comercio internacional de mercancías (**Cuadro 1.4**) [SCT, 2019].

Cuadro 1.3. Intercambio comercial marítimo de México con países con presencia de Foc R4T, durante 2019 (SCT, 2021).

País	Intercambio marítimo comercial de México con países con Foc R4T		
	Importaciones	Exportaciones	Total
Toneladas (t)			
China	8,490,804	4,620,938	13,111,742
India	219,758	10,342,404	10,562,162
Colombia	7,663,411	2,057,136	9,720,547
Taiwán	1,043,798	1,531,207	2,575,005
Perú	321,646	915,419	1,237,065
Reino Unido	239,087	536,443	775,530
Australia	721,084	47,715	768,799
Turquía	72,472	617,737	690,209
Vietnam	432,604	100,772	533,376
Malasia	487,531	9,378	496,909
Indonesia	331,194	44,224	375,418
Tailandia	82,117	123,400	205,517
Mozambique	20,044	42,737	62,781
Filipinas	1,334	45,300	46,634
Israel	3,224	20,303	23,527
Pakistán	740	6,993	7,733
Líbano	-	5,256	5,256
Birmania	3,087	-	3,087
Omán	128	1,621	1,749
Jordania	1	1,610	1,611
Total	20,134,064	21,070,593	41,204,657

Derivado de la actividad comercial de los puertos de **Lázaro Cárdenas** y **Manzanillo** con países que tienen presencia de Foc R4T, de los cuales, se importan diversas mercancías, incluyendo plátano y sus productos, existe un riesgo potencial de introducción por medio de contenedores contaminados. En 2016, a nivel mundial, se presentó un flujo de contenedores de 752,058,000,764. En el **Cuadro 1.5**, se muestra el número de contenedores durante el periodo de 2015-2017 para algunos países con presencia de Foc R4T, de los cuales, destaca China por su alto volumen de comercialización a nivel mundial (Grupo Banco Mundial, 2019).

Cuadro 1.4. Movimiento total de contenedores operados por puerto, durante 2019 (SCT, 2021).

Puerto	Flujo marítimo total de contenedores en México		
	Importación Núm.	Exportación Núm.	Total Núm.
Manzanillo, Colima	1,523,487	1,545,580	3,069,067
Lázaro Cardenas, Michoacán	695,369	623,363	1,318,732
Veracruz, Veracruz	566,003	578,153	1,144,156
Altamira, Tamaulipas	401,898	475,498	877,396
Ensenada, Baja California	171,672	166,066	337,738
Progreso, Yucatán	76,962	76,357	153,319
Puerto Chiapas, Chiapas	26,804	26,208	53,012
Mazatlan, Sinaloa	22,841	23,931	46,772
Tuxpan, Veracruz	20,348	19,241	39,589
Guaymas, Sonora	10,119	10,856	20,975
Coatzacoalcos, Veracruz	8,718	9,004	17,722
Tampico, Tamaulipas	6,249	5,449	11,698
Puerto Morelos, Quintana Roo	4,286	4,603	8,889
Salina Cruz, Oaxaca	1,672	-	1,672
Dos Bocas, Tabasco	2	-	2
Total	3,536,430	3,564,309	7,100,739

Cuadro 1.5. Cantidad de flujo de contenedores equivalentes a 20 pies vía marítima durante el periodo de 2015-2017 de algunos países con presencia de Foc R4T (Grupo Banco Mundial, 2019).

País	Flujo marítimo de contenedores de 20 pies de México		
	2015	2016	2017
China	195276751	199551751	213719925
Malasia	24259700	24570000	24719000
Hong Kong	20114000	19580000	20770000
Indonesia	11978700	12478700	13859500
India	11882003	12086010	13259000
Vietnam	11478573	11853000	12284395
Tailandia	9522320	9940320	10732000
Filipinas	7210441	7621441	8196961
Colombia	3659300	3665300	3444503
Pakistán	2755600	2755600	2985600
Israel	2522000	2522000	2856028
Myanmar	827249	1026216	1070343
Jordania	767000	767000	796087
Mozambique	449700	449700	432100
Papua Nueva Guinea	279189	279189	275989

En 2019, México tuvo un intercambio marítimo total de 237,203,127 toneladas, de las cuales **41,204,657 t** se realizaron con países con presencia de Foc R4T. Si bien es cierto se reportó la posibilidad de que Foc R4T se disperse por contenedores contaminados, a la fecha no se ha demostrado científicamente el porcentaje de dispersión por esta vía. No obstante, tres de los principales puertos marítimos se localizan en estados productores de plátano y banano: Manzanillo (Colima), Lázaro Cárdenas (Michoacán), puerto de Veracruz (Veracruz), por lo que se considera que el riesgo de introducción por esta vía es de **Riesgo Bajo**.

e) Artesanías con tejido infectado con Foc R4T

Las razas de Foc, incluyendo R4T se puede diseminar por medio de artesanías elaboradas con tejido de banano infectado (Urias, 2016). En ese sentido, en varios países de América, se fabrican artesanías con material vegetal de bananos y plátanos; en Colombia se elaboran artesanías o artículos decorativos a partir de hojas de banano y fibras de plátano las cuales, se pueden extraer tanto del raquis como del pseudotallo (Feuillet-Hurtado *et al.*, 2011; Gómez-Berrio, 2011).

El proceso de elaboración de artesanías a partir del pseudotallo, consiste en seleccionar la planta de plátano en etapa de producción, se corta la planta y se eliminan las raíces y hojas, se extraen las capas del pseudotallo para posteriormente, eliminar el tejido esponjoso, se limpia y extrae del líquido de la fibra, donde salen las láminas o tiras, que son lavadas con naranja agria o ácida. Posteriormente, se secan al sol para mejorar su blandura y finalmente se elaboran los cordones y con ellos se fabrican las artesanías (Pineda-Cabrales y Rosa-Salazar, 2006). En ese sentido, se recomienda que las muestras de pseudotallo de plátano para diagnóstico de Foc R4T, no se deben de exponer a los rayos directos del sol, ni a altas temperaturas, ya que ello podría interferir con el diagnóstico; por lo tanto, la exposición directa de los pseudotallos a los rayos del sol, podría

eliminar parcialmente el patógeno. Hasta el mes de diciembre de 2019, la Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria (DGIF) del Senasica, no contaba con registro de decomisos o importaciones de artesanías elaboradas con tejido de plátano o banano en los puntos de ingreso a México (DGIF, 2019).

Debido a que el proceso de elaboración de artesanías involucra factores físicos que pueden reducir la viabilidad del patógeno, y a que no se han registrado incautaciones de estos artículos, se considera que la probabilidad de que Foc R4T ingrese a México es de **riesgo Bajo**.

f) Agua de lastre de embarcaciones navieras

El agua de lastre que se utiliza para estabilizar los buques en el mar puede dispersar microbios, plantas y animales, por todo el mundo (IMO, 2017). Por ejemplo, 24 especies de hongos se han detectado en agua de lastre de un buque en el puerto de Vladivostok, destacando: *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Acremonium butyri*, *A. fusidioides*, *A. roseum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus candidus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. melleus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum*, *C. brevicompactum*, *Fusarium oxysporum* var. *orthoceras*, *Geomyces pannorum*, *Penicillium dierckxii*, *P. cyaneum*, *P. griseofulvum*, *P. steckii*, *P. waksmanii*, *Penicillium* sp., y *Trichoderma polysporum* (Zvyagintseva et al., 2009).

Aunado a lo anterior, se han detectado varias especies de *Fusarium* incluyendo a *F. oxysporum* en aguas de ríos, desembocadura de ríos, agua encharcada, aguas del litoral, y aguas marinas (Palmero et al., 2006; Palmero-Llamas, 2008). Este patógeno se detectó en el 72% de las muestras de agua de río analizadas y en 15% en muestras de aguas de mar; dos aislamientos que provenían de agua de mar presentaron bajo porcentaje de incidencia de *damping-off* en cebada, col, melón y tomate; otros aislamientos de *Fusarium* provenientes de agua de mar redujeron la tasa de

crecimiento vegetal, en comparación con aislamientos de aguas de ríos; *F. oxysporum* y otras especies de *Fusarium* tuvieron la capacidad de crecer en concentraciones de cloruro de sodio o de potasio (Palmero-Llamas, 2008). Por lo tanto, es posible que Foc R4T se pueda diseminar por agua de lastre, toda vez que los propágulos de este patógeno pueden sobrevivir por más de cuatro meses en diferentes tipos de aguas (Viljoen, 2018).

En el caso de Colombia, el río Tapias fluye por las fincas Don Ali y Don Marce, ubicadas en las coordenadas 11°16'4.96''-73°8'26.15'' (Corpoguajira, 2017), en donde se reportó la presencia de Foc R4T. Este río, desemboca en la costa a una distancia de aproximadamente 11 km, y se presume que por el efecto los vientos y las corrientes marinas, en especial la Corriente Ecuatorial del Sur, los cuales fluyen hacia el este (Fernández-López, 2018; US National Weather Service, 2019), podrían acarrear propágulos del hongo hacia el puerto de Santa Martha, el cual, se encuentra a una distancia aproximada de 120 km. Este puerto, es uno de los principales puntos comerciales de Colombia, de donde parten embarcaciones hacia distintos puertos del mundo; México tiene servicio directo de Santa Marta al puerto de Manzanillo con un tiempo de tránsito de 3 días, y tiene servicios con conexiones con Santa Marta-Cartagena (Colombia)-Altamira con 15 días de tránsito, Santa Marta-Cartagena (Colombia)-Veracruz con 14 días de tránsito, Santa Marta-Cartagena (Colombia)-Guayaquil (Ecuador)-Lázaro Cárdenas con un tiempo de tránsito de 42 días (Procolombia, 2019). No obstante, se desconoce la sobrevivencia de propágulos de Foc R4T en agua de mar; en diferentes tipos de agua dulce, el patógeno sobrevive por más de cuatro meses (Viljoen, 2018).

Lo anterior podría ocurrir en puertos de otros países que mantienen flujos comerciales con México. En el caso de Filipinas, en la isla de Mindanao, los puertos marítimos se ubican en el Golfo de Davos, muy cercanos al sitio donde se detectó Foc R4T; por ejemplo, Buharin, se

encuentra a 12 km del Puerto de Davos y a 30 km de **Davao International Container Terminal, Inc.**, ubicado en la Ciudad de Penabo en la provincia de Davos del Norte. Por otra parte, esta Terminal, marítima se localiza a 34 km del municipio de Santo Tomás, en donde se reportó la presencia de Foc R4T (Molina 2014). Es posible que los propágulos del hongo puedan ser acarreados por las esorrentías de las aguas de lluvia hacia las desembocaduras de los ríos y arroyos en el Golfo de Davos, y puede sobrevivir más de 4 meses en agua corriente y estancada (Viljoen, 2018).

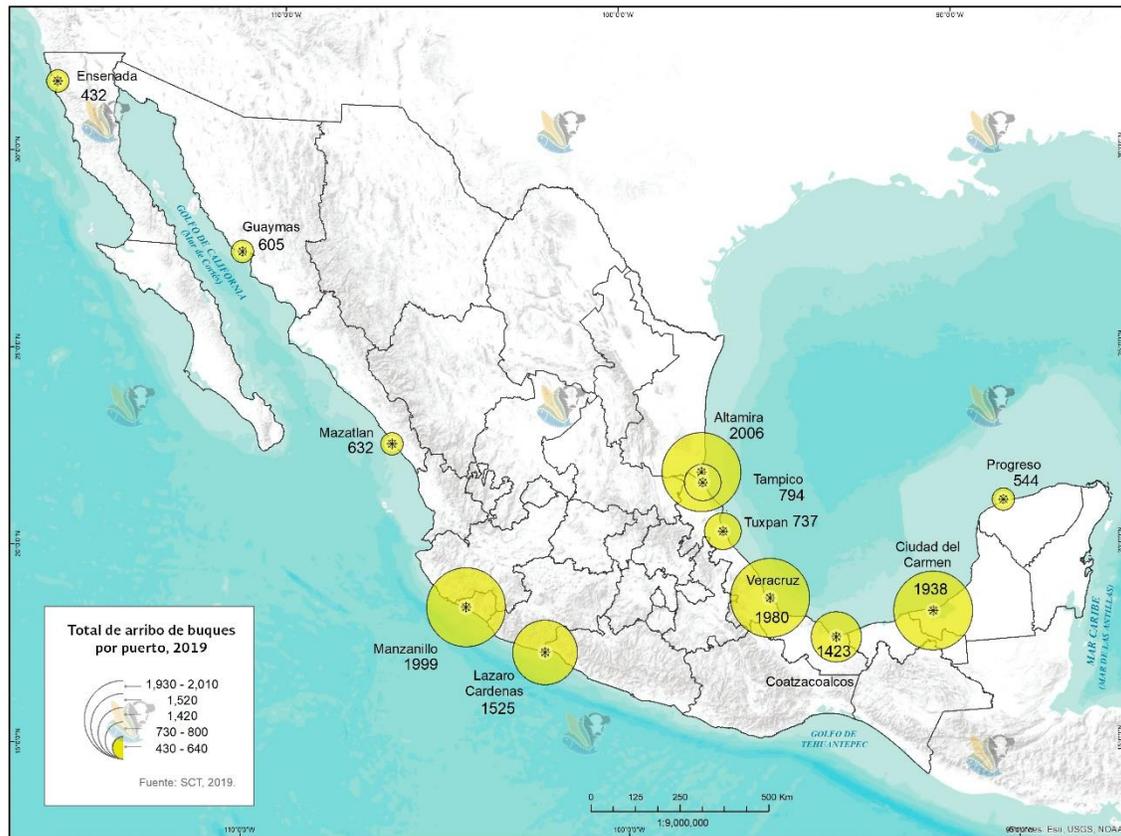
En México el arribo de buques de carga y embarcaciones menores es alto. En 2019 llegaron 22,716 buques y 23,312 embarcaciones menores (**Cuadro 1.6**); los puertos de Dos Bocas, Altamira, Manzanillo, Veracruz y Ciudad del Carmen, reciben mayor número de buques de carga (**Cuadro 1.7**). Por otra parte, los puertos de Veracruz, Coatzacoalcos, Progreso, Tuxpan, Manzanillo tuvieron la mayor afluencia de buques de productos agrícolas a granel; mientras que los puertos de Manzanillo, Lázaro Cárdenas, Altamira, Veracruz y Progreso tuvieron el mayor número de productos agropecuarios en contenedores (**Figura 1.3**) [SCT, 2021]. De acuerdo con el SIAP (2021), dichos puertos excepto Altamira, se ubican en estados productores de plátano y banano. Respecto al número de cruceros, los puertos de Cozumel, Majahual, Ensenada, Cabo San Lucas y Progreso tuvieron el mayor arribo (**Cuadro 1.8**) (SCT, 2019); sin embargo, sólo los dos primeros se ubican en Quintana Roo el cual produce menos de 500 has de plátano y banano (SIAP, 2021).

Cuadro 1.6. Arribo de buques de carga y embarcaciones menores a 500 toneladas que arribaron a los puertos de México en 2018 (SCT, 2019).

Tipo de carga	Arribo de buques de carga y embarcaciones menores a 500 t	
	Buques de carga	Embarcaciones menores*
General suelta	8777	23,312
General contenerizada	4374	
Petróleo y derivados	4206	-
Granel mineral	3555	-
Granel agrícola	598	-
Otros fluidos	1206	-
Total	22716	23,312

Cuadro 1.7. Arribo de buques en los principales puertos del México por tipos de carga (SCT, 2021).

Puerto	Arribo de buques de carga en México					Total
	General suelta	General contenerizada	Granel agrícola	Granel mineral	Otros fluidos	
Dos Bocas	3,517	-	7	21	107	3,652
Ciudad del Carmen	2,549	-	-	82	4	2,635
Veracruz	588	662	236	125	177	1,788
Manzanillo	249	1,319	38	179	-	1,785
Altamira	378	609	21	196	414	1,618
Lázaro Cárdenas	367	790	4	224	52	1,437
Isla De Cedros	-	-	-	836	-	836
Guerrero Negro	-	-	-	752	-	752
Coatzacoalcos	181	53	67	47	247	595
Ensenada	82	263	1	155	3	504
Tampico	186	80	14	160	7	447
Tuxpan	89	133	53	39	124	438
Mazatlán	311	88	-	-	-	399
Progreso	34	230	91	8	10	373
Guaymas	32	28	17	202	8	287
Punta Venado	-	-	-	235	-	235



ARP - CNRF - DGSV - SENASICA
DERECHOS RESERVADOS © 2019.

NO ESTÁ PERMITIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTA PUBLICACIÓN, NI LA TRANSMISIÓN DE NINGUNA FORMA O POR CUALQUIER MEDIO, YA SEA ELECTRÓNICO, MECÁNICO, FOTOCOPIA, POR ESCRITO U OTROS METODOS, SIN EL PERMISO PREVIO Y POR ESCRITO A LA INSTITUCIÓN.

Figura 1.3. Total del número de buques que arribaron por puerto en 2019 (SCT, 2019).

Existe el riesgo de posible introducción de fitopatógenos por medio de agua de lastre, considerando las relaciones comerciales e intercambio comercial marítimo de México con diferentes países con presencia de Foc R4T. Sin embargo, el 13 de febrero de 2014 se adoptó un **Convenio Internacional para el control y la gestión del agua de lastre y sedimentos de los buques**, que entró en vigor el 8 de septiembre de 2017. Este convenio obliga a los buques, la aplicación de un plan de gestión del agua de lastre y sedimentos, que incluye el registro del agua de lastre, y el uso de procedimientos de gestión del agua de lastre. La aplicación de las normas referidas en el documento se realizará de manera gradual, pero como solución intermedia, los buques deberán cambiar el agua de lastre en alta mar, e instalar sistemas de tratamiento de agua

de lastre a bordo (IMO, 2017). Esta regulación puede reducir la posible diseminación de Foc R4T por agua de lastre.

Cuadro 1.8. Número de cruceros internacionales que arribaron a México, en 2019 (SCT, 2021).

Puerto	Cruceros			Pasajeros	
	Atracados	Fondeados	Total	Total	Promedio
Cozumel	1,290	8	1,298	4,299,871	3,312
Majahual	377	-	377	1,227,695	3,255
Ensenada	266	-	266	665,799	2,502
Cabo San Lucas	-	176	176	434,489	2,468
Progreso	147	-	147	443,352	3,015
Puerto Vallarta	137	-	137	360,812	2,633
Mazatlán	90	-	90	258,713	2,874
Huatulco	36	-	36	50,802	1,410
Acapulco	25	-	25	31,337	1,252
Manzanillo	24	-	24	44,345	1,847
Puerto Chiapas	16	-	16	20,536	1,283
Pichilingue	9	-	9	11,702	1,299
Loreto	-	6	6	9,232	1,538
Topolobampo	2	-	2	757	378
Guaymas	1	-	1	630	629
Total	2,420	190	2,610	7,860,072	3,011

Con base en la información presentada, se considera que Foc R4T podría ingresar a nuestro país por medio de agua de lastre de embarcaciones marítimas de carga, cruceros y otro tipo de embarcaciones provenientes de puertos de países con la presencia de esta enfermedad. Sin embargo, debido a que existe un convenio internacional para el tratamiento de agua de lastre y sedimentos de buques de carga, y las distancias que existen entre México con países con presencia de Foc R4T, este riesgo se reduce, por lo que esta vía de introducción es de **Riesgo Bajo**.

Probabilidad de establecimiento

La probabilidad de que Foc R4T se establezca en México, se determinó considerando los aspectos siguientes:

- a) **Hospedantes potenciales.** Foc R4T afecta a todas las especies de Musáceas. Por lo que se llevó a cabo una revisión bibliográfica de los principales cultivos comerciales y plantas silvestres con potencial hospedante para Foc R4T y para todas las razas de Foc en México. Se consideró el cultivo de jitomate, debido a que la variedad MoneyMaker es también hospedante de Foc R4T.
- b) **Hospedantes comerciales.** En México, en el ciclo agrícola 2020 se tenían establecidas 80,546.74 ha de 10 variedades susceptibles de plátano y banano en 16 estados y 212 municipios, con una producción nacional de 2,464,171.34 t, un rendimiento de 30.9 t/ha y un valor de la producción de 9,409,264.82 pesos (**Cuadro 1.9**) [SIAP, 2021]. Los principales estados productores de plátano y banano en orden de importancia, son: Chiapas (23,372.57 ha), Veracruz (16,054.72), Tabasco (11,684.42), Colima (6,089.24), Michoacán (5,649) y Jalisco (4,044). En la **Figura 1.4**, se muestran los principales municipios productores en orden de importancia, son: Teapa (7,439.57 ha), Suchiate (5,503.07 ha), Coahuayana (4,589 ha), Tecomán (4,158.2 ha) y Atzalan (3,867 ha) [SIAP, 2021].
- c) **Hospedantes silvestres.** En México se encuentran distribuidas 5 especies de plantas silvestres: 1) *Chloris barbata* (= *Chloris inflata*), 2) *Commelina diffusa*, 3) *Cyanthillium cinereum*, 4) *Cyperus rotundus*, 5) *Tridax procumbens* (Herrera, 1988; INE, 1999; INECC, 2007; Portal de datos abiertos UNAM, 2019). Los cuales se ha reportado como hospedantes de Foc R4T en otros países (Su *et al.*, 1986; Hennessy *et al.*, 2005; Thangavelu y Uma, 2018; QDAFHI, 2020).

Cuadro 1.9. Variedades de banano y plátano cultivadas en México, ciclo agrícola 2020 (SIAP, 2021).

Variedad	Superficie Sembrada (ha)	Producción (t)	Valor Producción (pesos)
Plátano enano gigante	37,039.76	1,651,811.78	6,363,326.50
Plátano macho	19,552.37	375,532.75	1,273,378.60
Plátano dominico	8,888.90	151,012.28	702,341.92
Plátano criollo	5,997.79	101,896.01	287,478.04
Plátano Valery	2,857.48	82,590.57	378,812.03
Plátano Tabasco	2,084.44	44,234.02	186,919.80
Plátano manzano	1,690.00	20,216.38	89,116.31
Plátano pera	1,248.50	19,435.60	46,787.75
Plátano morado	1,004.50	15,235.59	68,113.98
Plátano thai	183	2,206.36	12,989.89
Total	80,546.74	2,464,171.34	9,409,264.82

Nota. No se tienen datos de distribución y producción de tomate variedad MoneyMaker.



Figura 1.4. Producción nacional de plátano en México por variedad y municipio, ciclo agrícola 2020 (SIAP, 2022).

Condiciones ambientales. De acuerdo con el modelaje realizado con el software MAXENT, se compararon las condiciones climáticas de los sitios donde se reporta la plaga como presente con

las condiciones climáticas de México, ubicando potenciales sitios de riesgo. La **Figura 1.5**, denota las latitudes de algunos países (Taiwán, China, Laos, Birmania, Tailandia, Vietnam, Filipinas, India, Paquistán, Israel, Jordania y Omán) con presencia del patógeno, mismas que son coincidentes a las de México.

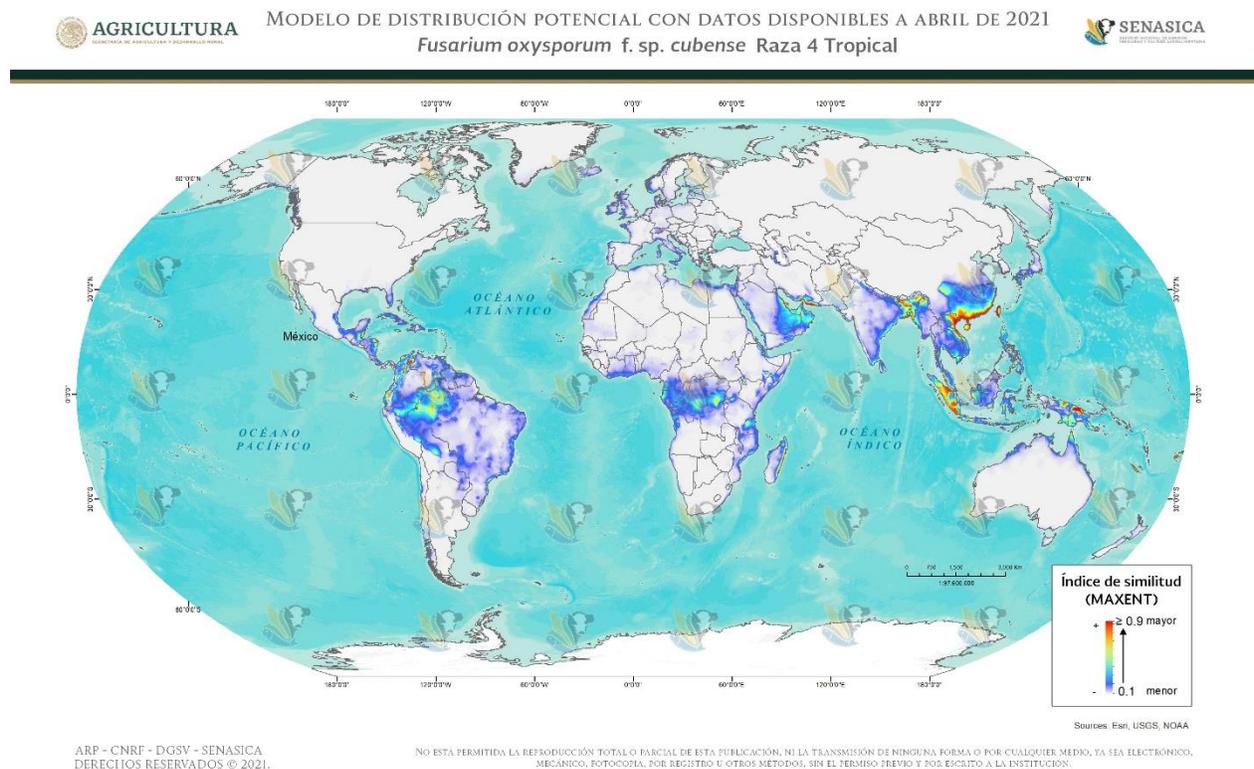


Figura 1.5. Modelo de distribución potencial (Maxent) mundial para de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical. Elaboración propia Coordinación de Análisis de riesgo de plagas (2019).

La **Figura 1.6** muestra las regiones en México en las cuales Foc R4T puede encontrar las condiciones climáticas similares a los sitios donde se reporta la plaga a nivel internacional. **Guerrero** es el estado con mayor superficie con condiciones similares, y con superficie de hospedantes: Benito Juárez, San Marcos, Acapulco de Juárez, Coyuca de Benítez, Florencio Villareal, Tecpán de Galeana, Atoyac de Álvarez y Copala. En **Veracruz**, las condiciones similares se presentan en los Municipios de Tampico Alto, Tamiahua, Ozuluama de Mascareño,

Tamalín, Tantima, Chinampa de Gorostiza y Tuxpan en la parte norte, además de Boca del Rio, Alvarado y Medellín en la parte central, este último municipio, es el único con presencia de hospedantes cultivados. En **Nayarit**, los municipios con presencia de hospedantes y con condiciones similares son: San Blas y Santiago Ixcuintla. Otros estados que presentan condiciones similares para el desarrollo del hongo, pero sin hospedantes cultivados son: Tamaulipas (municipios de Altamira y Aldama) y Sinaloa (municipio de Mazatlán). Cabe señalar que las dos principales zonas productoras de plátano en México que son Suchiate en Chiapas y Teapa en Tabasco de acuerdo al índice de máxima similitud no presentan condiciones climáticas favorables para el desarrollo del patógeno.



Figura 1.6. Modelo de distribución potencial (Maxent), de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical en México. Elaboración propia Coordinación de Análisis de riesgo de plagas (2019).

Capacidad de sobrevivencia. Las estructuras de resistencia del Foc R4T sobreviven más de 30 años en el suelo, en ausencia de plantas hospedantes (Sun *et al.*, 1978). Además, se tienen reportes de detecciones de 171 esporas/g de suelo a una profundidad de 0-25 cm, 271 esporas/g de suelo a 50-75 cm, y 542 esporas/g de suelo a 75-100 cm; también se encontraron de 155 a 1205 esporas/g de suelo de diferentes campos infestados (Kema, 2015).

En condiciones *in vitro*, la temperatura óptima para el crecimiento micelial y esporulación de Foc fue de 25 °C con 86.33 mm, seguido de 28 °C con 82 mm, 30 °C con 77 mm, 22 °C con 73.33 mm, 20 °C con 68.67 mm, y 15 °C con 60.33 mm; el crecimiento más bajo se obtuvo a 35 °C con 27.33 mm, después de 9 días de inoculación. En el mismo sentido, el máximo crecimiento micelial *in vitro* se obtuvo a un fotoperiodo de 12 h luz (Somu y Thammalah, 2015). Syed *et al.* (2015) mencionaron que las temperaturas óptimas para el crecimiento micelial y esporulación fueron de 25 °C y 30 °C, respectivamente. Con base en lo anterior, México presenta condiciones óptimas de temperatura y humedad relativa propicias para el desarrollo de Foc R4T (**Figura 1.7**) en los principales estados productores de plátano y banano (Chiapas, Veracruz, Tabasco, Colima, y Michoacán).

Capacidad de dispersión. Foc R4T se introdujo a China por medio de material propagativo infectado procedente de Taiwán (Molina, 2009). En ese sentido, entre el 30% y 40% de los hijuelos obtenidos de un rizoma de banano Cavendish enfermo están infectados por el patógeno (Su *et al.*, 1986), y existen posibilidades de que el 100% de los hijuelos estén infectados; así, todos los hijuelos provenientes de una planta enferma son potenciales fuentes de inóculo y consecuentemente vías de dispersión artificial del patógeno (Dita *et al.*, 2013; 2017). La rápida dispersión del patógeno dentro China se debió a la utilización de material vegetal propagativo infectado y a la utilización de agua para riego del río Pearl (Molina, 2009; Dita *et al.*, 2018), en la

que se detectaron 75 esporas/mL (Kema, 2015). En agua corriente y estancada, el patógeno, sobrevive más de 4 meses, aunque en agua estancada el hongo sobrevive en menor proporción (Viljoen, 2018).

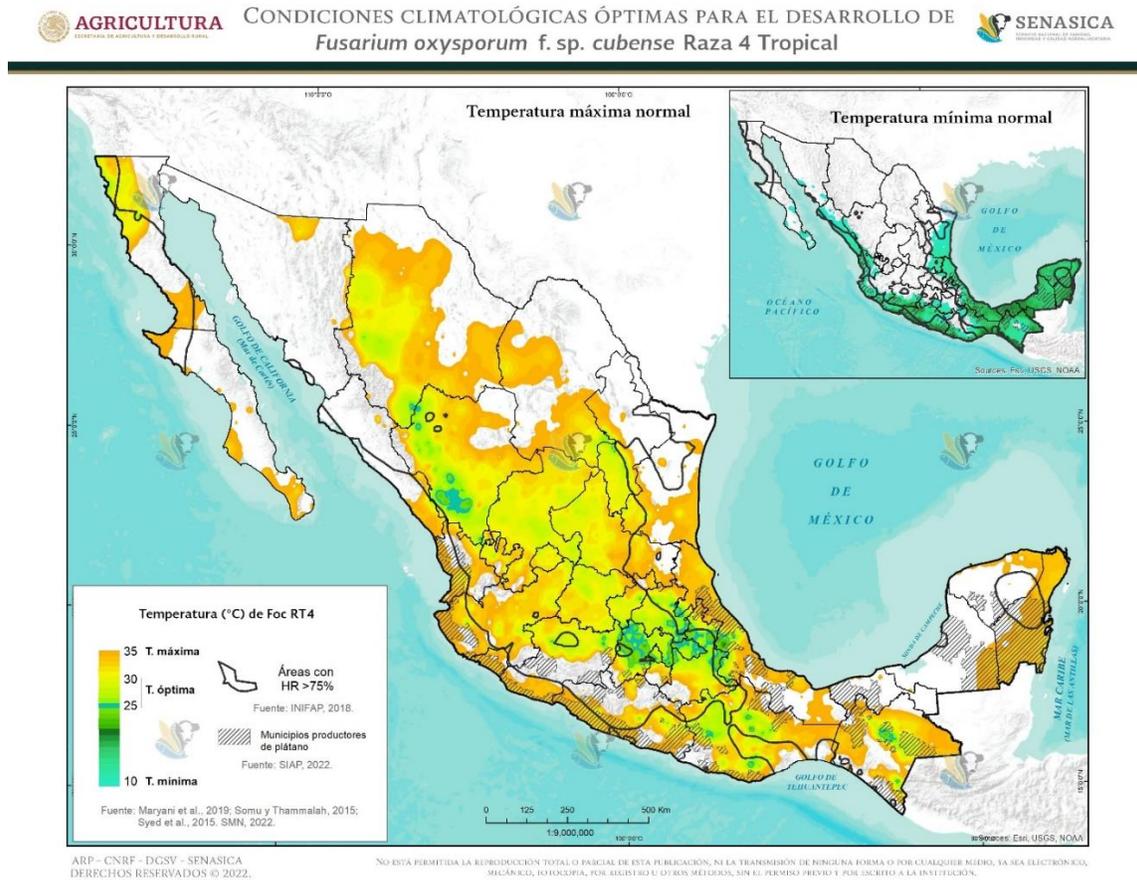


Figura 1.7. Condiciones climatológicas óptimas para el posible desarrollo de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense Raza 4 Tropical en México. Elaboración propia Coordinación de Análisis de riesgo de plagas (2021).

En Indonesia, el patógeno se dispersó de una isla a otra por medio de material propagativo infectado, movilizado por comerciantes y productores migrantes (Molina, 2009). En la isla de Sumatra, se observó que Foc R4T se dispersó a una tasa de 100 km/año (Jumjunidang y Hermanto, 2012). En el caso de Australia, estudios genéticos sugieren que Foc R4T fue introducido desde países vecinos (Molina, 2009). Mientras que se sospecha que la presencia de Foc R4T, en Laos se debió a la introducción de plántulas infectadas, importadas de China (Promusa, 2017).

A nivel local, el patógeno se puede diseminar por diferentes medios, incluyendo contacto de raíces entre plantas aledañas (Pegg *et al.*, 2019), otras formas de diseminación son: movimiento de suelo contaminado adherido a herramientas de trabajo, vehículos, maquinaria, suela de zapatos y a las pezuñas y patas de animales; además, propágulos del hongo también pueden ser movilizados por medio de herramientas de trabajo, así como, tejidos de plátano y banano infectados (Dita, 2018). Lo anterior debido a que se detectaron esporas del patógeno en suelo adherido zapatos de personas que visitan huertas infestadas (Kema, 2015).

Después del análisis realizado sobre la probabilidad de establecimiento, se concluye que México tiene variedades establecidas tanto de banano como de plátano, así como especies de malezas reportadas en otros países como hospedantes de Foc R4T, que podrían favorecer el establecimiento de este patógeno en áreas con presencia de hospedantes, y causar daños significativos en la producción de bananos y plátanos. Además, México tiene zonas con condiciones climáticas óptimas y similares a las áreas con presencia del patógeno a nivel mundial. Por lo tanto, la probabilidad de establecimiento de Foc R4T se considera de **Riesgo Alto**; por lo tanto, se concluye que la probabilidad de introducción es **Riesgo Medio (Cuadro 1.10)**, lo anterior debido a que la probabilidad de entrada es de **Riesgo Bajo** y la probabilidad de establecimiento es de **Riesgo Alto**).

Probabilidad de dispersión después del establecimiento

Considerando los mecanismos de dispersión documentados para el patógeno en los países donde está presente, las posibles vías de dispersión de Foc R4T en México, serían:

- a) **Movimiento de material propagativo.** Para el establecimiento de nuevas plantaciones de plátano y banano, como material de siembra, se utilizan diferentes partes vegetativas de

plantas establecidas en campo como cabezas o cormos enteros o fraccionados (cuatro partes), hijuelos y vástagos (Díaz-Zorrilla, 2017; Orozco-Santos, 2017). En una huerta en producción, a cada planta con racimo se deja un hijuelo próximo a florear y una planta pequeña para una generación sucesiva (Flores-López *et al.*, 2014); es decir, es un cultivo permanente. Por tanto y toda vez que se ha reportado que entre el 30 y el 100% de los hijuelos obtenidos de un cormo de un banano enfermo podrían estar infectados con Foc R4T (Su *et al.*, 1986; Dita *et al.*, 2013; 2017), el riesgo de dispersión se incrementa por la posible utilización de material propagativo enfermo. Ante esto, se recomienda utilizar plantas propagadas *in vitro*, las cuales, son de alta calidad genética y libre de patógenos, con la finalidad de disminuir el riesgo de dispersión de plagas (Orozco-Santos, 2017).

b) Movimiento de hojas para su uso y comercialización. El patógeno también se puede dispersar al movilizar hojas de plátano y banano infectadas. Dita *et al.* (2017) mencionaron que el hongo se puede desarrollar de manera externa en las hojas dañadas e incluso, puede formar esporodocios. En México y en el mercado internacional, las hojas de plátano y banano se comercializan para ser utilizados en la gastronomía regional y en la medicina tradicional; en 2017, México exportó 190 toneladas de hojas (SIAP, 2018), lo cual podría favorecer la dispersión del patógeno en México. Foc R4T tiene la capacidad de infectar las raíces, rizoma, pseudotallo, vainas y hojas de banano (Dong *et al.*, 2019), así como peciolos (Bai *et al.*, 2020).

c) Movilización de personas (jornales). En el ciclo agrícola 2005, en México existían 82,062 ha de banano y plátano con una producción nacional de 2,250,041 toneladas y un valor de la producción de 3,978,187,090 pesos para el ciclo agrícola 2020 se tenían 80,546.74 ha establecidas de plátano y banano, 2,464,171 t y un valor de la producción de 9,409,264,820

pesos (SIAP, 2021). Lo anterior denota una reducción en la superficie sembrada, pero con incrementos en volumen y en el valor la producción. En el ciclo 2005, este cultivo generó más de 100,000 empleos directos y 150,000 indirectos (SAGARPA, 2005); sin embargo, para el ciclo 2019 se generaron 100,000 empleos directos y más de 164,000 indirectos, siendo el sustento de más de 1.5 millones de personas (<https://elfinanciero.com.mx/peninsula/en-un-mes-comenzara-mexico-a-exportar-platano-a-china-anuncia-sader>). Por lo tanto, el cultivo de plátano y banano requiere de un número importante de jornales.

Para satisfacer la demanda de mano de obra para el proceso de cultivo, cosecha y empaque se utilizan jornaleros agrícolas, los cuales, emigran entre ranchos, localidades o incluso de otras regiones y países, esto incrementa el riesgo de diseminación del patógeno. En México se identifican cuatro rutas migratorias de jornales: i) **Ruta del Pacífico** que inicia en los estados de Oaxaca, Guerrero y Puebla, ii) **Ruta del Golfo** donde la población migrante sale de los estados con más altos índices de pobreza y menores niveles de desarrollo, iii) **Ruta del centro** y presenta movimientos migratorios interregionales, y iv) **Ruta del Sureste** que comprende los traslados migratorios de población indígena (incluyendo a los jornaleros guatemaltecos) que se desplaza de los estados de Oaxaca; Chiapas, Yucatán y Tabasco (Rojas-Rangel, 2017). Lo anterior, incrementa el riesgo de dispersión en México al interior del país. Kema (2015) detectó a Foc R4T en suelo adherido a la suela de los zapatos de personas que visitan plantaciones con presencia del patógeno. Previamente, Ploetz *et al.* (2015) y Dita *et al.* (2018) reportaron que este patógeno se podría diseminar por medio de herramienta, equipo agrícola, ropa y zapatos.

- d) Movilización por vehículos de carga y maquinaria.** Es posible que los propágulos del patógeno se dispersen por medio de tierra (lodo) adherida a la maquinaria agrícola y vehículos de transporte de la cosecha (Ploetz *et al.*, 2015; Dita *et al.*, 2018), mismos que se movilizan entre ranchos y zonas agrícolas en México.
- e) Dispersión por agua de riego y lluvia.** En la India se reportó que el patógeno se diseminó por el agua de riego del río Pearl (Molina, 2009; Dita *et al.*, 2018). El movimiento del agua superficial puede acarrear suelo y residuos de plantas hacia áreas libres por medio de canales de riego, drenaje y ríos (Ploetz *et al.*, 2015; Dita *et al.*, 2018), y se han reportado hasta 75 esporas/mL en agua de riego (Kema, 2015). En agua corriente y estancada, el patógeno, puede sobrevivir más de 4 meses (Viljoen, 2018). Por lo tanto, es posible que el patógeno se disperse por medio de los ríos presentes en México, a su vez, su posible dispersión puede ser favorecida por inundaciones o desbordamientos.

Como conclusión de este apartado, en México las prácticas agrícolas que se realizan durante el proceso de producción de plátano y banano podrían favorecer la dispersión de Foc R4T, en las que se incluyen: utilización de material propagativo no certificado, uso de herramientas y equipo de trabajo sin una desinfestación, movilización de jornales y equipo agrícola entre plantaciones o ranchos, escorrentías e inundaciones en las zonas de producción de plátano y banano. Por lo tanto, se tienen **Riesgo Medio** de dispersión de Foc R4T, después de su establecimiento y dispersión (**Cuadro 1.10**).

Evaluación de las posibles consecuencias económicas

Después de que una planta se infecta con Foc R4T se asume la pérdida total de la misma. En ese sentido, si en una plantación se presenta el patógeno, éste no puede ser controlado con la

aplicación de fungicidas, ni sus propágulos pueden ser eliminados usando fumigantes en el suelo, ni tampoco existen variedades resistentes que puedan sustituir al grupo Cavendish (Cook *et al.*, 2015). Por lo anterior, Dita *et al.* (2017) propusieron una serie de medidas para la prevención, contención y erradicación de Foc R4T.

Respecto a los daños causados por Foc R4T, en el sudeste asiático grandes superficies plantadas con variedades del subgrupo Cavendish fueron afectadas por este patógeno causando pérdidas millonarias, en las que se consideran también, los costos derivados de la implementación de las medidas de manejo y cambios tecnológicos para minimizar los impactos de la enfermedad (Dita *et al.*, 2013). Estos costos se han estimado en países como Taiwán, China, Sumatra, y Filipinas, que han sido afectados por la epidemia de Foc R4T (Molina *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013).

No existen reportes de que Foc R4T pueda infectar el fruto (Pegg, 2019; Bai, 2020), lo que sugiere que la comercialización de plátanos y bananos no se vería afectada. Sin embargo, en caso de una eventual introducción y establecimiento de este patógeno a México, los productores se verían afectados debido a que deberán implementar una serie de medidas establecidas en el Plan de Acción para la Vigilancia y Aplicación de Medidas de Control contra dicho patógeno (Senasica, 2015). Esto incrementaría los costos de producción, aunado a la implementación de medidas adicionales para la comercialización y exportación, como la limpieza y fumigación de contenedores, lo cual afectaría el ingreso de los comerciantes, productores y jornaleros. Además, se prevé un posible impacto en la biodiversidad, toda vez que se menciona que todas las variedades comerciales de plátano y banano son susceptibles, por lo que, la posible disminución de la superficie sembrada de variedades plátanos y bananos a consecuencia de este patógeno, podría propiciar su desaparición en un futuro.

En cuanto a la Legislación Fitosanitaria de México, Foc R4T no está incluido en el Módulo de consulta de requisitos fitosanitarios para la importación de mercancías de origen vegetal (Senasica, 2022). La *forma specialis* cubense se encuentra regulada en la NOM-010-FITO-1995, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del plátano (DOF, 1996), y se encuentra incluido a nivel de forma especial en la lista de plagas reglamentadas de México ante la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (IPPC, 2015). En el ámbito internacional, este patógeno se encuentra reglamentado como *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en Angola, Argentina, Barein, Burundi, Camboya, Irán, Marruecos, Mauricio, Mauritania, Qatar y Seychelles; como *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 en Francia, Nueva Caledonia, Perú, Polinesia Francesa, y Sri Lanka; como *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical en Australia, Costa Rica, Guatemala, Nicaragua y Panamá; y como *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical y raza 4 subtropical en Cuba y Sudan (IPPC, 2022b).

Nuestro país tiene 80,546.74 ha establecidas con 10 variedades susceptibles de plátano y banano en 16 estados y 212 municipios, con una producción nacional de 2,464,171.34 t, un rendimiento de 30.9 t/ha, y un valor de la producción de 9,409,264,820 pesos. Las variedades establecidas en orden de importancia son Enano Gigante con 37,039 ha, Macho con 19,552 ha, Dominico con 8,888 ha, Criollo con 5,997 ha, Valery con 2,857 ha, Tabasco 2,084, Manzano con 1,690, Pera con 1,248, Morado con 1,004 ha, y Thai con 183 ha (**Cuadro 1.9**) (SIAP, 2021). Por lo anterior, este cultivo se pondría en riesgo ante una eventual incursión de Foc R4T.

Como conclusiones de las posibles consecuencias económicas, se considera que Foc R4T es una plaga de importancia cuarentenaria en México, y no existen variedades comerciales resistentes a Foc R4T que puedan sustituir a las variedades del grupo Cavendish. Tampoco existen productos químicos que eliminen al patógeno de las plantas infectadas, y los fumigantes no pueden eliminar

los propágulos del suelo debido a que se ha detectado esporas del patógeno a profundidades a las cuales no son efectivos dichos productos. En algunos países ha causado pérdidas económicas importantes, no obstante, aun cuando este patógeno no puede ser erradicado, si puede ser manejado mediante la implementación de medidas de manejo (eliminación de plantas enfermas, fumigación del suelo, variedades tolerantes, rotación de cultivos, entre otros). Por lo anterior, el nivel de impacto económico de Foc R4T para México, es de **Riesgo Medio (Cuadro 1.10)**.

Identificación del riesgo total

Los posibles escenarios de ingreso de Foc R4T a México se enlistan a continuación, del más al menos probable.

a) Agua de lastre de embarcaciones

Algunas formas especiales de *F. oxysporum* tienen la capacidad de sobrevivir en aguas de ríos, así como aguas y suelos de litoral, y Foc R4T sobrevive por más de 12 meses en varios tipos de agua (corriente y estancada). Por lo tanto, es muy posible que este patógeno sobreviva en tejido infectado o por medio de propágulos en agua de lastre, toda vez que existe un alto flujo de embarcaciones tanto de carga como de cruceros entre México y países con presencia del patógeno. Sin embargo, al existir un convenio internacional para reducir o minimizar la dispersión de organismos por medio de agua de lastre el riesgo se reduce.

b) Suelo contaminado

El riesgo de introducción de Foc R4T por medio de **suelo contaminado es mayor** en suelo adherido a los zapatos de investigadores y personas que visitan huertas con presencia del patógeno, toda vez que se han detectado propágulos de patógeno, mediante técnicas de PCR. La posible

introducción por medio de **contenedores contaminados** con propágulos del hongo o con suelo infestado se considera bajo o mínimo; sin embargo, el alto flujo de contenedores entre México y países con presencia del patógeno, hace que el riesgo incremente ligeramente. Para el caso de la introducción por **suelo adherido a la importación de maquinaria e implementos usados**, el riesgo se considera mínimo, debido a que no se tienen registros de importaciones de maquinaria e implementos usados provenientes de países con presencia del hongo, lo anterior toda vez que en maquinaria e implementos nuevos es riesgo también es mínimo.

c) Mercancías reguladas (material vegetal)

Aun cuando en la Norma Oficial Mexicana (NOM) NOM-010-FITO-1995 (DOF, 1996) y su modificación 2009 (DOF, 2009) se encuentra regulado como *F. oxysporum* f. sp. *cubense* para evitar su posible introducción a México, en dicha NOM, no se especifican las razas de este patógeno. Por otra parte, la DGIF tiene registros de cargamentos de productos y subproductos de banano y plátano provenientes de países con presencia de Foc R4T, los cuales se pretendían importar a nuestro país; por ejemplo, material propagativo, los cuales fueron retormados o rechazados (DGIF, 2019). Por otra parte, se tienen registros de “importaciones excepcionales” de este tipo de material *in vitro* (sin certificación libre de este patógeno) provenientes de Colombia que en su momento no tenía reportes de este patógeno. Por lo anterior, el riesgo de introducción por la vía de importación, es mínimo. Sumado a lo anterior, el patógeno puede ser introducido a nuestro país por medio de material propagativo (semillas) de jitomate MoneyMaker proveniente de países en donde se ha reportado su presencia en plátano y/o banano.

d) Artesanías con tejido infectado

A la fecha, no se tienen registros de decomisos o importaciones registradas de artesanías elaboradas con tejido de plátano o banano en los puntos de ingreso de nuestro país provenientes de países con presencia del hongo. Sin embargo, a nivel internacional y nacional, existe una tendencia sobre el uso de hojas frescas de plátano (sin tratamiento fitosanitario) como empaques de alimentos, sustitutos de platos y recipientes para la alimentación humana. Por lo tanto, el riesgo de introducción se considera **Bajo**, pero latente.

En caso de que se presente alguna incursión del patógeno por cualquier vía, en México existen condiciones ambientales propicias para su establecimiento y dispersión, así como hospedantes comerciales de variedades de banano y plátano, y especies de malezas, que propiciarían su persistencia y diseminación en el país. En el **Cuadro 1.10** se presenta el resumen del riesgo total que se tiene ante una eventual incursión de Foc R4T para México, tomando en cuenta las medidas de exclusión y prevención que se están implementando para evitar o retrasar su introducción a nuestro país tanto en áreas de producción comercial como en áreas silvestres y traspatios.

Incertidumbre

El concepto de incertidumbre refiere a una expresión que manifiesta el grado de desconocimiento acerca de una condición futura, lo cual puede implicar una previsibilidad imperfecta de que un evento ocurra. Su determinación es indispensable ya que, en el proceso del análisis de riesgo de una plaga, ésta no debe ser parte de la calificación de la evaluación de riesgo, pero si puede ser empleada como un factor para decidir el nivel de riesgo aceptable y la intensidad de las medidas fitosanitarias establecidas en el Manejo de Riesgo. Todo lo anterior permite incrementar el nivel de transparencia, así como la identificación de necesidades en la investigación

y su prioridad. En este sentido, a continuación, se describe la incertidumbre y nivel (**Cuadro 1.10**) en la evaluación de riesgo de Foc R4T en México:

- **Incertidumbre de la Etapa I.** La determinación de la incertidumbre en el proceso de ARP, se considera como **Bajo**, toda vez que se contó, entre otros elementos, con información científica con la que se podía determinar la situación de la plaga en México (reportes de presencia/ausencia) por parte del PVEF, artículos científicos donde la referían como una plaga de importancia agrícola para musáceas, y bases de datos disponibles nacionales e internacionales, para la consulta del estatus reglamentario de Foc R4T en países miembros de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF).
- **Incertidumbre de la Etapa II.** La probabilidad de introducción de Foc R4T fue evaluada con base en la información proporcionada por la Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria (DGIF, 2019) sobre el ingreso y retorno de productos y subproductos vegetales, así como en la información o los registros del intercambio comercial, flujo de contenedores, embarcaciones (buques y cruceros), rutas de comercialización entre México y países con presencia del patógeno, que fueron consultadas en el Anuario Estadístico de los Puertos en México. De igual manera, se contó con información de los flujos de migrantes principalmente de Centro y Sudamérica. De lo anterior, el único aspecto que no está completamente documentado es la carga y descarga de agua de lastre. Aunado a que no se realizan importaciones de material propagativo, y las posibles importaciones son retornadas. Para realizar el análisis también se utilizó información de notas periodísticas y páginas de internet, la cual no es altamente confiable, pero sirve como referencia para los posibles escenarios de riesgo. En este sentido el nivel de incertidumbre para esta etapa del proceso se considera **Medio**. Respecto a la probabilidad de establecimiento, la información

en su mayoría fue literatura científica específica para la especie que se ha generado en otros países con presencia del patógeno; por lo cual, se considera que el nivel de incertidumbre para esta etapa del proceso es **Baja**. En cuanto al impacto económico, en la revisión de literatura se encontraron datos sobre las pérdidas económicas ocasionadas por este patógeno, así como información sobre su posible erradicación en caso de que se detecte de manera oportuna, además considerando que este patógeno no afecta directamente a la fruta y no se ha demostrado su dispersión por esta vía. Dando como resultado un nivel de incertidumbre de **Medio**.

Cuadro 1.10. Evaluación de Riesgo total determinado para Foc R4T para México de acuerdo a la NIMF no 11. Elaboración propia Departamento de Análisis de Riesgo (2021).

Probabilidades	Categoría de Riesgo	Nivel de Incertidumbre
Probabilidad de introducción de la plaga	Medio	Bajo
Probabilidad de dispersión después del establecimiento	Medio	Medio
Impacto económico	Medio	Medio
Conclusión de la Evaluación	Medio	Medio

De este modo, el presente documento cuenta con información confiable de artículos y libros científicos, pero también información no confiable o con incertidumbre de notas periodísticas, por lo que, el nivel de riesgo asociado con Foc R4T se encuentra técnicamente justificado, con base en lo establecido en la normatividad fitosanitaria internacional de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF).

1.5.3 Etapa III. Medidas de manejo del riesgo de la plaga

Como resultado de la documentación de Foc R4T, se ha determinado que este patógeno representa un riesgo **Medio** para el sector agrícola nacional, por lo que, con la finalidad de mitigar el riesgo potencial identificado, se proponen las siguientes estrategias:

- i. Agua de lastre de embarcaciones marítimas.** Se emitirían las respectivas sugerencias hacia las empresas navieras para que eviten cargar agua de lastre de los mares y litorales de países con presencia de Foc R4T, y que no la descarguen en los puertos ni litorales de México. En apego a lo establecido en el Convenio Internacional para el control y la gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques (Convenio BWM), que indica que los buques deben gestionar su propia agua de lastre para suprimir, neutralizar o evitar la toma o descarga de organismos acuáticos perjudiciales o patógenos con el agua de lastre o sedimentos (DOF, 2017). Esto significa que los buques deben de realizar a cabo el intercambio del agua de lastre en mar abierto, lejos de aguas costeras, como mínimo a 200 millas náuticas de la tierra a 200 m de profundidad, o por lo menos a 50 millas náuticas de la tierra a 50 m de profundidad (IMO, 2017). Con ello, garantizar baja sobrevivencia de organismos, y evitar la probabilidad de que los buques introduzcan especies potencialmente invasivas.
- ii. Partículas de suelo contaminado.** En este caso, las acciones se basan principalmente en la limpieza y saneamiento de mercancías y pasajeros, en el país de origen. Las medidas deberán de ser reforzadas en los puntos de ingreso, principalmente en los puertos, aeropuertos y fronteras. Por ejemplo, la colocación de tapetes sanitarios en los aeropuertos y puertos para uso de pasajeros que provienen de países con presencia de Foc R4T, así como para personal que se encuentra en embarcaciones o cargueros. En el caso de contenedores, las recomendaciones son la aspersión y/o la fumigación (arcos sanitizantes) de contenedores cuyo origen y/o procedencia de países con presencia del hongo haya sido documentada, además de la limpieza, desinfección y fumigación de maquinaria usada en origen y/o procedencia de países con presencia del patógeno. Los productos desinfectantes

que pueden ser utilizados para esta labor, y que se recomiendan en la literatura, corresponden a las sales cuaternarias de amonio. Sin embargo, para emitir una recomendación del uso de estos productos, es necesario llevar a cabo los estudios correspondientes de su efectividad biológica. También se recomienda intensificar la inspección sanitaria, mejorando la infraestructura y la capacitación en los puntos de ingreso y verificación, con la finalidad de evitar el ingreso de suelo posiblemente contaminado con propágulos de Foc R4T, principalmente cuando provengan de países con presencia del hongo. Para el caso de maquinaria usada, ésta se debe inspeccionar y verificar su limpieza y que esté libre de suelo, por parte de la Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria (DGIF).

Nguyen *et al.* (2019) señalan que hay alrededor de 20 productos comerciales de sales cuaternarias de amonio, mismas que inhibieron la germinación y desarrollo de clamidosporas de Foc R4T a una dilución de 1:100, es decir, una mezcla de 10 mL de sales cuaternarias en 990 mL de agua. Por su parte, Izquierdo-García *et al.* (2021) reportaron que la dosis de 1200 ppm de 10 productos a base de sales cuaternarias de amonio, inhibió la germinación de propágulos de Foc R4T; sin embargo, en presencia de suelo, la eficacia de los productos evaluados, se redujo hasta en 48%.

iii. Mercancías reguladas (material vegetal). La importación de material vegetal con distintos usos previstos, como los empaques naturales y los utensilios biodegradables para la alimentación humana, deben contar con un seguimiento desde su ingreso al país. Para ello es necesario reforzar la inspección fitosanitaria en puertos, aeropuertos y fronteras, con el objetivo de interceptar material vegetal infectado, evitando su transporte y movilización, y cuando proceda, llevar a cabo acciones de retorno o destrucción de aquellas mercancías

no procesadas y que por sí mismas, representan un riesgo fitosanitario para la introducción de este patógeno. Además, se debe contar con materiales de divulgación para la población en general, donde se fomente un turismo e importación de mercancías, responsables.

Así mismo, es necesario fortalecer el programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria, a fin de incrementar la vigilancia y detección oportuna de síntomas, y cuando corresponda, identificar posibles brotes de Foc R4T, en áreas de producción comercial y/o de traspatio, así como en variedades o especies silvestres de plátanos y bananos (Senasica, 2020). En el caso de hospedantes alternos, se debe iniciar la vigilancia de jitomate (variedad Money maker), del cual se tienen reportes de su asociación con Foc R4T.

iv. Artesanías con tejido infectado. Se deberá continuar implementando acciones para el decomiso de estas mercancías en los puntos de ingreso al país, y que sean originarias o procedentes de países con presencia del patógeno, especialmente en aquellas que no reciben tratamiento previo en el país de origen.

Medidas generales

A continuación, se presenta una serie de medidas generales para mitigar el riesgo de la introducción de Foc R4T, basándose en el principio de prevención.

- Fortalecer medidas de bioseguridad en puntos de entrada (puertos, aeropuertos y fronteras).
- Divulgar con la población en general, de las consecuencias al adquirir e ingresar de manera ilegal, productos o subproductos de origen vegetal que puedan dispersar Foc R4T.
- Capacitar y divulgar en todos los sectores involucrados con la producción de plátano, acciones dirigidas a la prevención, mediante el reconocimiento de síntomas y signos sospechosos de la enfermedad, particularmente de plantas hospedantes. Todos estos

esquemas de capacitación deben ser diseñados especialmente para cada sector de la cadena productiva, por lo que la participación de investigadores, técnicos de campo, gerentes, capataces y jornaleros que trabajan en fincas de plátano y banano, es muy importante.

- Fortalecer la capacitación para sectores productivos de especies hospedantes alternas, como sucede con jitomate var. MoneyMaker, o de especies ornamentales como las heliconias.
- Continuar con la realización de simulacros integrales donde participen el sector oficial, las organizaciones de productores y las instituciones de enseñanza e investigación en la implementación de Plan de Acción para la Vigilancia y Aplicación de Medidas de Control contra Foc R4T.
- Con los Organismos Regionales participar de manera activa en el fortalecimiento del 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 (Dita *et al.*, 2017), así como con Organismos Internacionales como la FAO y el IICA. En este sentido, se propone establecer un vínculo de cooperación con el instituto Colombiano Agropecuario.
- Monitoreo, detección temprana con uso de drones, análisis y procesamiento de imágenes. Actualmente, se está incorporando las herramientas de Sistemas de Información Geográfica (SIG) en combinación con imágenes tomadas con vehículos no tripulados e imágenes satelitales para apoyar en la Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria de Foc R4T (FAO, 2021), lo cual fortalecería las actividades de vigilancia en lugares de difícil acceso y en grandes extensiones de cultivo; sin embargo, estas herramientas aún en proceso de validación.

Finalmente, aunque Foc R4T tiene la categoría de ausente para México, es importante contar con una “estructura operativa” para la aplicación del eventual “**Dispositivo Nacional de Emergencia**” establecido en el artículo 46 de la Ley Federal de Sanidad Vegetal, con la finalidad de que se implementen de manera inmediata, las acciones de delimitación, contención y erradicación (supresión) en el caso de que se detecten brotes de Foc R4T en nuestro país. Esto con la participación de manera conjunta, de todos los sectores involucrados en la producción y comercialización de musáceas, identificando a los técnicos responsables en cada entidad federativa o región productora de plátano o banano, para coordinar la capacitación técnica de manera oportuna, de acuerdo con el plan de emergencia.

1.6 CONCLUSIONES

- La legislación fitosanitaria actual de México no permite la importación de productos y subproductos, incluyendo material propagativo, de especies pertenecientes a la familia de las musáceas (plátano y banano). Por lo tanto, *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* Raza 4 Tropical es una plaga de riesgo medio para México.
- Para evitar o retrasar la introducción de *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* Raza 4 Tropical a México, se deberá considerar el fortalecimiento de las medidas de exclusión, prevención, y bioseguridad.
- Todas las vías evaluadas para la posible introducción de Foc R4T a nuestro país (agua de lastre de embarcaciones, partículas de suelo contaminado, mercancías reguladas, artesanías con tejido infectado), son de Riesgo Medio.

CAPÍTULO II. EFECTO *in vitro* DE SALES CUATERNARIAS Y FUNGICIDAS SISTÉMICOS CONTRA *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”¹

2.1 RESUMEN

Existen tres razas (1, 2 y 4) de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) que afectan a bananos y plátanos cuyos cultivares comerciales son altamente susceptibles a la Raza 4 Tropical (R4T); en contraste, se tienen variedades resistentes del grupo Cavendish para las Razas 1 y 2. Lo anterior hace indispensable generar estrategias combinadas de manejo, basadas en el uso de desinfectantes como medidas de bioseguridad en los puntos de ingreso a nuestro país (puertos, aeropuertos y fronteras), así como el uso de fungicidas para contar con alternativas de control y manejo para las razas 1 y 2, que pudieran ser útiles ante una eventual llegada de Foc R4T. Este estudio evaluó el efecto *in vitro* de seis dosis de sales cuaternarias de amonio y cuatro dosis de seis fungicidas sistémicos en el desarrollo micelial de cinco cepas de Foc, aisladas de muestras de plantas de banano recolectadas en Puebla, Michoacán y Oaxaca. La dosis más alta (1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de sales cuaternarias de amonio inhibió el crecimiento micelial en 100% de los cinco aislamientos a los 5 días de evaluación, y presentó 98.5% de inhibición para los 5 aislamientos a los 8 días de evaluación. El fungicida Tebuconazole en dosis de 50, 100 y 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, inhibió al 100% el crecimiento micelial, mientras que Carbendazim y Benomyl lo inhibieron en 99.8% y 99.7% respectivamente. Los resultados indican que la dosis de 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de sales cuaternarias de amonio más la dosis de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ del fungicida sistémico Tebuconazol y dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de los fungicidas sistémicos Carbendazim y Benomyl, podrían ser consideradas como alternativa potencial para prevenir, o bien, para el control de Foc R4T ante su llegada a México, así como para implementar medidas de manejo de la Raza “1 o 2” de Foc, presentes en nuestro país.

Palabras clave: Bioseguridad, Prevención, Sanitizantes, Control químico, Fusariosis en musáceas.

¹ Parte de esta tesis ha sido publicada en European Journal of Plant Pathology 63: 719-731 (2022) <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02510-0>

CHAPTER II. EFFECTS OF QUATERNARY SALTS AND SYSTEMIC FUNGICIDES AGAINST *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race 1 or 2, UNDER *in vitro* CONDITIONS²

2.2 ABSTRACT

There are three races (1, 2 and 4) of *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) that affect bananas and plantains whose commercial cultivars are highly susceptible to the Race 4 Tropical (Foc R4T). In contrast, there are resistant varieties belonging to the Cavendish group to Races 1 and 2. The foregoing information makes necessary to generate combined management strategies, as the utilization of disinfectants for implementing biosecurity measures at points of entry into our country (ports, airports and borderlines) as fungicides utilization as alternative for controlling and managing races 1 and 2 of the pathogen, which may be also useful for the eventual incursion of Foc TR4. This study evaluated the *in vitro* effects of six doses of quaternary ammonium salts and four doses of six systemic fungicides on the mycelial development of five Foc strains isolated from plant samples collected in Puebla, Michoacan and Oaxaca. The highest dose (1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) of active ingredient of quaternary ammonium salts inhibited 100% the mycelial growth of the five isolates, at 5 days of evaluation, and presented 98.5% of inhibition at 8 evaluation days. The fungicide Tebuconazole at doses 50, 100 and 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of active ingredient resulted in 100% inhibition of mycelial growth, while Carbendazim and Benomyl showed 99.8% y 99.7%, of inhibition, respectively. Results indicate that the doses greater than 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of quaternary salts more Tebuconazole at doses of 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and Carbendazim and Benomyl at doses greater than 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of may be considered as potential alternatives for preventing or for being applied as part of control programs against the possible arrival of Foc TR4 in Mexico as measures for managing Foc Race “1 o 2” presents in Mexico.

Key words: biosecurity, prevention, sanitizers, chemical control, musaceae fusarium.

² Part of this dissertation was published at the European Journal of Plant Pathology 63: 719-731 (2022) <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02510-0>

2.3 INTRODUCCIÓN

Se han identificado cuatro razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en plantas diferenciales en condiciones de campo (Moore *et al.*, 1993). La raza 1 ataca *Musa textilis* (abacá), bananos de los clones Gros Michel (AAA), Maqueño (AAB), Silk (AAB), Pome (AAB), Pisang Awak (ABB) y I.C.2 (AAAA); la raza 2 ataca bananos de clones de Bluggoe (ABB) y otros híbridos de genoma AAAA; la raza 3 afecta a las heliconias (*Heliconia* spp.); mientras que la Raza 4 Tropical es patógena a cultivares de Cavendish (AAA), como Dwarf Cavendish, Grand Nain y Williams y a los cultivares susceptibles a las razas 1 y 2 (Dita *et al.*, 2013). Aunque existen variedades con niveles moderados de tolerancia a Foc R4T, no existen variedades disponibles con resistencia agronómicamente aceptable (Cook *et al.*, 2015).

Dita *et al.* (2018) propusieron una serie de medidas para prevenir o evitar epidemias de Foc R4T, tales como: exclusión, material propagativo certificado, monitoreo o detección de plantas enfermas, erradicación de plantas infectadas, contención del patógeno, variedades tolerantes, suelos supresivos, rotación de cultivos, cultivos de cobertura, abonos orgánicos, control biológico, biofertilizantes y manejo integrado de cultivos. Respecto al uso de desinfectantes, Nel *et al.* (2006) reportaron que una dosis de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de una mezcla de sales de amonio cuaternario y polímeros clorhidrato de biquanidina resultó en una inhibición completa del crecimiento micelial de Foc, mientras que la aplicación de Farmcleanse (un producto comercial) a la misma dosis no produjo inhibición fúngica total. Además, Meldrum *et al.* (2013) informó que las concentraciones de Farmcleanse inferiores al 2.0 %, no inhibieron la germinación de microconidios Foc. Por su parte, Izquierdo-García *et al.* (2021) reportaron que la dosis de 1200 ppm de 10 productos a base de sales cuaternarias de amonio, inhibió la germinación de propágulos de Foc R4T; sin embargo, en presencia de suelo, la eficacia de los productos evaluados, se redujo hasta en 48%. Por su parte,

Nguyen *et al.* (2019) evaluaron 20 productos comerciales de sales cuaternarias de amonio a diferentes tiempos de exposición (desde 8 min hasta 24 h), pero solamente en la dilución 1/100, se logró la inhibición total de la germinación *in vitro* de clamidosporas de 4 aislamientos de Foc R4T y 4 aislamientos Foc R1, cabe señalar que la concentración de ingrediente activo de los productos va de 5.4% a 60%. Mientras que Izquierdo-García *et al.* (2021) reportaron que la dosis de 1200 ppm de 10 productos a base de sales cuaternarias de amonio en dos tiempos de exposición (<1 y 15 minutos) en ausencia de suelo inhibieron completamente la germinación de microconidios, macroconidios y clamidosporas de Foc R4T; desafortunadamente, en presencia de suelo, la eficiencia de los productos fue de 52% a 100%. En el caso del uso de sales cuaternarias de amonio para la desinfestación de herramientas de trabajo. En el caso de la Raza 2, se determinó que se requiere la aplicación de más de 2500 ppm para eliminar el patógeno; mientras que, para la eliminación total de los propagulos de la Raza 4 Tropical se requieren de 2500 ppm, se logró (Pérez-Vicente y Martínez de la Parte, 2015). En cuanto al uso de fungicidas, Soma *et al.* (2008) reportaron que Carbendazim a dosis de 100 y 200 ppm inhibió el 100% del crecimiento micelial *in vitro* de *F. oxysporum*, mientras que la dosis de 50 ppm inhibió de 57% pero no especificaron la *forma specialis*, ni la raza fisiológica. Por su parte Somu *et al.* (2014), reportaron que Carbendazim, Carboxin, Propiconazole y Benomyl a dosis de 500, 1000 y 2000 ppm inhibieron el 100% del crecimiento micelial *in vitro* de *F. oxysporum* f. sp *cubense*; mientras que Difenconazol a dosis de 2000 ppm, 1000 ppm y 500 ppm inhibió 100%, 85.9% y 81.6% el desarrollo micelial del hongo, respectivamente; en el caso de Azoxystrobin a dosis de 2000 ppm, 1000 ppm y 500 ppm inhibió 73.5%, 48.7%, 41.4% el desarrollo micelial del hongo, respectivamente pero no se especificó la raza fisiológica del patógeno. Por su parte, Niwas *et al.* (2020) reportaron que los fungicidas Carbendazim, Azoxystrobin y Propiconazol a dosis de 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm y

100 ppm no inhibieron completamente el desarrollo micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (tampoco se especificó la raza fisiológica), en promedio los fungicidas Carbendazim, Azoxystrobin y Propiconazol inhibieron 82.3%, 83.3% y 72.4% respectivamente para las cuatro dosis. Además, Solpot y Cumagun (2019) informaron que los fungicidas Dibromo-3-nitropropionamida a dosis de 30, 20 y 10 ml L⁻¹ y Tebuconazol+Trifloxistrobina a las mismas dosis inhibieron completamente el desarrollo micelial *in vitro* de Foc R4T, así mismo, Dibromo-3-nitropropionamida a dosis de 10 ml L⁻¹ y Tebuconazol+Trifloxistrobina a dosis de 1 g L⁻¹ inhibieron completamente la infección y severidad de Foc R4T en condiciones de campo. Por su parte, Kavino y Manoranjitham (2018) reportaron que la aplicación de Carbendazim 2% a plántulas de banano micropropagadas redujo 53.3% la incidencia de reducida Foc Raza1.

Por lo anterior, es necesario conocer la efectividad de productos desinfectantes o sanitizantes disponibles en México con los aislamientos de Foc R4T, con la finalidad de establecer medidas de prevención en los puntos de entrada al país, así como la efectividad de fungicidas para establecer medidas de manejo en campo ante una posible incursión de Foc R4T o para el manejo de las razas de Foc presentes en México. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto *in vitro* de sales cuaternarias de amonio y fungicidas sistémicos, en el desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”, como modelo de hongo fitopatógeno, dada su presencia en México, con la finalidad de proponer la implementación de medidas preventivas de bioseguridad en puntos de entrada a nuestro país para evitar la introducción de Foc R4T a México y esquemas de control químico en plantaciones comerciales.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Se evaluaron cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, donados por el Laboratorio de Micología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Tres de estos aislamientos provenían de Hueytamalco, Puebla (MIC17188, MIC17189, y MIC17190), uno de Tacámbaro, Michoacán (MIC17191) y el último obtenido de Villa de Tututepec de Melchor Ocampo, Oaxaca (MIC17192), a partir de muestras de plantas colectadas por el Programa Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria, que en su momento fueron consideradas para detectar la posible presencia de Foc R4T en México (**Cuadro 2.1**).

Cuadro 2.1. Origen de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* depositadas en la colección del Laboratorio de Micología, del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-SENASICA).

Aislamientos *	Municipio / Estado	Latitud	Longitud	No. de accesión del Genebank
CNRF-MIC17188	Hueytamalco, Puebla	20.00857	-97.24197	MN702818
CNRF-MIC17189	Hueytamalco, Puebla	20.00882	-97.2419	MN702819
CNRF-MIC17190	Hueytamalco, Puebla	20.00928	-97.24209	MN702820
CNRF-MIC17191	Tacámbaro, Michoacán	19.21827	-101.45857	MN702821
CNRF-MIC17192	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo, Oaxaca	16.04554	-97.70423	---

***Nota:** se utilizarán los últimos ocho caracteres para referenciar los aislamientos.

2.4.2 Caracterización molecular de los aislamientos

Se caracterizaron molecularmente los aislamientos del patógeno con la finalidad de verificar y corroborar la identificación previa realizada por el CNRF. Muestras de cada uno de los aislamientos fueron utilizadas para la extracción de DNA, mediante el método de Ceniz (1992). El micelio se transfirió a tubos Ependorff con perlas de cerámica (MagNA Lyser Green Beads

03358941001, Roche®), a los que se adicionaron 500 µL de Buffer 1X TE y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 min. Posteriormente, los tubos se centrifugaron por 5 min a 13000 rpm, se desechó el sobrenadante con una micropipeta. Se agregaron 300 µL de buffer de extracción; el micelio se maceró con un disruptor de tejidos (Minibeadbeater-96 Cat. No. 1001, Biospect Products) durante 10 min hasta lograr su pulverización, y se adicionaron 150 µL de acetato de sodio 3 M pH 5.2. Después, los tubos se mezclaron suavemente por inversión en dos a tres ocasiones y se mantuvieron a -20 °C durante 10 min. Los tubos se centrifugaron durante 10 min a 12000 rpm, se transfirieron 250 µL del sobrenadante a tubos nuevos estériles de 1.5 mL. Se agregaron 250 µL de isopropanol a -20 °C y se mezcló por inversión en dos a tres ocasiones para incubar a temperatura ambiente durante 10 min; los tubos se centrifugaron durante 10 min a 12000 rpm. El isopropanol se decantó y se añadieron 500 µL de etanol al 70%, se centrifugó durante 2 min a 12000 rpm, se repitió el lavado con etanol al 70%. Los tubos se secaron sobre papel secante durante 2 h a temperatura ambiente y se agregaron 50 µL de agua de grado biología molecular para resuspender el DNA para ser almacenados a -20 °C.

Para la reacción en cadena de la polimerasa, se utilizaron los iniciadores que amplifican un fragmento del gen factor de elongación 1 alfa (EF-1 α) de 750 pb, EF-1 (5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3') y EF-2 (5'-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3') [O'Donnell *et al.*, 1998]. Se utilizó la mezcla de reacción de Buffer 1X, MgCl₂ 1.5 mM, dNTP's 0.2 mM, iniciador EF-1 0.5 µM, iniciador EF-2 0.5 µM, 2.5 unidades de Taq Polimerasa, y 40 ng de DNA molde. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 min, seguida de 35 ciclos (desnaturalización a 95 °C durante 45 s, alineamiento a 50 °C durante 45 s, y extensión a 72 °C durante 1 min) y una extensión final a 72 °C por 5 min.

Los productos de PCR (amplicón de 750 pb) se purificaron con la enzima Exosap-It™ PCR Product Cleanup Reagent (excepto MIC17192 de Oaxaca, debido a la mala calidad del DNA del amplicón), con la finalidad de eliminar los residuos de los iniciadores y nucleótidos. Se utilizó un secuenciador de cuatro capilares, ABI 3130 (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific). Las secuencias obtenidas fueron editadas con los programas BioEdit 7.0.9.0 (Hall, 1999) y ChromasPro 2.1 (Technelysium Pty Ltd, South Brisbane, Queensland, Australia). Las secuencias consenso obtenidas se compararon con secuencias homólogas en la base de datos GenBank (National Center for Biotechnology Information) utilizando la herramienta de secuenciación de alineación local básica para consultas de secuencias de nucleótidos (BLASTN) para corroborar el diagnóstico del fitopatógeno, comparando la identidad y cobertura de las secuencias de los aislamientos obtenidas de este estudio con secuencias de referencia y representativas de diferentes grupos de compatibilidad vegetativa y linajes Foc reportados por Fourie *et al.* (2009). Se realizó una alineación múltiple utilizando el algoritmo ClustalW implementado en el software MEGA 7.0.26 (Kumar *et al.*, 2018). La matriz obtenida se utilizó para realizar un análisis filogenético basado en el modelo de evolución de nucleótidos de máxima verosimilitud con un bootstrap de 1000 repeticiones.

2.4.3 Sensibilidad de aislamientos de Foc a sales cuaternarias de amonio en sistema *in vitro*

Primer bioensayo. Se utilizó un procedimiento similar al descrito para la evaluación de los fungicidas comerciales. Al medio de cultivo utilizado (PDA) se agregaron 31.25, 62.5, 93.75, 125, 187.5, 250, 312.5, 375 μg de i.a. mL^{-1} , de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación (Anibac 500, 12.5% de i.a.).

Se transfirieron discos de 7 mm de diámetro de medio de cultivo PDA con micelio activo de los cinco aislamientos de Foc, por separado, al centro de las cajas de Petri con los medios de cultivo con las ocho dosis de sales cuaternarias y en cajas de Petri con PDA sin sales cuaternarias de amonio (Testigo); para cada tratamiento se establecieron cinco repeticiones. Las cajas de Petri se incubaron en oscuridad a 28 ± 2 °C, y se midió en cuatro diferentes direcciones, el radio de crecimiento micelial de cada hongo, a 1, 4, 5, 6, 7 y 8 días. La inhibición (%) del crecimiento fúngico (sensibilidad) se determinó mediante el protocolo de Zhang *et al.* (2012), con base en el radio de crecimiento registrado de la última evaluación del testigo o control.

Segundo bioensayo. Para este bioensayo, se evaluaron las concentraciones 125, 250, 500, 750, 1000, 1250 μg de i.a. mL^{-1} de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación (Anibac 500, 12.5% de i.a.) utilizando el mismo procedimiento del primer bioensayo.

2.4.4 Sensibilidad de los aislamientos de Foc a fungicidas comerciales en sistema *in vitro*

Se utilizaron formulaciones comerciales de seis fungicidas sistémicos de cuatro grupos toxicológicos, 1) Methyl-benzimidazole-carbamates (Benomilo y Proxycar), 2) Triazoles (Opus y Folicur), 3) Metoxycarbamate (Headline), y 4) Azanaphthalenes (Quintec) [**Cuadro 2.2**].

Cuadro 2.2. Ingredientes activos, grupos toxicológicos y modo de acción de los seis fungicidas sistémicos evaluados en el presente estudio (Jeschke *et al.*, 2019).

Nombre comercial	Ingrediente activo (%)	Grupo químico	Modo de acción
Benomilo	Benomyl 50%	Carbamatos	Citoesqueleto y proteínas motoras /ensamblaje de β -tubulina en la mitosis
Proxycar	Carbendazim 50%		
Headline	Pyraclostrobin 23.6%	Metoxicarbamato	Respiración/Complejo III: citocromo <i>bc1</i> (ubiquinol oxidasa) en el sitio Qo
Opus	Epoxyconazol 125%	Triazoles	Biosíntesis de esteroles en membranas/C14-desmetilasa en biosíntesis de esteroles
Folicur	Tebuconazol 25%		
Quintec	Quinoxyfen 25.5%	Azanaftalenos	Transducción de señales

Para esta prueba se utilizó el procedimiento de Gao *et al.* (2017). En matraces de 1 L de capacidad con medio de cultivo PDA a 40-45 °C después de su esterilización se agregaron 10, 50, 100 y 500 µg de ingrediente activo (i.a.) por mL de cada fungicida por separado. Los matraces se colocaron en una plancha de agitación magnética para hacer la mezcla homogénea; posteriormente, los medios de cultivo se vertieron en cajas Petri de 10 cm de diámetro y 2 cm de alto.

Una vez solidificado el medio de cultivo, se transfirieron discos de 7 mm de diámetro de medio de cultivo PDA con micelio activo de cultivos monospóricos de los cinco aislamientos de Foc al centro de las cajas Petri con los medios de cultivo con las cuatro dosis de los seis fungicidas, incluyendo un Testigo; para cada tratamiento se establecieron cinco repeticiones. Las cajas Petri fueron incubadas en oscuridad a 28 ± 2 °C. A 1, 4, 6 y 8 días posteriores al inicio del experimento, se midió el radio de crecimiento de cada aislamiento fúngico, en cuatro diferentes direcciones. El porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico (sensibilidad) se determinó mediante el protocolo reportado por Zhang *et al.* (2012) con base en el radio de crecimiento registrado de la última evaluación del testigo.

2.4.5 Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para cada bioensayo, y para evitar un posible efecto cruzado por la evaporación de los diferentes tipos de fungicidas. Los datos obtenidos de los tres bioensayos, se analizaron mediante un análisis de varianza, y prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$), con el paquete estadístico SAS para Windows (SAS Institute Inc. 2002).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Análisis filogenético

Para la caracterización molecular y el análisis filogenético de los aislamientos del hongo se utilizaron los iniciadores que amplifican un fragmento del gen factor de elongación 1 alfa (EF-1 α) diseñados por O'Donnell *et al.* (1998), los cuales amplifican un gen endógeno y dichos iniciadores forman parte del protocolo de diagnóstico para Foc R4T (Dita *et al.*, 2010; Senasica, 2018; García-Bastidas *et al.*, 2020b). El análisis BLAST de las secuencias consenso obtenidas en este trabajo (MIC17188, MIC17189, MIC17190 y MIC17191) permitió confirmar la identidad como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* con una cobertura del 100%, y agrupados dentro de la Raza “1 o 2” (**Figura 2.1**). El árbol filogenético se construyó con las secuencias consenso; las secuencias con número de acceso KX365413.1, KX365409.1 y KX365402.1 depositadas en GenBank, fueron seleccionadas por su alto nivel de identidad y las secuencias utilizadas por Fourie *et al.* (2009). Los clados permitieron identificar a nivel de especie que el hongo corresponde a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, confirmando así los resultados obtenidos por morfología.

Las secuencias de nucleótidos de cuatro cepas de hongos (MIC17188, MIC17189, MIC17190 y MIC17191) se alinearon con una cobertura e identidad del 100% con *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* CAV 2879, CAV 2762 y CAV 2614, con los números de acceso KX365413.1, KX365409.1 y KX365402.1, respectivamente (Karangwa *et al.*, 2018). Las secuencias fúngicas se agruparon dentro del linaje VI de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y en los grupos de Raza “1 o 2” (Fourie *et al.*, 2009; Karangwa *et al.*, 2018). Las secuencias en las que se obtuvo el mayor porcentaje de identidad, correspondieron a linajes Foc de muestras recolectadas de las regiones de África Oriental y Central (Karangwa *et al.*, 2018; Ndayihanzamaso *et al.*, 2020). Lo anterior,

confirmó la ausencia de *F. oxysporum* f. sp. *cupense* Raza 4 Tropical en México, toda vez que los aislamientos analizados en este estudio provenían de muestras tomadas en campo por el Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria para la detección oportuna de Foc R4T.

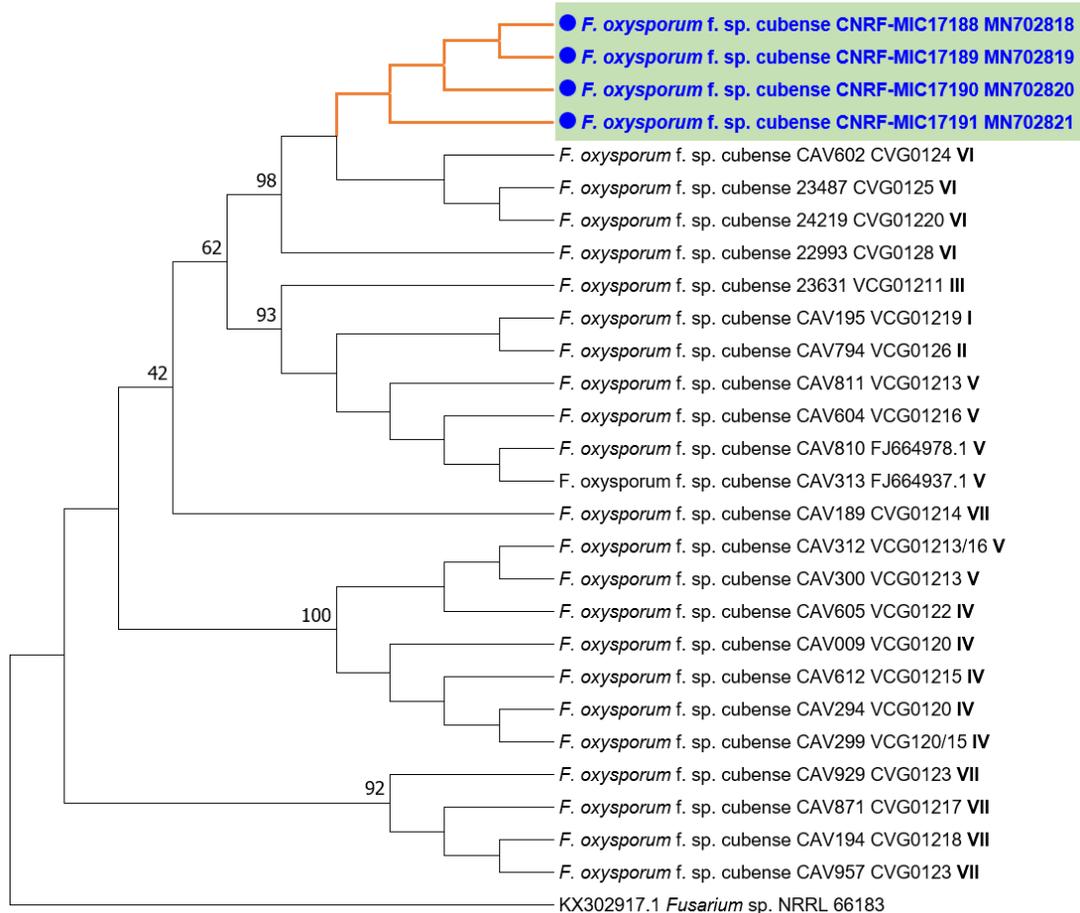


Figura 2.1. Análisis filogenético de 4 aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* (MIC17188, MIC17189, MIC17190, and MIC17191) aislados de Puebla y Michoacán, México.

2.5.2 Sensibilidad de aislamientos de Foc Raza “1 o 2” a sales cuaternarias de amonio *in vitro*

Primer bioensayo. Las dosis evaluadas de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación, correspondientes a 31.25, 62.5, 93.75, 125, 187.5, 250, 312.5, 375 μg de i.a. mL^{-1} , redujeron en diferente grado el crecimiento micelial de los cinco aislamientos de Foc raza 1 o 2 (**Figura 2.2**). Ninguna dosis tuvo un efecto inhibitorio total; la dosis más baja (31.25 μg de i.a. mL^{-1}) redujo el

crecimiento micelial en 47.5% en promedio, para los 5 aislamientos; mientras que la dosis más alta (375 μg de i.a. mL^{-1}) tuvo una inhibición del crecimiento micelial de 91.9% (**Cuadro 2.3;**

Figura 2.3).

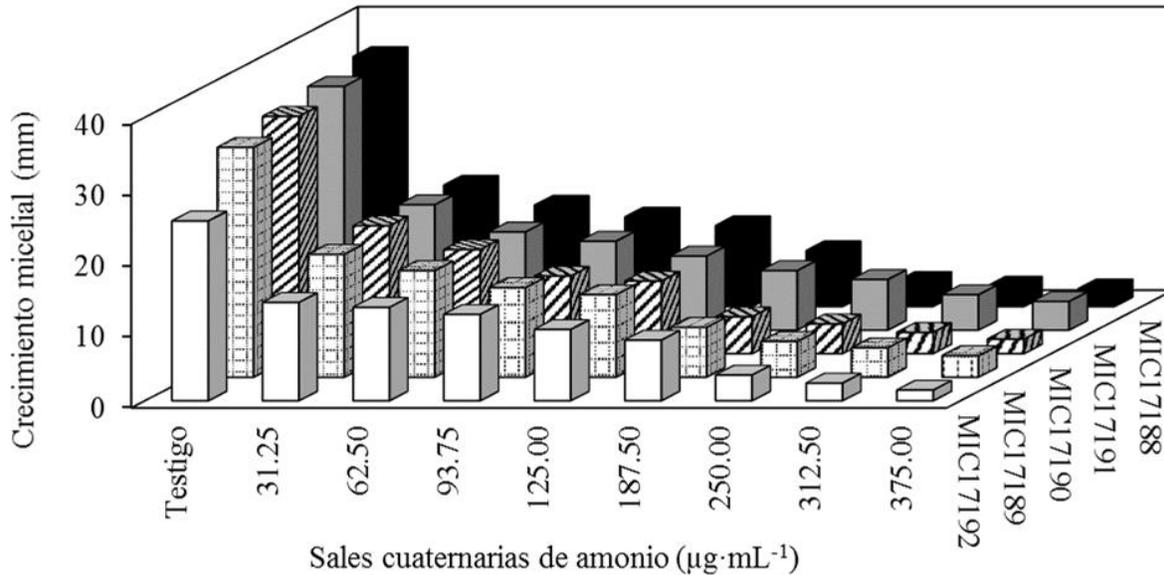


Figura 2.2. Crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (MIC17188, MIC17189, MIC17190, MIC17191 y MIC17192) en medio de cultivo PDA con sales cuaternarias de amonio de cuarta generación (31.25, 62.5, 93.75, 125, 187.5, 250, 312.5, 375 μg mL^{-1}), después de 8 días de evaluación.

Cuadro 2.3. Inhibición del crecimiento micelial de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza “1 o 2”) a sales cuaternarias de amonio.

Sales cuaternarias de amonio (μg mL^{-1})			
Primer bioensayo		Segundo bioensayo	
Dosis (μg mL^{-1})	Inhibición* (%)	Dosis (μg mL^{-1})	Inhibición* (%)
375	91.9 a	1250	98.5 a
312.5	89.2 b	1000	97.7 a
250	85.2 c	750	95.3 b
187.5	76.7 d	500	92.0 c
125	66.0 e	250	77.7 d
93.75	61.7 f	125	59.4 e
62.5	56.1 g		
31.25	47.5 h		

* Estimado a partir de datos de crecimiento fúngico obtenido del tratamiento control del bioensayo correspondiente. Letras idénticas en sus respectivas columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$), $n = 5$.



Figura 2.3. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en PDA enriquecido con 8 dosis de sales cuaternarias de amonio ($\mu\text{g mL}^{-1}$), después de 8 días de evaluación.

Segundo biensayo. Las dosis evaluadas de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación, redujeron el crecimiento micelial de los cinco aislamientos de Foc raza “1 o 2” (**Figuras 2.4**). El mayor efecto inhibitorio se observó con la dosis de 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ con 100% de inhibición para todos los aislamientos desde el inicio hasta los 5 días de crecimiento (**Figura 2.5**) y de 98.5% en promedio para todas las cepas a los 8 días de crecimiento; sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas con la aplicación de 984 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (**Cuadro 2.3; Figuras 2.5 y 2.6**).

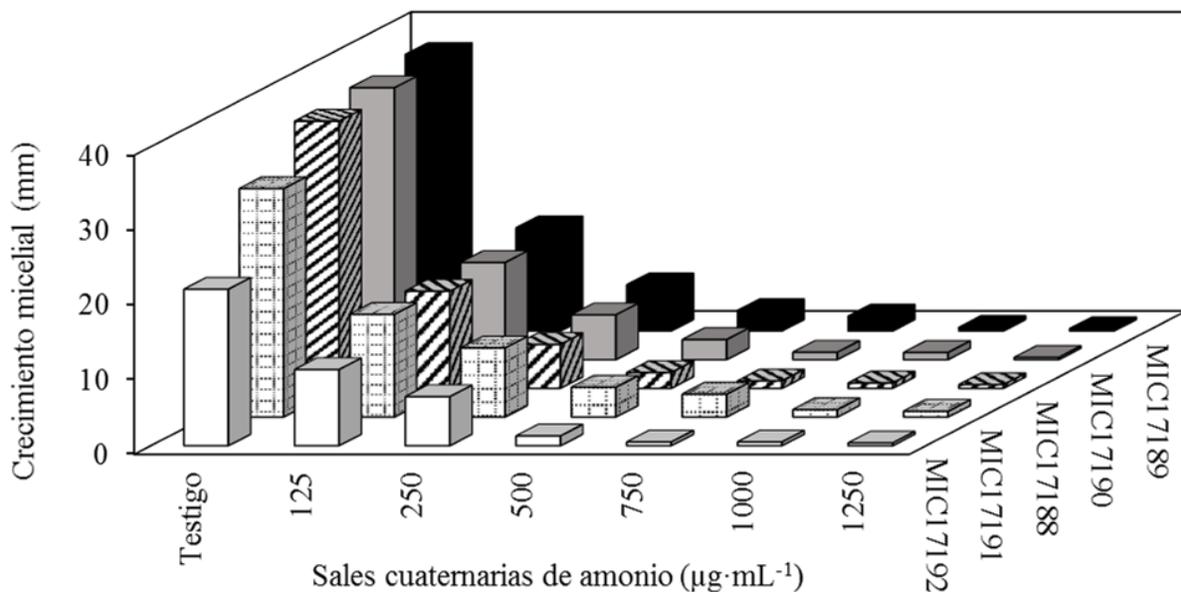


Figura 2.4. Crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en medio de cultivo PDA enriquecido con sales cuaternarias de amonio de cuarta generación (125, 250, 500, 750, 1000 y 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), después de 8 días.

Todas las dosis evaluadas de la sal cuaternaria de amonio de cuarta generación (Anibac 500) redujeron el crecimiento micelial de los cinco aislamientos de Foc; sin embargo, no se logró el 100% de inhibición en ninguna dosis evaluada y el mayor efecto inhibitorio se observó al aplicar 1000 o 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. La dosis 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ corresponde a una dilución 1:100; es decir, 10 mL del producto comercial de sales cuaternarias en 990 mL de agua. Esta dosis se recomienda para la desinfección de herramientas, equipos, vehículos y maquinaria para el control de FocR1, y de Foc R4T en Australia (Nguyen *et al.*, 2019). No obstante, esta dilución de 1:100 no inhibe

completamente a los cinco aislamientos de Foc evaluados en esta investigación. Esto se podría atribuir a la concentración del ingrediente activo del producto comercial disponible en México (Anibac 500; 12.5% i.a.). En Australia, los 20 productos comerciales de sales cuaternarias de amonio disponibles, contienen un rango amplio de ingrediente activo, del 5.4% (BC-Benzalkonium chloride) al 60% (ABDAC-alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride), y pueden contener, uno o más ingredientes activos (Nguyen *et al.* 2019). Cabe señalar que los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a los reportados por Izquierdo-García *et al.* (2021) quienes reportaron que la dosis de 1200 ppm de 10 productos a base de sales cuaternarias de amonio inhibieron completamente la germinación de microconidios, macroconidios y clamidosporas de Foc R4T.

Por su parte, Nel *et al.* (2007) reportaron que la dosis de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de la mezcla de sal cuaternaria de amonio y Polymeric biquanidine hydrochloride inhibió por completo el crecimiento micelial de Foc, mientras que el producto Farmcleanse (amonio cuaternario) a la misma dosis, no produjo la inhibición total del hongo. Meldrum *et al.* (2013) reportaron que concentraciones menores de Farmcleanse (2.0%) no inhibieron completamente la germinación de microconidios de Foc. Lo anterior, denota que la eficiencia de las sales cuaternarias de amonio podría depender tanto del ingrediente activo como de la concentración utilizada.

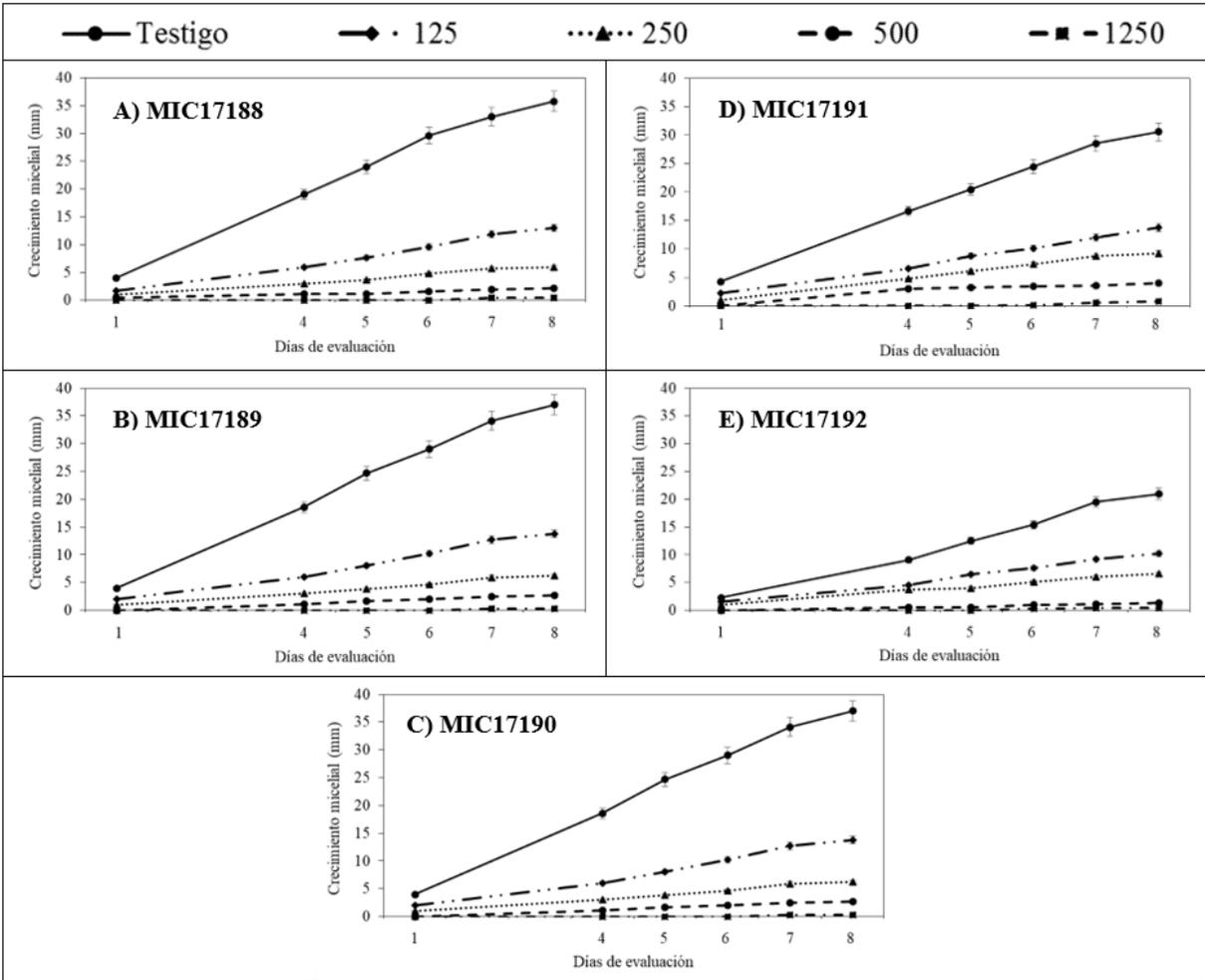


Figura 2.5. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (A-E) en medio de cultivo PDA enriquecido con cuatro dosis (125, 250, 500 y 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación, a 1, 5, 6, 7 y 8 días de evaluación. N=5.

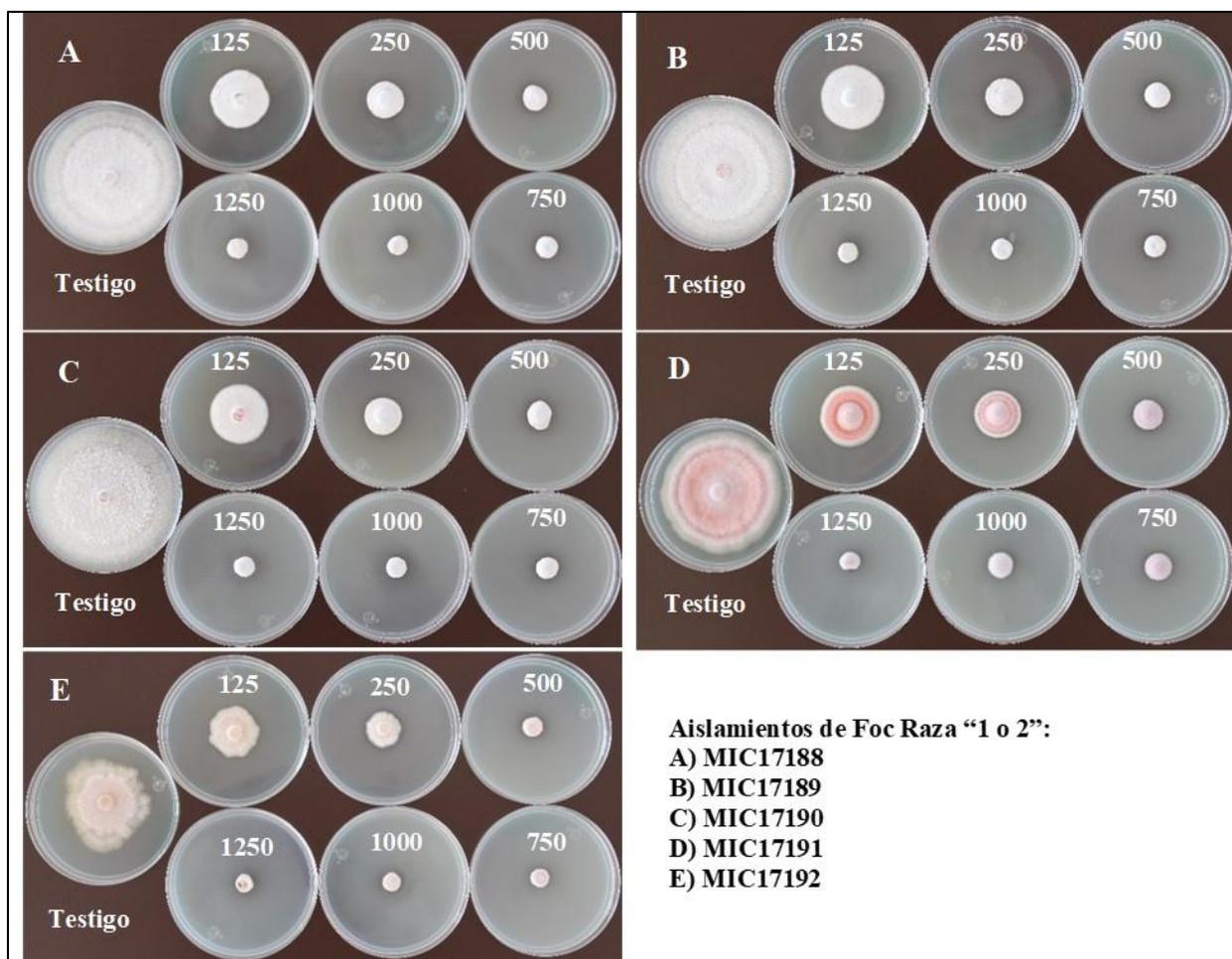


Figura 2.6. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en PDA enriquecido con 8 dosis de sales cuaternarias de amonio ($\mu\text{g mL}^{-1}$), después de 8 días de evaluación.

2.5.3 Sensibilidad *in vitro* de aislamientos de Foc raza "1 o 2" a fungicidas comerciales

La aplicación de Quinoxifen en dosis de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, no tuvo efectos inhibitorios significativos en el crecimiento micelial de los cinco aislamientos de Foc raza "1 o 2", a los 8 días de evaluación (21.2%). Los fungicidas Pyraclostrobina (96.3%), Epoxyconazol (98.6%), Benomyl (99.7%) y Carbendazim (99.8%) redujeron significativamente el desarrollo micelial de los cinco aislamientos del patógeno (**Figura 2.7**). Las dosis de 50, 100 y $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Tebuconazol inhibieron completamente a los cinco aislamientos evaluados, con excepción de la dosis $10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

1.

Por otra parte, las cuatro dosis evaluadas de Benomyl, inhibieron completamente el desarrollo micelial de los aislamientos de MIC17188 y MIC17190; en tanto que la dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ sólo logró inhibir completamente el desarrollo del aislamiento MIC17191. Por su parte, solo la dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Carbendazim inhibió el 100% los aislamientos MIC17188, MIC17190 y MIC17192 (Cuadro 2.4).

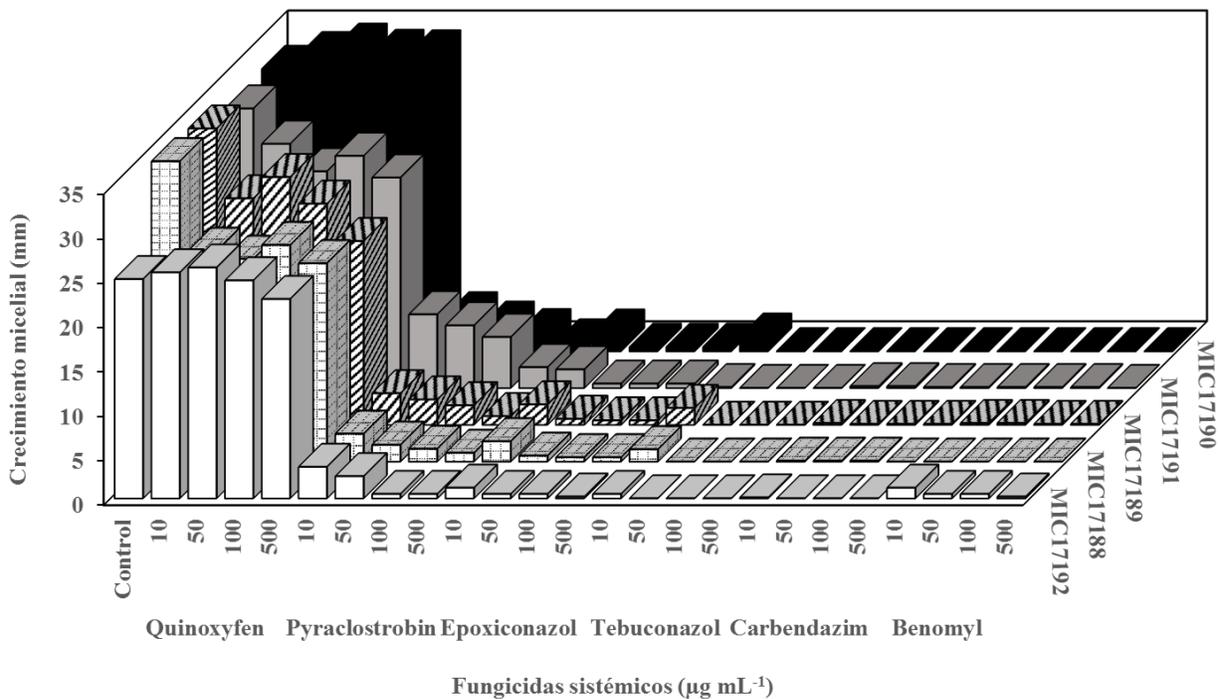


Figura 2.7. Crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza “1 o 2” (MIC17188, MIC17189, MIC17190, MIC17191 y MIC17192) en medio PDA enriquecido con 10, 50, 100 y 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de seis fungicidas comerciales (Quinoxifen, Pyraclostrobin, Epoxiconazol, Tebuconazol, Carbendazim y Benomyl), después de 8 días.

Cuadro 2.4. Inhibición del crecimiento micelial de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”) a dosis de 500 µg mL⁻¹ de seis fungicidas comerciales.

Fungicida (500 µg mL ⁻¹)	Inhibición* (%)
Tebuconazol	100.0 a
Carbendazim	99.8 a
Benomyl	99.7 a
Epoxiconazol	98.6 ab
Piraclostrobina	96.3 b
Quinoxifen	21.2 c

* Estimado a partir de datos de crecimiento fúngico obtenido del tratamiento control del bioensayo correspondiente. Letras idénticas en sus respectivas columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$), n = 5.

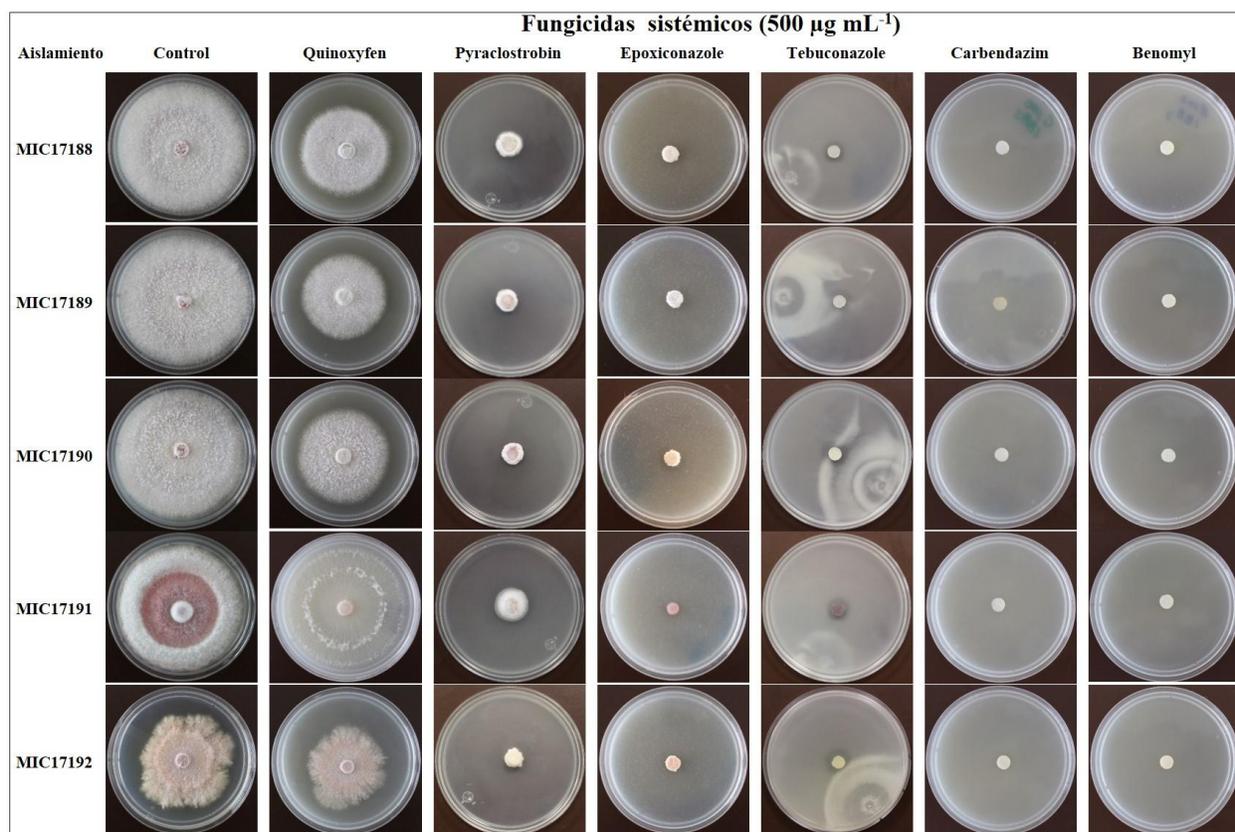


Figura 2.8. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza “1 o 2” (MIC17188, MIC17189, MIC17190, MIC17191 y MIC17192) en medio PDA enriquecido con 500 µg mL⁻¹ de seis fungicidas comerciales (Quinoxifen, Piraclostrobin, Epoxiconazol, Tebuconazol, Carbendazim y Benomyl), después de 8 días de evaluación.

Con respecto a las pruebas de sensibilidad de las cepas de Foc hacia fungicidas, cabe mencionar que todos los productos comerciales evaluados son sistémicos. Sin embargo, pertenecen a diferentes grupos toxicológicos con diferentes modos de acción, lo cual, pudo influir en el efecto en el desarrollo micelial *in vitro* de los cinco aislamientos del patógeno. Los fungicidas Tebuconazol, Benomyl y Carbendazim, fueron los más sobresalientes, cuyas dosis de 500 μg , en promedio, inhibieron 100%, 99.8% y 99.7%, respectivamente (**Figura 2.8**), el crecimiento micelial de los cinco aislamientos. Cabe resaltar que solamente el Tebuconazol, aplicado en dosis de 50 y 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, también inhibió al 100% el crecimiento micelial de los cinco aislamientos de Foc. En el caso de Carbendazim, nuestros resultados concuerdan parcialmente con los obtenidos por Soma *et al.* (2008) quienes reportaron que Carbendazim inhibió 100% a *F. oxysporum* (sin especificar la *forma specialis*, ni la raza fisiológica) en las dosis de 100 y 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, mientras que la dosis de la dosis de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ inhibió el 57%. También Somu *et al.* (2014) al aplicar dosis altas de Carbendazim (500, 1000 y 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) lograron inhibir el 100% el desarrollo micelial de Foc (también sin especificar la raza fisiológica), a los siete días de evaluación. Mientras que Niwas *et al.* (2020) reportaron que el mismo fungicida a dosis de 100, 250, 500 y 750 $\mu\text{g mL}^{-1}$ inhibió 64%, 75%, 94% y 94%, respectivamente. La variación en la inhibición del crecimiento micelial a dosis similares de 100 y 500 sugiere que la forma especial y/o la raza fisiológica influyen en los resultados y en nuestro caso el origen de los aislamientos asociado a una posible resistencia a fungicidas. Por su parte, Gnanasekaran *et al.* (2015) indicaron que el Carbendazim inhibió parcialmente el desarrollo del *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, pero no especificaron las dosis utilizadas, ni el porcentaje de inhibición correspondiente. La presente investigación sugiere que la eficiencia de la aplicación de los fungicidas sistémicos para inhibir el crecimiento micelial de Foc R1 o R2, pudo haber dependido del aislamiento fúngico, ya que algunos fungicidas mostraron un

efecto variable en la inhibición del desarrollo de los aislamientos del patógeno, observándose mayor variación en el fungicida Quinoxifen (**Cuadro 2.5**). Lo anterior concuerda con Nel *et al.* (2007) quienes para lograr una inhibición del 100% del desarrollo micelial de Foc CAV 031 se requirió aplicar 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ del ingrediente activo de Benomilo, mientras que para inhibir a Foc CAV 086, se necesitaron 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de este ingrediente activo.

Cuadro 2.5. Inhibición del crecimiento micelial de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”) a cuatro dosis de seis fungicidas comerciales.

Fungicida	Dosis	Aislamiento				
		MIC17188	MIC17189	MIC17190	MIC17191	MIC17192
Tebuconazol	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	95.86	94.31	94.76	99.69	97.98
Benomyl	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	99.70	100.00	100.00	99.19
	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	99.70	100.00	99.69	97.98
	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	99.40	100.00	99.69	97.98
	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	99.40	100.00	99.69	95.14
Carbendazim	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100.00	99.70	100.00	99.69	100.00
	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	99.70	99.70	100.00	99.69	100.00
	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	99.70	99.70	100.00	99.37	100.00
	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	99.70	99.40	100.00	99.37	99.60
Epoiconazol	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	98.52	98.50	98.41	98.43	99.19
	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	98.52	98.50	98.41	98.43	97.98
	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	98.00	97.98	98.41	98.43	97.98
	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	93.20	93.11	93.33	93.40	95.14
Piraclostrobin	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	97.04	97.08	96.82	92.61	97.98
	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	95.71	93.41	93.17	81.92	97.98
	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	94.38	91.46	90.47	77.83	89.88
	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	90.69	89.36	87.13	73.90	85.63
Quinoxifen	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	33.93	37.97	24.71	-5.50	9.11
	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	27.87	25.38	16.93	-5.66	0.61
	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	32.46	16.39	22.49	-7.86	-5.26
	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	29.80	23.58	12.64	-4.87	-3.04

Tebuconazol y Epoiconazol pertenecen al grupo de los Triazoles bloquean la biosíntesis del ergosterol por la inhibición de la enzima Esterol 14 desmetilasa (Jeschke *et al.*, 2019; Cendoya *et*

al., 2021); de los cuales, solo Tebuconazol en dosis de 50, 100 y 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ inhibió el 100% el desarrollo de los cinco aislamientos del hongo, mientras que Epiconazol en ninguna dosis evaluada inhibió completamente a los cinco aislamientos del hongo. Por otra parte, los fungicidas Benomyl y Carbendazim que pertenecen al grupo toxicológico de los carbamatos inhiben la mitosis de muchos hongos fitopatógenos al unirse a la β -tubulina e inhibir la biosíntesis de la tubulina, la β -tubulina es de las principales componentes de los microtúbulos, los cuales son importantes para muchas actividades intracelulares, incluyendo la división celular, transporte de material y morfología celular (Zhu *et al.*, 2018; Jeschke *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2019); sin embargo, ninguno de estos dos fungicidas inhibieron completamente el desarrollo del hongo, cabe señalar que Tebuconazol, Carbendazim y Benomyl fueron los fungicidas más efectivos para inhibir del desarrollo micelial de los cinco aislamientos del patógeno y no presentaron diferencias estadísticas significativas.

Por otro lado, el fungicida Pyraclostrobin interfiere con el proceso de respiración de los hongos, el cual, que pertenece al grupo de los carbamatos y al subgrupo de los Metoxicarbamatos y forma parte del grupo de las Estrobirulinas (Jeschke *et al.*, 2019), dicho fungicida no inhibió completamente el desarrollo micelial de los cinco aislamientos del patógeno en ninguna de las dosis evaluadas.

Mientras que el fungicida Quinoxifen interfiere con la transducción de señales (Jeschke *et al.*, 2019), fue el fungicida que presentó el menor efecto en el crecimiento micelial de los cinco aislamientos del hongo de todos los fungicidas evaluados en el presente estudio.

Respecto a la viabilidad de la aplicación de los fungicidas que presentaron mayor inhibición del crecimiento micelial de los cinco aislamientos del patógeno. Al respecto, Amini y Sidovich (2010)

reportaron que la aplicación de dosis de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Benomyl y Carbendazim de manera preventiva (1 día antes) y curativa (7 días después) redujo totalmente la incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plántulas de *Solanum lycopersicum*, sin embargo, a dosis menores, el mayor efecto se obtuvo cuando se aplicó de manera preventiva. En el mismo sentido, Pérez-Hernández *et al.* (2017) reportaron la aplicación de fungicidas a la base del tallo de calabacita Cucchinni (*Cucurbita pepo*) en donde observaron que la aplicación de $750 \mu\text{g mL}^{-1}$ redujo completamente la incidencia y severidad de *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*. Con base en lo anterior, se propone la aplicación de dosis de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Tebuconazol, o de dosis mayores a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Carbendazim y Benomyl de manera preventiva, es decir, sumergiendo los cormos o plántulas de plátano y banano en los fungicidas antes mencionados y posteriormente realizar la aplicación de los fungicidas a la base del pseudotallo una vez que el cultivo este establecido.

Por lo tanto, el uso de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Tebuconazol, o de dosis mayores a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Carbendazim y Benomyl, o el uso de $1250 \mu\text{g mL}^{-1}$ de sales cuaternarias de amonio (Anibac 500), pueden ser utilizados en un esquema de control de Foc R1 o R2, y como parte de medidas fitosanitarias para el control ante una posible incursión de Foc R4T a México, aunque es recomendable preceder a la evaluación de su eficacia en dicha raza fúngica.

2.6 CONCLUSIONES

- La dosis de $1250 \mu\text{g mL}^{-1}$ de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación (Anibac 500) fue efectivo para inhibir el 100% el desarrollo micelial de 5 aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” a los 5 días de evaluación en condiciones *in vitro*, la cual, disminuyó a 98.5 % a los 8 días de evaluación.

- Las dosis de 50, 100 y 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Tebuconazol inhibieron el 100% el desarrollo micelial de 5 aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” a los 8 días de evaluación en condiciones *in vitro*.
- La dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Carbendazim y Benomyl inhibieron el 99.8 y 99.7%, respectivamente, el desarrollo micelial de 5 aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” a los 8 días de evaluación en condiciones *in vitro*.

CAPÍTULO III. INHIBICIÓN *in vitro* DE BACTERIAS ANTAGONISTAS EN *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* Raza “1 o 2”³

3.1 RESUMEN

Existen cuatro razas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cupense* (Foc), que afectan a bananos y plátanos, cuyos cultivares comerciales son altamente susceptibles a la Raza 4 Tropical (R4T), y no existen fungicidas efectivos para su control. Lo anterior hace necesario generar estrategias basadas en el control biológico de las razas de Foc, y que coadyuven ante la llegada de Foc R4T a México. Este estudio evaluó la inhibición *in vitro* de 10 bacterias hacia cepas de Foc Raza “1 o 2” aisladas de muestras vegetales de Puebla, Michoacán y Oaxaca. En el primer bioensayo se evaluaron siete bacterias antagonistas (*Bacillus pumilus* A1, *B. pumilus* BFIES 4C, *B. pumilus* R44, *Paenibacillus* sp. BSP 1.1, *Pseudomonas tolaasii* P61, *Serratia liquefaciens* CPA C53, *Serratia* sp. AC 35). *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) presentó una inhibición promedio de 44.7%, y *Serratia* sp. (AC35) tuvo una inhibición de 27.3%, después de 14 días de confrontación. El segundo bioensayo evaluó tres bacterias antagonistas (*Bacillus subtilis* BASU, *B. sonorensis* BASO, *B. velezensis* BAZE); *Bacillus subtilis* (BASU) tuvo mayor inhibición (55.1%), seguido de *B. velezensis* (BAVE) con 45.8%, en promedio, después de 14 días. El tercer bioensayo evaluó la inhibición de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC35) en tres tiempos de preinoculación (2, 4 y 7 días). *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) presentó mayor inhibición (80.1%) hacia la cepa MIC17188, al preinocular la bacteria siete días antes del hongo, y después de siete días de confrontación; la doble inoculación de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC35) produjo 75.5% de inhibición, en promedio. Por otra parte, *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) en suelo estéril, redujo la viabilidad de conidios de las cepas MIC17192 (61%), MIC17191 (56%), MIC17189 (47%) y MIC17188 (2%), a los 42 días. A los 49 días, la inhibición de la viabilidad de esporas, disminuyó en todos los aislamientos fúngicos, y se presentaron valores negativos en los aislamientos MIC17188 (-18%) y MIC17191 (-31%).

Palabras clave: Medidas de manejo, control biológico, fusariosis de las musáceas.

³ Parte de esta tesis ha sido publicada en European Journal of Plant Pathology 63: 719-731 (2022) <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02510-0>

CHAPTER III. *In vitro* INHIBITION OF BACTERIAL ANTAGONISM ON *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race "1 or 2"⁴

3.2 ABSTRACT

There are four races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), three of them (1, 2 and 4) affect bananas and plantains whose commercial cultivars are highly susceptible to Tropical Race 4 (TR4), currently there are no effective fungicides for the control of this pathogen that protect the plant in field. The foregoing makes it essential to generate environmentally friendly strategies, based on the use of biological microorganisms for the control of Foc races, which can contribute to the control of a possible introduction and establishment of Foc TR4 in Mexico. In the present study was evaluated the *in vitro* inhibition of 10 bacteria against mycelial development of Foc Raza "1 or 2" isolates from plant samples from Puebla, Michoacán and Oaxaca, Mexico. The first bioassay evaluated seven antagonistic bacteria (*Bacillus pumilus* A1, *B. pumilus* BFIES 4C, *B. pumilus* R44, *Paenibacillus* sp. BSP 1.1, *Pseudomonas tolaasii* P61, *Serratia liquefaciens* CPA C53, *Serratia* sp. AC 35). *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) presented an average inhibition of 44.7%, while in *Serratia* sp. (AC35) inhibition was 27.3%, towards the five fungal isolates (MIC17188-92), after 14 days of confrontation. The second study evaluated three antagonistic bacteria (*Bacillus subtilis* BASU, *B. sonorensis* BASO, *B. velezensis* BAZE), where, *Bacillus subtilis* (BASU) had greater inhibition (55.1%), followed by *Bacillus velezensis* (BAVE) with 45.8% inhibition on average, towards three fungal isolates (MIC17188, MIC17191 MIC17192), after of 14 days. A third bioassay evaluated the *in vitro* inhibitory effect of *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC35) in three preinoculation times in 2, 4 and 7 days, where the bacterium *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) presented the highest 80.1% inhibitory effect towards the MIC17188 isolate, when the bacteria were pre-inoculated seven days before the fungus, after seven days of confrontation, in comparison with the *Paenibacillus* sp bacteria. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC35) had 75.5% inhibition, on average. On the other hand, the addition of *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) in sterile soil reduced the viability of conids of isolates MIC17192 (61%), MIC17191 (56%), MIC17189 (47%) and MIC17188 (2%) at 42 days of evaluation: however, the percentage of inhibition of the spore viability decreased for all fungal isolates, negative values were even presented for isolates MIC17188 (-18%) and MIC17191 (-31%) at 49 days of evaluation.

Key words: Management measures, biological control, musaceae fusariosis.

⁴ Part of this dissertation was published at the European Journal of Plant Pathology 63: 719–731 (2022) <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02510-0>

3.3 INTRODUCCIÓN

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* Raza 1 (Foc R1) se detectó en México en 1932 (Ploetz, 2018). Durante la década de 1960 y principios de los 1970 fueron devastadas cerca de 40 mil hectáreas del cultivar Gros Michel en todo el país; en 1994, existían alrededor de 4,000 hectáreas de plátano manzano en México, para 2004, la superficie se redujo a 1,260, debido a la presencia de Foc R1 (Orozco-Santos, 2013), esto conllevó a que la variedad Gros Michel fuera remplazada por otros cultivares resistentes del grupo Cavendish (Dita *et al.*, 2017 y 2018).

Foc R4T se reportó por primera vez en Taiwán en 1989 (Ploetz, 2018), de donde se dispersó a varios países del sureste asiático, causando serias y devastadoras epidemias (Orozco-Santos, 2013). En 2018, la distribución de este fitopatógeno comprendía Australia, China, Filipinas, India, Indonesia, Israel, Jordania, Laos, Líbano, Malasia, Mozambique, Birmania, Omán, Paquistán, Taiwán, Turquía, y Vietnam (Ploetz, 2018; Özarıslan y Akgül, 2020). En agosto de 2019, se reportó la presencia de Foc R4T en La Guajira, Colombia, en plantaciones de bananos Cavendish, lo que se considera como el primer reporte oficial para América (ICA, 2019; García-Bastidas *et al.*, 2020a). En el mismo año también se detectó en Tailandia (IPPC, 2019a), Islas Mayotte en 2020 (EPPO, 2020), y en Perú se detectó en 2021 (SENASA, 2021).

Debido a que no existen variedades resistentes y/o productos químicos efectivos para controlar a Foc R4T (Cook *et al.*, 2015), se han propuesto esquemas de control biológico basados en el uso de bacterias y hongos antagonistas contra Foc (Bubici *et al.*, 2019). Por lo que, se ha documentado el efecto positivo de algunas especies de bacterias endófitas al ser inoculadas en vitroplantas como menor incidencia y síntomas en plantas infectadas por la Fusariosis del banano, lo anterior, indica que podrían ser una opción viable para incorporarse en acciones de control. En Taiwán, la bacteria

endofítica *Burkholderia cenocepacia* 869T2 redujo en 86.2% la incidencia y desarrollo de Foc R4T. De igual forma, *Pseudomonas fluorescens* cepa WCS 417 inoculada en plátano cv. Chinese (Cavendish) redujo en 87.4% la incidencia de la enfermedad. También *P. fluorescens* inoculada en *M. balbisina* suprimió a las cepas de Foc R4T y de Foc R1; además, promovió el desarrollo radical y altura de la planta. Para su aplicación en campo, se desarrollaron formulaciones en polvo y cápsulas de gelatina de *P. fluorescens* Pf-1 para inhibir el desarrollo de Foc (Sivamani y Gnamanickam, 1988; Rujappan *et al.*, 2002; Nel *et al.*, 2006; Ho *et al.*, 2015).

También se ha documentado el uso de enmiendas orgánicas, como la adición de estiércol de cerdo previamente composteado y mezclado con *Bacillus amyloliquefaciens* al sustrato de siembra, en condiciones de invernadero, con lo cual se redujo en 75% la incidencia de la enfermedad (Shen *et al.*, 2015). La aplicación de fertilizante bio-orgánico + compostas, a base de estiércol de cerdo (2:3) mezclado con la cepa W19 de *B. amyloliquefaciens*, promovió el crecimiento de *Musa* AAA (Cavendish cv. Brasil), con esto se inhibió la actividad patogénica del hongo en condiciones de invernadero; mientras que, en condiciones de campo, el desarrollo del patógeno se inhibió entre 42.8 y 44.4%, y el rendimiento se incrementó entre 25.7 y 34.5%, respectivamente (Wang *et al.*, 2016). También, *B. amyloliquefaciens* NJN-6 combinada con composta, disminuyó la incidencia de Foc R4T en 68.5% (Xue *et al.*, 2015). Un efecto similar se obtuvo con la aplicación de composta de cerdo mezclado con la cepa de *B. subtilis* N11, donde se presentó una incidencia de la enfermedad de 16.7% en comparación con el 90-93.3% obtenido en el testigo. El uso de composta a base de abono de cerdo mezclado con *Paenibacillus polymyxa* SQR21 y *Trichoderma harzianum* T37, redujo a 33.3% la incidencia de Foc R4T (Zhang *et al.*, 2011).

Por lo anterior, la presente investigación evaluó el efecto *in vitro* de bacterias antagonistas en el desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* Raza “1 o 2”. Lo anterior, con la finalidad de proponer un esquema de manejo fitosanitario ante el riesgo de introducción de Foc R4T al país.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* Raza “1 o 2”

Se evaluó el efecto de 10 bacterias antagonistas en cinco aislamientos de Foc Raza “1 o 2”, donados por el Laboratorio de Micología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF). Tres de los aislamientos del hongo provenían de Hueytamalco, Puebla (MIC17188, MIC17189, MIC17190), uno de Tacámbaro, Michoacán (MIC17191) y un aislamiento se obtuvo de Villa de Tututepec de Melchor Ocampo, Oaxaca (MIC17192) [**Cuadro 3.1**], a partir de muestras de plantas colectadas por el Programa Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (PVEF).

Cuadro 3.1. Origen de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* Raza “1 o 2”, depositadas en la colección del Laboratorio de Micología, del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-Senasica).

Aislamientos *	Municipio / Estado	Latitud	Longitud	No. de accesión
CNRF-MIC17188	Hueytamalco, Puebla	20.00857	-97.24197	MN702818
CNRF-MIC17189	Hueytamalco, Puebla	20.00882	-97.2419	MN702819
CNRF-MIC17190	Hueytamalco, Puebla	20.00928	-97.24209	MN702820
CNRF-MIC17191	Tacámbaro, Michoacán	19.21827	-101.45857	MN702821
CNRF-MIC17192	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo, Oaxaca	16.04554	-97.70423	

*Nota: se utilizarán los últimos ocho caracteres para referenciar los aislamientos.

3.4.2. Pruebas de inhibición de bacterias antagonistas *in vitro* hacia los aislamientos de Foc

Bioensayo 1. Se evaluó, *in vitro*, el efecto inhibitorio de siete bacterias: *Bacillus pumilus* (A1), *B. pumilus* (BFIES 4C), *B. pumilus* (R44), *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1); *Pseudomonas tolaasii* (P61), *Serratia liquefaciens* (CPA C53) y *Serratia* sp. (AC 35) [Cuadro 3.2] contra el crecimiento micelial de cinco aislamientos Foc Raza “1 o 2” (Cuadro 3.1). Las cepas de bacterias fueron proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología (Colegio de Postgraduados) y reactivadas en agar nutritivo (Merk®). Se utilizó el procedimiento reportado por Pineda-Mendoza *et al.* (2019). Para evaluar el efecto antagónico, se establecieron ocho tratamientos (siete cepas de bacterias más el testigo) con cuatro repeticiones cada uno. En los extremos de las cajas Petri con medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar, Merck®), correspondientes a cada tratamiento (bacteria y testigo), se colocó una asada (línea de 5 cm) de los siete aislamientos bacterianos, de siete días de crecimiento. Las cajas Petri fueron incubadas en oscuridad a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 24 h; posteriormente, se transfirieron discos de 7 mm de diámetro con medio de cultivo con micelio activo de cinco aislamientos de Foc Raza “1 o 2”. Los discos fueron removidos de los márgenes de los cultivos fúngicos de siete días de crecimiento, y se colocaron en el lado opuesto de cada caja Petri, a 5 cm de distancia del crecimiento bacteriano. Las cajas Petri se incubaron nuevamente en oscuridad a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, y el radio de crecimiento micelial de cada aislamiento se midió en cuatro diferentes direcciones, a los 3, 7, 10 y 14 días después de la siembra. El porcentaje de inhibición fue calculado con la siguiente ecuación (Landa *et al.* 1997):

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = \frac{R - r}{R} \times 100$$

Dónde, *r* es el radio de crecimiento del hongo en presencia de la bacteria y *R* es el radio de crecimiento del hongo sin la bacteria (testigo).

Bioensayo 2. Se evaluó, *in vitro*, el efecto inhibitorio de tres cepas de bacterias: *B. subtilis* (BASU), *B. sonorensis* (BASO), *B. velezensis* (BAZE) [Cuadro 3.2] contra el crecimiento micelial de tres aislamientos Foc Raza “1 o 2” (MIC17188, MIC17191 y MIC17192), para lo cual, se establecieron cuatro repeticiones por cada tratamiento (bacterias más el testigo). Las cepas bacterianas fueron proporcionadas por el Laboratorio de Bacterias (CNRF). Se utilizó el procedimiento de siembra del inóculo descrito para el Bioensayo 1.

Cuadro 3.2. Origen de las cepas de bacterias antagonistas evaluadas

Bacteria	Código o clave asignada	Origen de las bacterias
<i>Bacillus pumilus</i>	A1	
<i>Bacillus pumilus</i>	BFIES 4C	
<i>Bacillus pumilus</i>	R44	Laboratorio de Microbiología, Postgrado de Edafología, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
<i>Paenibacillus</i> sp.	BSP 1.1	
<i>Pseudomonas tolaasii</i>	P61	
<i>Serratia liquefaciens</i>	CPA C53	
<i>Serratia</i> sp.	AC 35	
<i>Bacillus subtilis</i>	BASU	Laboratorio de bacterias, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Senasica.
<i>Bacillus sonorensis</i>	BASO	
<i>Bacillus velezensis</i>	BAZE	

Bioensayo 3. Se evaluó, *in vitro*, el efecto inhibitorio de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC 35) [Cuadro 3.2] contra el aislamiento MIC17188 de Foc Raza “1 o 2” (Cuadro 3.1), en tres diferentes tiempos de pre-inoculación (protección) de las bacterias (2, 4 y 7 días). Se utilizó el mismo procedimiento de inoculación descrito para los bioensayos 1 y 2; se evaluaron tres tiempos de preinoculación de las bacterias. Además, se colocó una asada de 5 cm de las bacterias en los extremos opuestos de las cajas Petri y se colocó un disco de 7 mm del hongo en el centro de la caja Petri, de tal manera que las bacterias quedaron separadas a 3 cm del hongo. Se establecieron cuatro repeticiones por cada tratamiento, y las cajas Petri se incubaron nuevamente en oscuridad a 28 ±

2°C. El radio de crecimiento micelial del aislamiento MIC17188 de Foc Raza “1 o 2” se midió en cuatro diferentes direcciones, a los 2, 4, 6 y 7 días.

Prueba de viabilidad de conidios de cinco aislamientos de Foc Raza “1 o 2”, adicionados a suelo estéril inoculado con la cepa bacteriana *Paenibacillus* sp. BSP 1.1. Para la obtención de inóculo del aislamiento MIC17188 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” se siguió el procedimiento similar al descrito por Caballero-Hernández (2011). Se propagaron los 5 aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” en cajas Petri con medio de cultivo PDA, las cuales se incubaron a 28°C. Se colectaron conidios (macroconidios y microconidios) de los cinco aislamientos fúngicos, de una semana de edad, y se agregaron 10 mL de agua destilada estéril a cada caja Petri, hasta cubrir el cultivo. Posteriormente, se removieron las esporas (microconidios y macroconidios) con una espátula de plástico, éstas se colectaron en un vaso de precipitado estéril y se contaron utilizando un hematocitómetro de Neubauer, bajo observación al microscopio.

Para la obtención de inóculo de *Paenibacillus* BSP 1.1 se siguió el siguiente procedimiento. La cepa se propagó en cajas Petri con medio de cultivo PDA incubadas a 28°C. Después de siete días de crecimiento bacteriano, y con el apoyo de un portaobjetos estéril se removieron las células bacterianas, y se transfirieron a un tubo Eppendorf con agua destilada; las células bacterianas se contaron bajo microscopio, utilizando una cámara de Neubauer o hematocitómetro.

En una balanza digital se pesaron 18 g de suelo estéril, se depositó en un tubo de plástico Falcón estéril de 50 mL de capacidad, se adicionó la suspensión con células bacterianas para ajustar una concentración final de 1×10^6 UFC. Posteriormente, se adicionaron las suspensiones de propágulos

del aislamiento MIC17188 de Foc Raza “1 o 2” a cada tubo por triplicado, para ajustar una concentración final de 1×10^6 UFC y se conservaron a 28 °C, por 49 días.

Tratamientos

- Suelo estéril + aislamiento MIC17188 de Foc Raza “1 o 2”.
- Suelo estéril + aislamiento MIC17188 de Foc Raza “1 o 2” + *Paenibacillus* sp.
- Suelo estéril + *Paenibacillus* sp.

Se pesó un gramo de suelo de cada uno de los tratamientos, y se adicionó en un tubo Falcon con 9 mL de agua destilada estéril, y se prepararon las diluciones 1×10^{-1} y 1×10^{-2} . A partir de la dilución 1×10^{-2} , se tomó una alícuota de 100 μ L, y se colocó en el centro de una caja Petri con medio de cultivo PDA, con ayuda una varilla de vidrio se dispersó sobre toda la superficie del medio de cultivo. Las cajas se incubaron a 28°C, y posteriormente, se procedió al conteo de las UFC en las cajas Petri, a los 2 y 3 días después de la siembra.

3.4.3 Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para los bioensayos descritos, y que se realizaron por separado, para evitar un posible efecto cruzado por la evaporación de los fungicidas y de posibles compuestos volátiles producidos por las bacterias antagonistas. Los datos obtenidos de la inhibición *in vitro* fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS para Windows (SAS Institute Inc. 2002), realizando un análisis de varianza, y la prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$).

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 Pruebas de inhibición del crecimiento micelial del patógeno

Bioensayo 1. Los resultados obtenidos indicaron que, a los 14 días de confrontación, las cepas bacterianas con mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para los 5 aislamientos de Foc Raza “1 o 2”, fueron *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) con 44.7%, y *Serratia* sp. (AC 35) con 27.3%, seguido de las bacterias *Pseudomonas tolaasii* (P61) y *B. pumilus* (BFIES 4C), las cuales presentaron una inhibición de 20.5% y 19.3%, respectivamente, sin mostrar diferencias significativas. Mientras que *B. pumilus* (A1), *B. pumilus* (R44) y *S. liquefaciens* (CPA C53) presentaron una inhibición de 14.3%, 13.0%, 10.1%, respectivamente, sin observarse diferencias significativas entre sí. Las bacterias presentaron un efecto variable para cada aislamiento de Foc Raza “1 o 2”, e incluso se obtuvieron valores negativos de inhibición para algunos aislamientos de Foc Raza “1 o 2” (**Cuadro 3.3, Figuras 3.1, 3.2 y 3.3**).

Cuadro 3.3. Inhibiciones fúngicas comparativas (promedio de las cinco cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Raza “1 o 2”) obtenidas de dos bioensayos de confrontaciones fúngicas con siete y tres bacterias antagonistas, después de 14 días de evaluación.

Bioensayo 1	Inhibición fúngica* (%)	Bioensayo 2	Inhibición fúngica* (%)
BSP 1.1	44.7 a	BASU	55.1 a
AC 35	27.3 b	BAVE	45.8 b
R 44	20.5 bc	BASO	21.7 c
BFIEST 4C	19.3 bc		
A1	14.3 c		
P61	13.0 c		
CPA C53	10.1 c		

* Valores estimados a partir de los datos de crecimiento fúngico del testigo para el bioensayo correspondiente. Las letras idénticas en sus respectivas columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$), n=4.

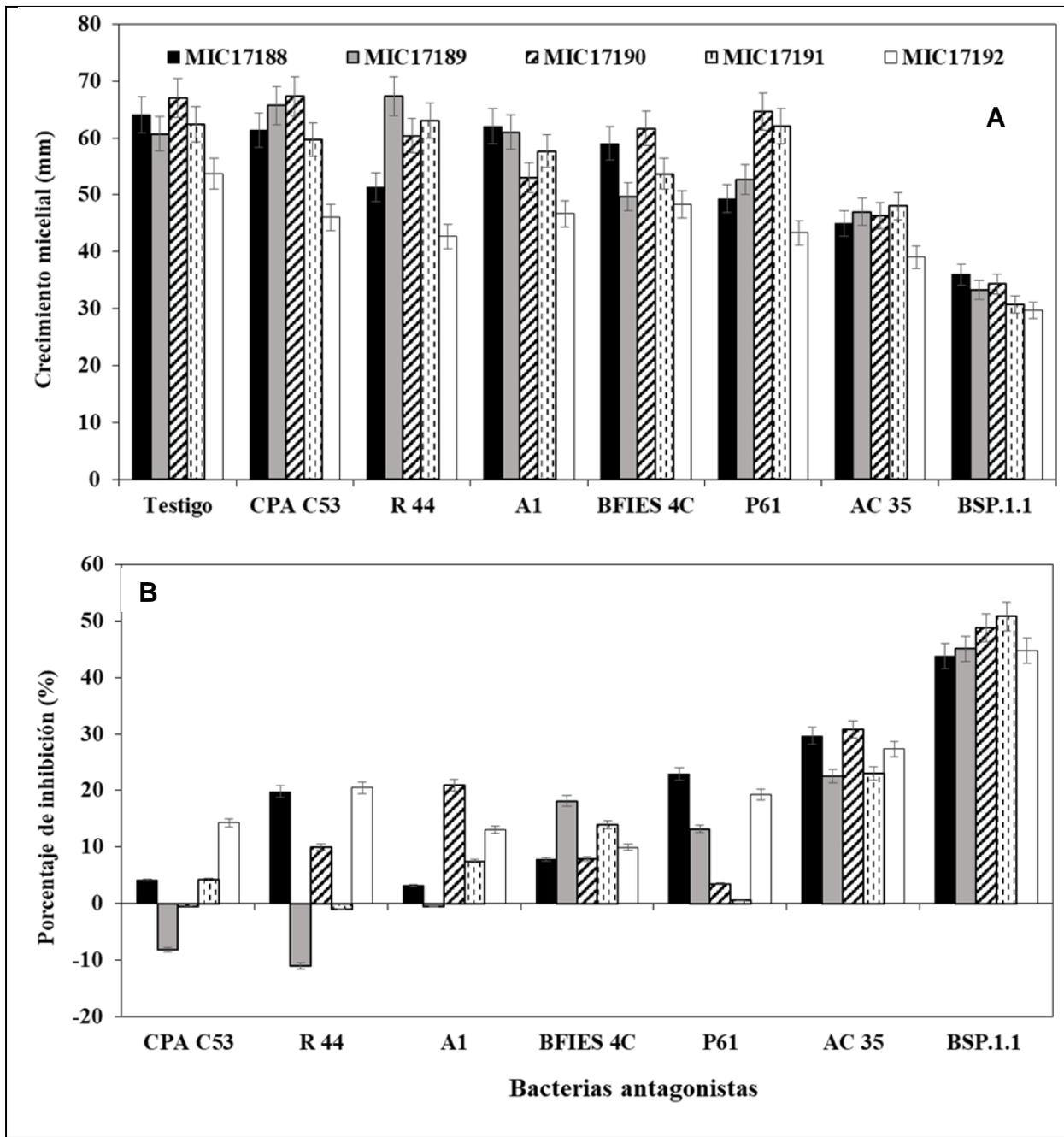


Figura 3.1. Inhibición *in vitro* de *Serratia liquefaciens* (CPA C53), *Bacillus pumilus* (R44), *B. pumilus* (A1), *B. pumilus* (BFIES 4C), *Pseudomonas tolaasii* (P61), *Serratia* sp. (AC 35), *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) contra cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”, a los 14 días de evaluación. A) Efecto en el crecimiento micelial, y B) Porcentaje de inhibición. Medias \pm Error estándar. n=4.

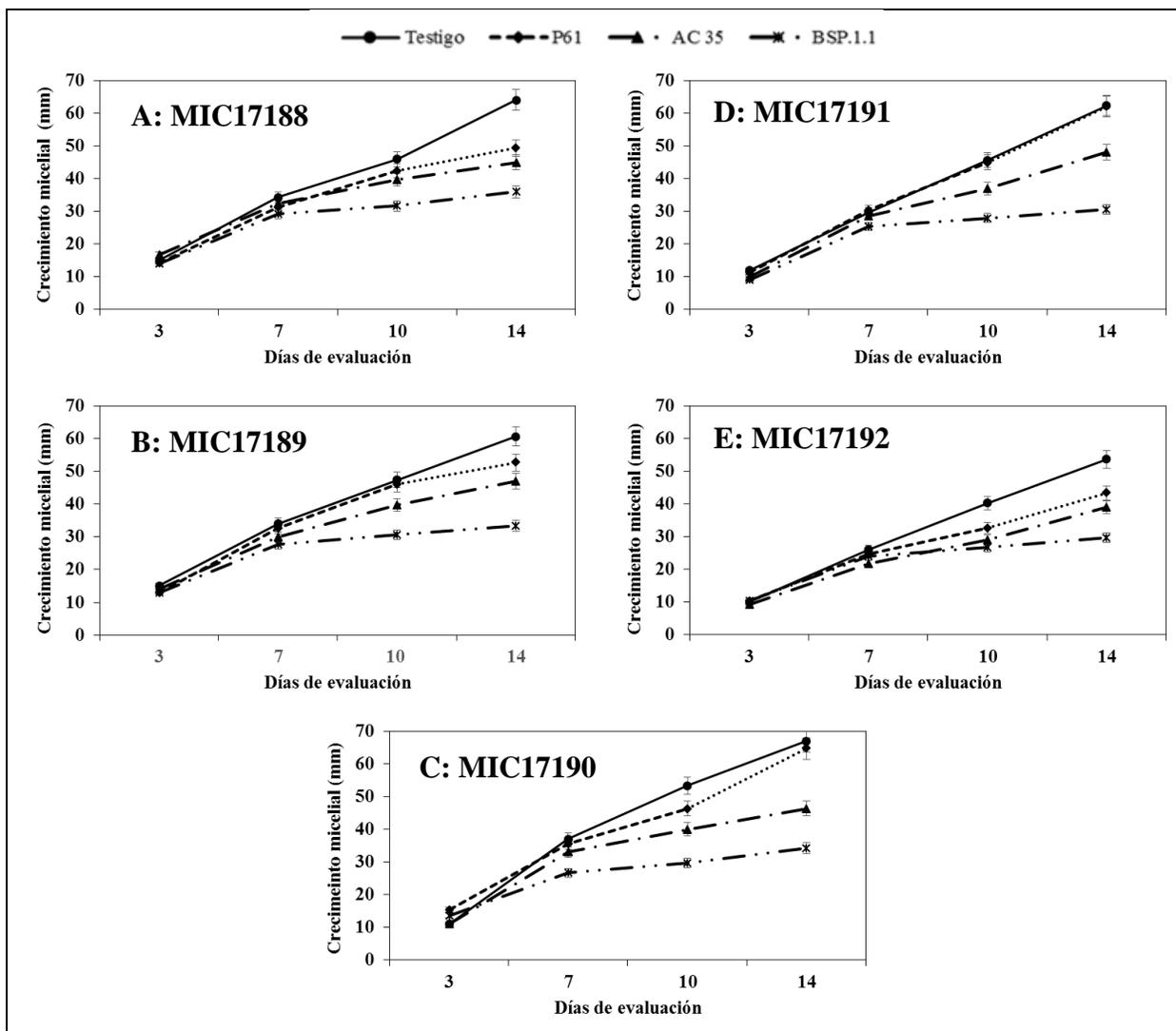


Figura 3.2. Crecimiento micelial *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en presencia de las bacterias antagonistas, *Pseudomonas tolaasii* (P61), *Serratia* sp. (AC 35), *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1), después de 3, 7, 10 y 14 días. Medias \pm Error estándar. n=4.

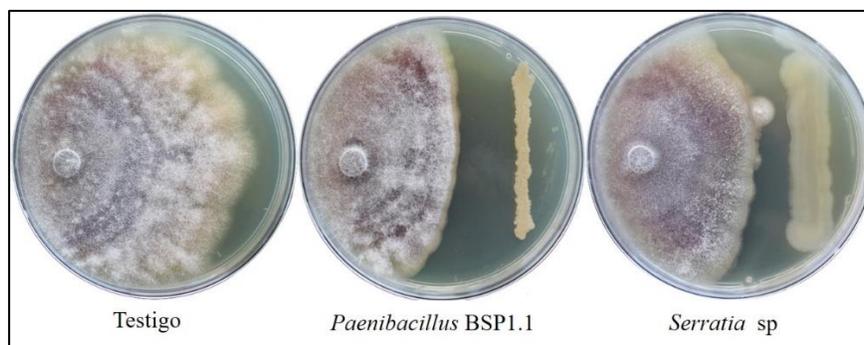


Figura 3.3. Crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza "1 o 2" aislamiento MIC17188 en presencia de las bacterias antagonistas *Paenibacillus* sp. BSP1.1 y *Serratia* sp. AC35, después de 14 días de evaluación.

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal son de vida libre en el suelo y/o rizobacterias que colonizan la rizósfera de las plantas; estas bacterias son importantes para la agricultura sustentable, debido a que proveen múltiples beneficios en el suelo (incrementan el contenido de nutrientes) y en la productividad de los cultivos, además ayudan a mitigar el estrés de factores bióticos (suprimen el desarrollo de los patógenos) y abióticos (Ramakrishna *et al.*, 2019). Algunas bacterias producen sideróforos que capturan hierro y reducen su disponibilidad para los organismos patógenos; además producen compuestos antimicrobianos, tales como enzimas líticas (glucanasas, lipasas, celulasas y quitinasas) que degradan la pared celular de hongos y oomicetos, y producen antibióticos que en conjunto suprimen el desarrollo de hongos y bacterias que afectan a los cultivos (Santoyo *et al.*, 2021).

En estudios previos, la cepa bacteriana *Paenibacillus* sp. BSP 1.1 inhibió el desarrollo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y 5 en 40.9% y 43.43%, respectivamente (Edeza-Urias, 2019), también fue efectiva en la inhibición del desarrollo micelial de *Rhizoctonia* sp. (Pineda-Mendoza *et al.*, 2019). Además, esta cepa bacteriana BSP.1.1 produce auxinas, índoles y solubiliza fosfatos que promueven el desarrollo vegetal (Pineda-Mendoza, 2015; Angulo-Castro *et al.*, 2018; Pineda-Mendoza, 2019). *Pseudomonas tolassi* P61, la cepa BSP. 1.1 también favorece la germinación de semillas y el crecimiento de plantas de *Capsicum annum* (Pineda-Mendoza *et al.*, 2019). Por otra parte, las cepas *P. tolassi* P61 y *Bacillus pumilus* R44 solubilizan fosfatos y producen auxinas (Pineda-Mendoza, 2015; Angulo-Castro *et al.*, 2018), pero no presentaron un efecto inhibitorio significativo hacia las cepas de Foc Raza “1 o 2”, en el presente estudio.

Paenibacillus sp. BSP 1.1 es una bacteria promotora del crecimiento vegetal que fue aislada de la rizósfera de maíz, en Villa de Allende, Edo. de México, también fue identificada como *Paenibacillus polymyxa* BSP 1.1 por Benítez-Noyola (2013). En ese sentido, *P. polymyxa* NSY50

incrementó el desarrollo y la resistencia de plántulas de *Cucumis sativus* L. cv. Jinchun No 2 a la infección por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Du *et al.*, 2016); también Shi *et al.* (2017) reportaron que la misma rizobacteria redujo la incidencia de *F. oxysporum* en 56.4% debido a que alteró algunas propiedades del suelo (pH, carbono de la masa microbiana, respiración microbiana, nitrógeno total y carbono orgánico), incrementó la actividad ureasa y beta-glucosidasa, y promovió el desarrollo de microorganismos benéficos como *Bacillus*, *Actinobacteria*, *Streptomyces*, *Actinospica*, *Catenulispora* y *Pseudomonas*. De manera similar, *Paenibacillus polymyxa* HX-140 aislada de la rizósfera de *Brassica napus*, redujo la infección por *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* en 55.6% en condiciones de invernadero, debido a la producción de proteasas, celulasas, β -1,3-glucanasas y compuestos orgánicos volátiles antifúngicos (Zhai *et al.*, 2021).

El uso de bacterias para proteger vitroplantas de banano es una propuesta desarrollada para el manejo de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, lo cual, incluye la evaluación de bacterias endofíticas, rizobacterias y bacterias de vida libre en condiciones *in vitro*, invernadero y en campo (Sivamani y Gnamanickam, 1988; Nel *et al.*, 2006; Lara-Fiallos, 2009; Ho *et al.*, 2015).

En el presente estudio, *Paenibacillus* sp. BSP 1.1 presentó mayor inhibición contra los cinco aislamientos evaluados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”, por lo que, esta bacteria sola o en consorcio con *Serratia* sp. AC 35, es atractiva para su uso biotecnológico en la bacterización de plántulas de plátano y banano, para inducir protección antes de su establecimiento en campo, como parte de un programa de manejo integrado para este patógeno y potencialmente, estas bacterias podrían dirigirse a futuro, en un esquema de manejo ante una eventual introducción y establecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical en México.

Bioensayo 2. De acuerdo a los resultados obtenidos, la bacteria *B. subtilis* (BASU) fue la que más inhibió el desarrollo micelial de los tres aislamientos de Foc Raza “1 o 2” evaluados, en promedio, con un 55.1% a los 14 días de la confrontación. Por otra parte, las cepas bacterianas de *B. velezensis* (BAVE) y *B. sonorensis* (BASO) mostraron un porcentaje de inhibición promedio de 45.8% y 21.7%, respectivamente (**Cuadro 3.3; Figuras 3.4, 3.5 y 3.6**).

La capacidad antagonica de las cepas *B. subtilis*, *B. velezensis* y *B. sonorensis* evaluadas en el presente estudio no se había determinado previamente; sin embargo, existen reportes de que *B. subtilis* ha mostrado un antagonismo *in vitro* de 38.7% a 49.6% contra *F. oxysporum* (Rubio-Tinajero *et al.*, 2021). Asimismo, *B. subtilis* EPB56 y EPB10 redujeron la incidencia de Foc Raza 1 en 32.0% y 58.1%, respectivamente, en vitroplantas de banana variedad Red banana (AAA) condiciones de invernadero. Al respecto, la incidencia de Foc R1 se redujo en 62.1% cuando se aplicaron las dos bacterias en consorcio y el porcentaje de biocontrol, incrementó a 68.4% cuando se incorporó a *Pseudomonas fluorescens* Pf1 en un consorcio con las tres bacterias (Kavino y Manoranjitham, 2018). Así mismo, la aplicación de *B. subtilis* en ensayos *in vivo*, redujo 83% la incidencia de *F. oxysporum* en tubérculos de *Dioscorea villosa* (Khan *et al.*, 2017b). En el mismo sentido, *B. velezensis* inhibió 44% la incidencia de *F. oxysporum* en plántulas de banano, en condiciones de invernadero (Cao *et al.*, 2018). También, la combinación de suelo ácido mejorado con biofertilizante a base de *B. velezensis* H-6 redujo la incidencia de Foc R4T hasta 66.7% en plantas de banano Cavendish var Brazil (Huang *et al.*, 2019), lo cual concuerda con lo reportado por Segura-Mena *et al.* (2021) quienes mencionan que el uso de bacterias benéficas/antagonistas son parte de prácticas de manejo del suelo para reducir la incidencia y severidad de enfermedades causadas por *Fusarium*. Por lo tanto, *B. subtilis* y *B. velezensis* son bacterias que podrían también ser consideradas como parte de un programa de manejo contra Foc Raza “1 o 2”, o incluso contra

Foc R4T, ya sea mediante prácticas de bacterización de plántulas de plátano y banano, antes de su establecimiento en campo, o en la elaboración de biofertilizantes que podrían ser aplicados.

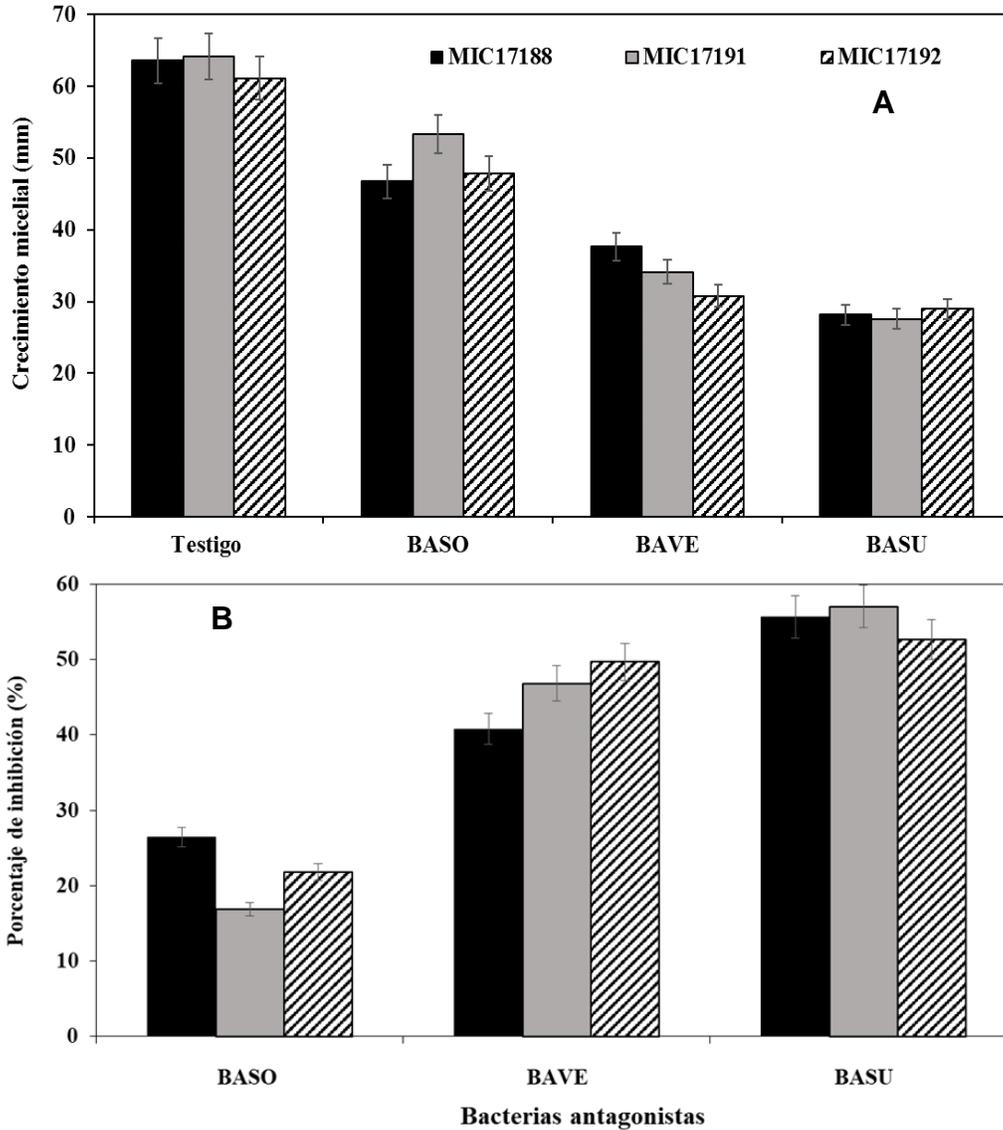


Figura 3.4. Inhibición *in vitro* de *Bacillus subtilis* (BASU), *Bacillus sonorensis* (BASO), y *Bacillus velezensis* (BAVE) contra los aislamientos MIC17188, MIC17191 y MIC17192 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”. A) Crecimiento micelial, y B) porcentaje de inhibición. Después de 14 días de evaluación. Medias \pm Error estándar. n=4.

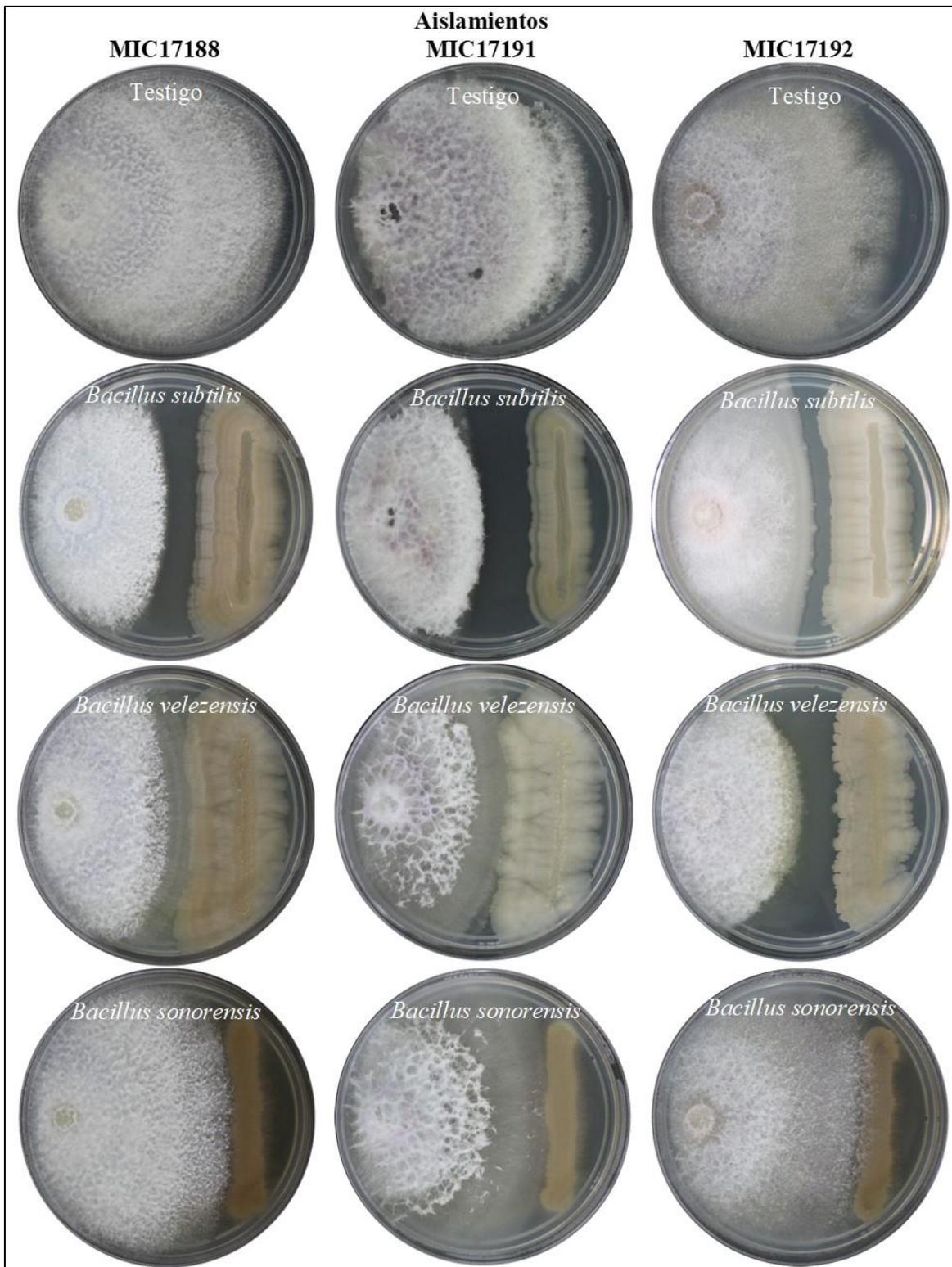


Figura 3.5. Inhibición *in vitro* de *Bacillus subtilis* (BASU), *Bacillus sonorensis* (BASO), y *Bacillus velezensis* (BAVE) contra los aislamientos MIC17188, MIC17191 y MIC17192 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”. Después de 14 días de evaluación.

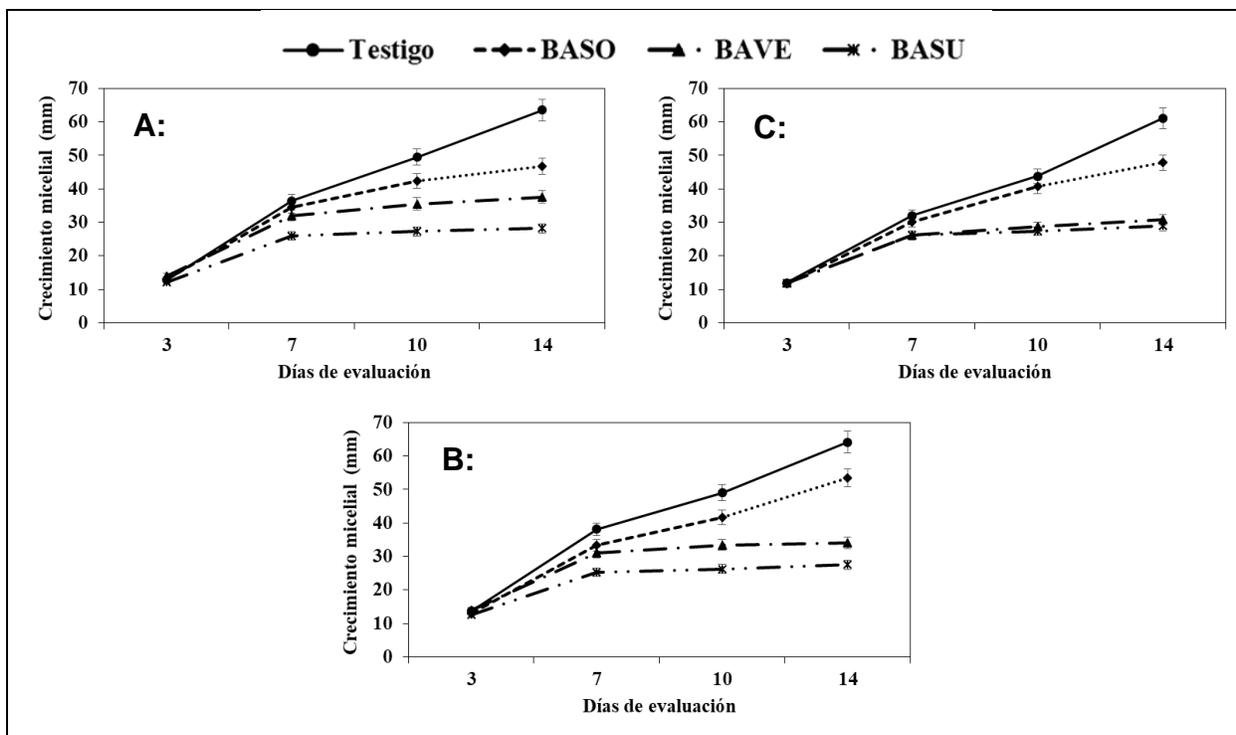


Figura 3.6. Crecimiento micelial *in vitro* de los aislamientos MIC17188, MIC17191 y MIC17192, de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” en presencia de las bacterias *Bacillus subtilis* (BASU), *Bacillus sonorensis* (BASO) y *Bacillus velezensis* (BAVE). Después de 14 días de evaluación. Medias \pm Error estándar. n=4.

Bioensayo 3. La bacteria *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) por si sola tuvo mayor efecto inhibitorio (80.1%, en promedio) cuando se preinoculó a los siete días, contra el aislamiento MIC17188, en comparación con el efecto obtenido por la actividad conjunta (75.5%, en promedio) de las bacterias *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC 35). El menor efecto antagónico lo presentó *Serratia* sp. (AC35), con 52.31% en promedio, a los siete días de la preinoculación. Respecto al tiempo de preinoculación, *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) tuvo mayor efecto antagónico, a los 7 días de la preinoculación (80.15%), en comparación con lo obtenido con la preinoculación de 4 días (57.9%), y con 2 días de preinoculación (50.62%) [Cuadro 3.4; Figura 3.7 y 3.8].

Cuadro 3.4. Efecto inhibitorio de las bacterias *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1), *Serratia* sp. (AC 35) y su combinación, contra *Fusarium oxysporum* (MIC17188) f. sp. *cupense* Raza “1 o 2”, con 7 días de preinoculación bacteriana, y después de 7 días de confrontación.

Tratamiento	Inhibición* (%)
BSP 1.1	80.15 a
AC 35	52.31 c
BSP 1.1 + AC 35	75.51 b

*Valor estimado a partir del crecimiento fúngico del testigo del bioensayo correspondiente. Letras idénticas en la columna no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$). n=3.

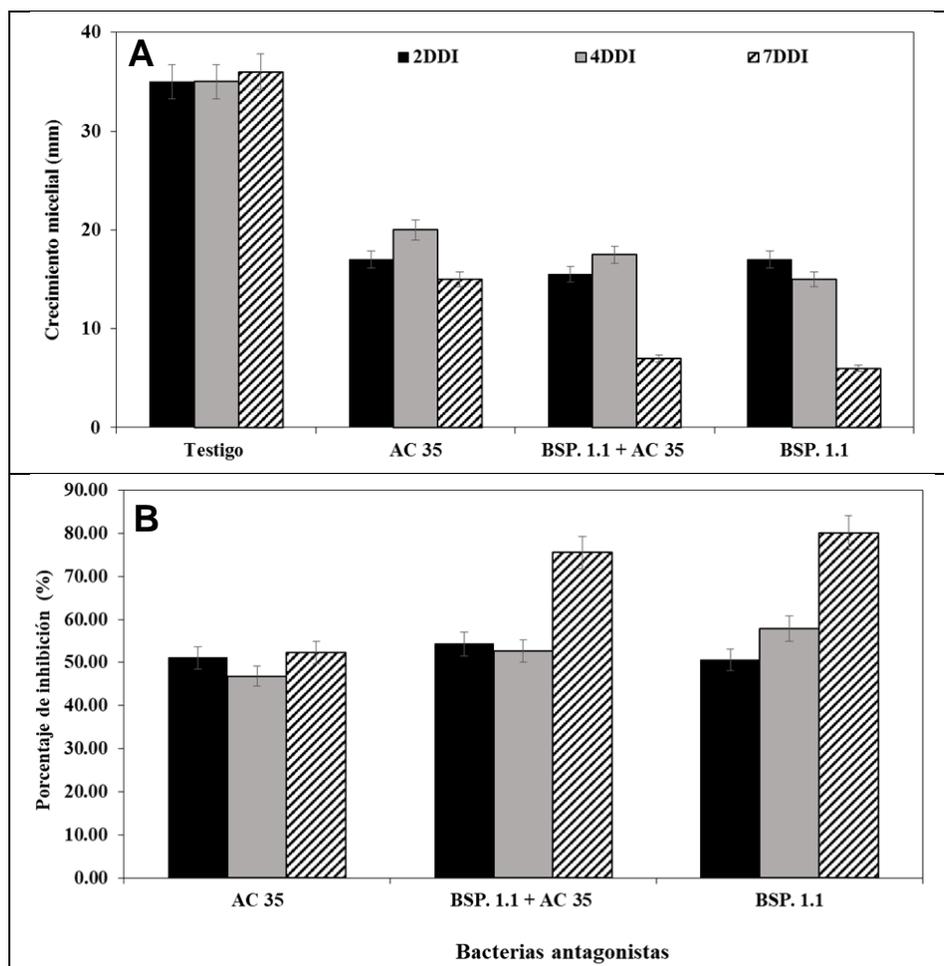


Figura 3.7. Inhibición *in vitro* del consorcio *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) y *Serratia* sp. (AC35) contra el aislamiento MIC17188 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* a tres tiempos de preinoculación bacteriana (2, 4 y 7 días). A) Crecimiento micelial, y B) Porcentaje de inhibición. Después de siete días de evaluación. Medias \pm Error estándar. N=3.

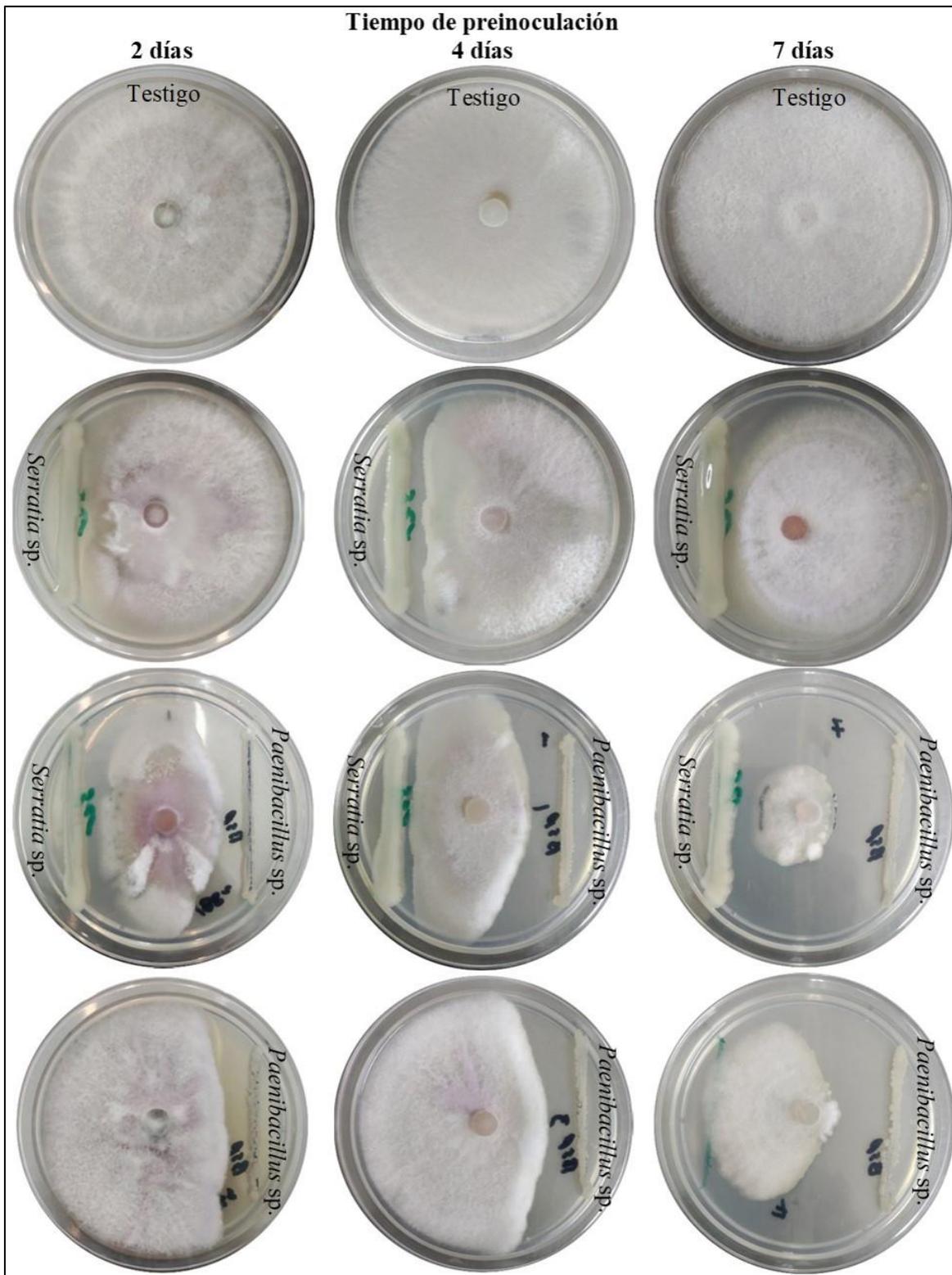


Figura 3.8. Inhibición *in vitro* del consorcio *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) y *Serratia* sp. (AC35) contra el aislamiento MIC17188 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* a tres tiempos de preinoculación bacteriana (2, 4 y 7 días. Después de siete días de evaluación.

Los resultados obtenidos son consistentes con lo reportado por Caballero-Hernández (2011), quien recomienda proteger las plantas de banano con bacterias antagonistas 7 días antes de que se confronten con el patógeno; es decir, entre más tiempo tenga la bacteria para establecerse en el medio de cultivo, mayor será el efecto antagónico. Lo anterior permite recomendar bacterizar o proteger las plántulas de banano por lo menos 7 días antes de que las plantas se establezcan en invernadero o en campo.

3.5.2 Pruebas de viabilidad de propágulos del patógeno

Bioensayo 4. Viabilidad de macroconidios y microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Foc Raza “1 o 2” en suelo estéril. Con base en los resultados obtenidos, la rizobacteria *Paenibacillus* sp. BSP1.1 afectó la viabilidad de los conidios de los aislamientos de Foc Raza “1 o 2”, excepto para el aislamiento MIC17190, en el cual no se presentó inhibición. A los 42 días de evaluación, el mayor porcentaje de inhibición de los propágulos del hongo se presentó en el aislamiento MIC17192 con 61%, seguido de MIC17191 con 56%, MIC17189 con 47%, y MIC17188 con 2% (**Figura 3.9**). Para los 49 días de evaluación, el porcentaje de inhibición de la viabilidad de las esporas se redujo para todos los aislamientos fúngicos, incluso se presentaron valores de inhibición negativos para los aislamientos MIC17188 (-18%) y MIC17191 (-31%) (**Figura 3.10**).

Como se mencionó, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, incluyendo rizobacterias que producen antibióticos y enzimas líticas, tales como glucanasas, lipasas, celulasas y quitinasas, que degradan la pared celular de hongos y oomicetos, y suprimen el desarrollo de hongos y bacterias que afectan a los cultivos (Santoyo *et al.*, 2021). En ese sentido, la disminución del efecto inhibitorio de *Paenibacillus* sp. BSP1.1, pudo deberse a la falta de adaptación y

propagación de la rizobacteria en el suelo estéril, toda vez que los exudados de las raíces de las plantas juegan un papel importante para el desarrollo de organismos de control biológico, ya sea hongos micorrizicos o bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Vives-Peris *et al.*, 2019).

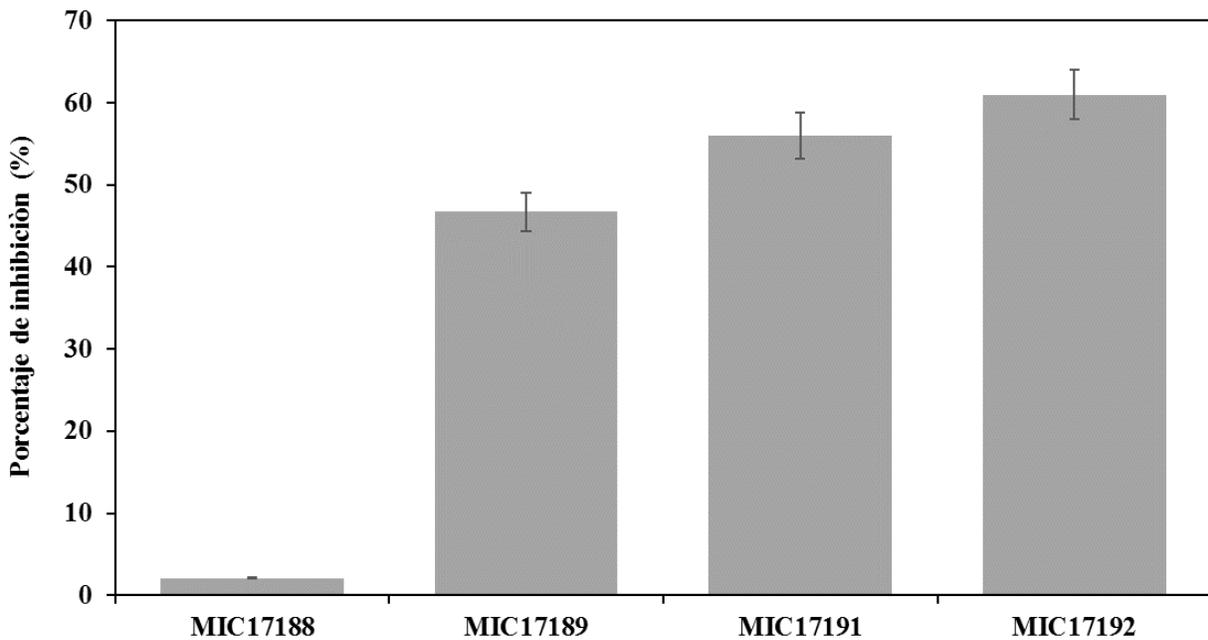


Figura 3.9. Porcentaje de inhibición de conidios de los aislamientos MIC17188, MIC17189, MIC17191 y MIC17192 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en suelo estéril más la adición de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1). Después de 42 días de evaluación. Medias \pm Error estándar. n=3.

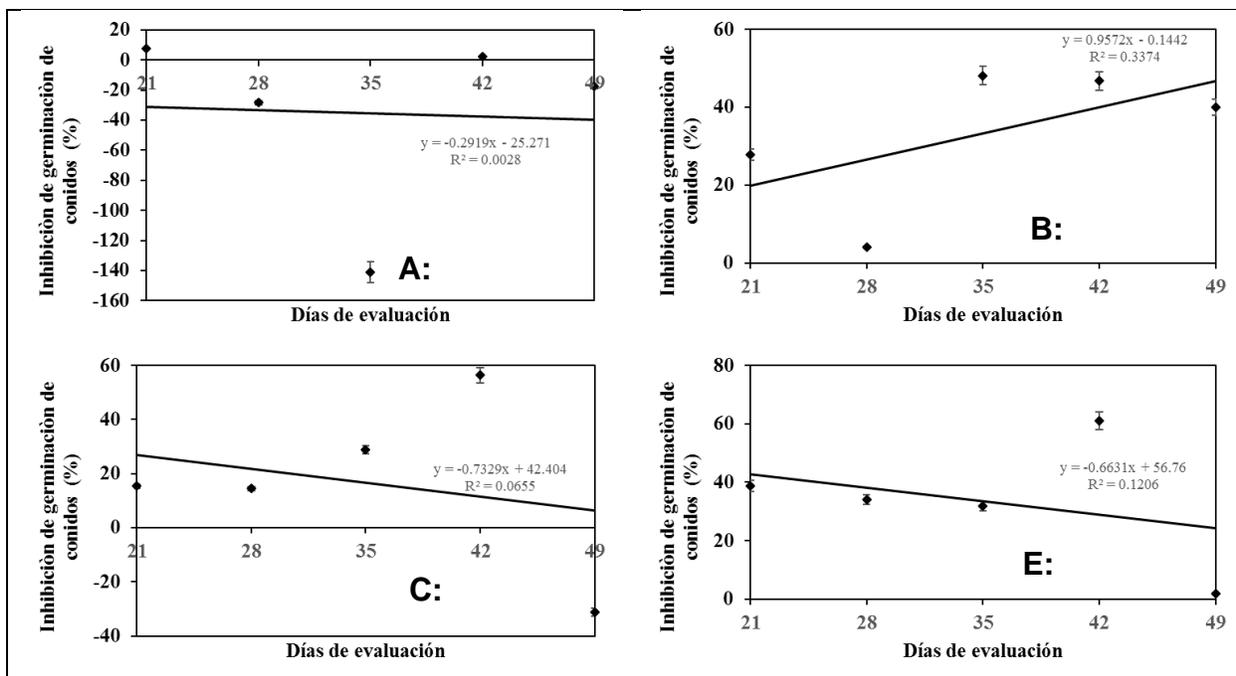


Figura 3.10. Tendencia de la inhibición de la viabilidad de los conidios de los aislamientos MIC17188, MIC17189, MIC17191 y MIC17192 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en suelo estéril más la adición de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1). Periodo de 21 a 42 días de evaluación. Medias \pm Error estándar. n=3.

Los exudados de las raíces incluyen ácidos orgánicos, aminoácidos, azúcares y otras moléculas pequeñas que actúan como quimio-atrayentes de la microbiota del suelo (Santoyo *et al.*, 2021). En contraste, las razas de *Foc* pueden crecer saprofiticamente en restos vegetales presentes en el suelo (Dita *et al.*, 2018). Por lo anterior, estos resultados deben ser corroborados en estudios con plántulas de plátano o banano susceptibles.

3.6 CONCLUSIONES

- La cepa bacteriana *Paenibacillus* BSP 1.1 mostró alto potencial de inhibición *in vitro* (46.6%), lo cual sugiere su posible uso en un esquema de control biológico para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”, el cual se encuentra presente en México.

- El efecto inhibitorio de *Paenibacillus* BSP 1.1 *in vitro* se incrementa a 80.1% cuando ésta se preinocula siete días antes de la confrontación del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Raza “1 o 2”.
- Las cepas de bacterias *Bacillus subtilis* BASU (55.1%) y *B. velezensis* BAVE (45.8%) también presentaron altos porcentajes de inhibición *in vitro* y podrían ser utilizadas para un esquema de manejo del hongo en campo, en combinación con la cepa bacteriana *Paenibacillus* BSP 1.1.
- La adición de *Paenibacillus* BSP 1.1 en suelo estéril disminuyó parcialmente la viabilidad de los conidios del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Raza “1 o 2”.

DISCUSIÓN GENERAL DE LOS RESULTADOS

Análisis de Riesgo de Plagas

La legislación fitosanitaria de México prohíbe la importación de productos y subproductos, incluyendo material propagativo de musáceas (DOF, 1996), la cual es la principal vía de dispersión de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical. Todas las vías evaluadas descritas en el presente documento, para analizar la posible incursión de este patógeno a México, se consideran de Riesgo Medio.

Determinación molecular de la raza de Foc presente en México

Respecto a la determinación preliminar de la raza de Foc presente en México, se puede indicar que con base en las secuencias de nucleótidos de las cuatro cepas de Foc (MIC17188, MIC17189, MIC17190 y MIC17191) se alinearon con una cobertura e identidad del 100% con *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* CAV2879, CAV2762 y CAV2614 (números de acceso en el GenBank, KX365413.1, KX365409.1 y KX365402.1, respectivamente). Las secuencias fúngicas se agruparon dentro del linaje VI de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y en los grupos donde se ubican aislamientos de Raza “1 o 2” (Fourie *et al.*, 2009; Karangwa *et al.*, 2018). En ese sentido, para la caracterización molecular mediante se utilizaron los iniciadores que amplifican un fragmento del gen factor de elongación 1 alfa (EF-1 α) diseñados por O'Donnell *et al.* (1998), los cuales amplifican un gen endógeno y junto con la secuenciación y análisis filogenético son parte de protocolos de diagnóstico molecular que se han desarrollado para determinar la presencia o ausencia de Foc R4T (Dita *et al.*, 2010; Senasica, 2018; García-Bastidas *et al.*, 2020b) y por lo tanto, permiten la identificación de las razas de Foc. Las secuencias del GeneBank en las que se obtuvo el mayor porcentaje de identidad, corresponden a linajes Foc de muestras recolectadas de

las regiones de África Oriental y Central (Karangwa *et al.*, 2018; Ndayihanzamaso *et al.*, 2020). Lo anterior, confirmó la ausencia en *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical, en las zonas de México en las que se realizó el muestreo (Puebla, Michoacán, y Oaxaca).

Sensibilidad de las cepas de Foc a sales cuaternarias de amonio

Todas las dosis evaluadas de la sal cuaternaria de amonio de cuarta generación (Anibac 500) redujeron el crecimiento micelial de los cinco aislamientos de Foc Raza “1 o 2”; sin embargo, no se logró el 100% de inhibición en ninguna dosis evaluada a los ocho días de experimentación. El mayor efecto inhibitorio se observó al aplicar 1000 y 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. En particular, la dosis 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ corresponde a una dilución 1:100; es decir, 10 mL del producto comercial de sales cuaternarias en 990 mL de agua. Esta dosis se recomienda para la desinfestación de herramientas, equipos, vehículos y maquinaria para el control de Foc R1, e incluso de Foc R4T en Australia (Nguyen *et al.*, 2019). No obstante, esta dilución de 1:100 no fue efectiva para el control de los cinco aislamientos de Foc evaluados en esta investigación. Esto se podría atribuir a la concentración del ingrediente activo del producto comercial disponible en México (Anibac 500; 12.5% i.a.), mientras que, en Australia, los 20 productos comerciales de sales cuaternarias de amonio disponibles, contienen mayor cantidad de ingrediente activo, que va del 5.4% (BC-Benzalkonium chloride) al 60% (ABDAC-alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride); además, dichos productos comerciales contienen uno o más ingredientes activos (Nguyen *et al.* 2019).

Por su parte, Nel *et al.* (2007) reportaron que la dosis de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de la mezcla de sal cuaternaria de amonio y Polymeric biquanidine hydrochloride, produjo la inhibición completa del crecimiento micelial de Foc, mientras que el producto Farmcleanse (amonio cuaternario) a la misma dosis, no produjo la inhibición total del hongo. Meldrum *et al.* (2013) reportaron que las

concentraciones menores de Farmcleanse (2.0%) no inhibieron completamente la germinación de microconidios de Foc. Lo anterior denota que la eficiencia de las sales cuaternarias de amonio depende de su ingrediente activo y de su concentración en el producto comercial utilizado.

Sensibilidad de las cepas de Foc a fungicidas sistémicos

De los seis fungicidas sistémicos evaluados, Tebuconazol, Benomyl y Carbendazim fueron los más sobresalientes, En el caso de Tebuconazol aplicado en dosis de 50, 100 y 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, inhibieron al 100% el crecimiento micelial de los cinco aislamientos de Foc, mientras que la dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Benomyl y Carbendazim inhibieron en promedio, 99.8% y 99.7%, respectivamente. En el caso de Carbendazim, nuestros resultados concuerdan parcialmente con los obtenidos obtenidos por Soma *et al.* (2008) quienes reportaron que Carbendazim inhibió 100% a *F. oxysporum* (aunque no especificó la *forma specialis*, ni la raza fisiológica) al aplicar 100 y 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$. También Somu *et al.* (2014) al aplicar dosis altas de Carbendazim (500, 1000 y 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) inhibieron el 100% el desarrollo micelial de Foc (tampoco especificaron la raza fisiológica), a los siete días de evaluación. Mientras que Niwas *et al.* (2020), quienes demostraron una inhibición promedio de 82.3% con la aplicación de Carbendazim (100, 250, 500 y 750 $\mu\text{g mL}^{-1}$), a los 7 días de evaluación. Por su parte, Gnanasekaran *et al.* (2015) indicaron que el Carbendazim inhibió parcialmente el desarrollo del *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, pero no especificaron las dosis utilizadas, ni el porcentaje de inhibición correspondiente. La presente investigación sugiere que la eficiencia de la aplicación de los fungicidas sistémicos para inhibir el crecimiento de Foc “R1 o R2”, pudo haber dependido del aislamiento fúngico, ya que algunos fungicidas mostraron un efecto variable en la inhibición del crecimiento micelial de los aislamientos del patógeno. Lo anterior concuerda con Nel *et al.* (2007) quienes para lograr una inhibición del 100% del desarrollo micelial

de Foc CAV 031 se requirió aplicar $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ del ingrediente activo de Benomyl, mientras que para inhibir a Foc CAV 086, se necesitaron $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ de este ingrediente activo.

Además, el uso de $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de Tebuconazol, o de dosis mayores a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Carbendazim y Benomyl, o el uso de $1250 \mu\text{g mL}^{-1}$ de sales cuaternarias de amonio (Anibac 500), pueden ser utilizados en un esquema de control de Foc R1 o R2, y como parte de medidas fitosanitarias para el control ante una posible incursión de Foc R4T a México, aunque es recomendable preceder a la evaluación de su eficacia en dicha raza fúngica.

Efecto inhibitorio de cepas bacterianas contra aislamientos de Foc

En cuanto al efecto *in vitro* de bacterias antagonistas, a los 14 días de confrontación, las cepas bacterianas con mayor efecto inhibitorio para los 5 aislamientos de Foc Raza “1 o 2”, fueron: *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) con 44.7% y *Serratia* sp. (AC 35) con 27.3%. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal y en particular las rizobacterias incrementan el contenido de nutrientes y la productividad de los cultivos, además suprimen el desarrollo de los patógenos (Ramakrishna *et al.*, 2019), estas bacterias producen sideróforos que capturan moléculas de hierro y reducen su disponibilidad para los organismos patógenos; además producen glucanasas, lipasas, celulasas y quitinasas que degradan la pared celular de hongos y oomicetos, y antibióticos que en conjunto suprimen el desarrollo de hongos y bacterias que afectan a los cultivos (Santoyo *et al.*, 2021). En particular, se ha reportado que la rizobacteria *Paenibacillus* sp. BSP 1.1 inhibió el desarrollo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y 5 en 40.9% y 43.43%, respectivamente (Edeza-Urias, 2019), también fue efectiva en la inhibición del desarrollo micelial de *Rhizoctonia* sp. (Pineda-Mendoza *et al.*, 2019). Además, esta cepa bacteriana BSP.1.1 produce auxinas, índoles y solubiliza fosfatos que promueve el desarrollo de las plantas (Pineda-Mendoza, 2015; Angulo-

Castro *et al.*, 2018; Pineda-Mendoza, 2019). También, favoreció la germinación de semillas y el crecimiento de plantas de *Capsicum annum* (Pineda-Mendoza *et al.*, 2019). Por lo que, *Paenibacillus* sp. BSP 1.1 podría ser usada sola o en consorcio con *Serratia* sp. AC 35, para su uso biotecnológico en la bacterización de plántulas de plátano y banano para inducir protección por lo menos siete días antes de su establecimiento en campo, como parte de un programa de manejo integrado para Foc Raza “1 o 2” y potencialmente, estas bacterias podrían dirigirse a futuro, en un esquema de manejo ante una eventual introducción y establecimiento de Foc R4T en México.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la bacteria *B. subtilis* (BASU) fue la que más inhibió el desarrollo micelial de los tres aislamientos de Foc Raza “1 o 2” evaluados, en promedio, con un 55.1% a los 14 días de la confrontación, seguido de *B. velezensis* (BAVE) con un porcentaje de inhibición promedio de 45.8%. La capacidad antagónica de las cepas *B. subtilis*, *B. velezensis* evaluadas en el presente estudio no se había determinado previamente; existen reportes de que *B. subtilis* ha mostrado un antagonismo *in vitro* de 38.7% a 49.6% contra *F. oxysporum* (Rubio-Tinajero *et al.*, 2021). Asimismo, *B. subtilis* EPB56 y EPB10 redujeron la incidencia de Foc Raza 1 en 32.0% y 58.1%, respectivamente en vitroplantas de banana variedad Red banana (AAA) condiciones de invernadero. Al respecto, la incidencia de Foc R1 se redujo en 62.1% cuando se aplicaron las dos bacterias en consorcio y el porcentaje de biocontrol se incrementó a 68.4% cuando se incorporó a *Pseudomonas fluorescens* Pf1 en un consorcio con las tres bacterias (Kavino y Manoranjitham, 2018); la aplicación de *B. subtilis* en ensayos *in vivo*, redujo 83% la incidencia de *F. oxysporum* en tubérculos de *Dioscorea villosa* (Khan *et al.*, 2017b). En el mismo sentido, *B. velezensis* inhibió 44% la incidencia de *F. oxysporum* en plántulas de banano, en condiciones de invernadero (Cao *et al.*, 2018); también, la combinación de suelo ácido mejorado con

biofertilizante a base de *B. velezensis* H-6 redujo la incidencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical de 63.3% a 66.7% en plantas de banano Cavendish var Brazil (Huang *et al.*, 2019), lo cual concuerda con lo reportado por Segura-Mena *et al.* (2021) quienes mencionan que la utilización de bacterias benéficas/antagonistas son parte de prácticas de manejo del suelo para reducir la incidencia y severidad de enfermedades causadas por *Fusarium*. Por lo tanto, *B. subtilis* y *B. velezensis* son bacterias que podrían también ser consideradas como parte de un programa de manejo contra Foc Raza “1 o 2”, o incluso contra Foc R4T ya sea en la bacterización de plántulas de plátano y banano antes de su establecimiento en campo o en la elaboración de biofertilizantes que se aplicarían una vez que el cultivo está establecido en campo.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la bacteria *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) por si sola tuvo mayor efecto inhibitorio (80.1%, en promedio) cuando se preinoculó a los siete días, contra el aislamiento MIC17188 en comparación con el efecto obtenido por la actividad conjunta (75.5%, en promedio) de las bacterias *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) + *Serratia* sp. (AC 35); el menor efecto antagonico lo presentó *Serratia* sp. (AC35), con 52.31% en promedio, a los siete días de preinoculación. Respecto al tiempo de preinoculación, se tuvo mayor efecto inhibitorio con *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) a los 7 días de preinoculación (80.15%) en comparación con lo obtenido con la preinoculación de 4 días (57.9%) y con 2 días de preinoculación (50.62%), por lo tanto, se sugiere bacterizar o preinocular el material propagativo por lo menos 7 días antes de su establecimiento en campo, lo cual concuerda con lo reportado por Caballero-Hernández (2011), quien sugirió proteger las plantas de banano con bacterias antagonistas 7 días antes de que se inoculen con el patógeno.

CONCLUSIONES GENERALES

Análisis de Riesgo

- La legislación fitosanitaria de México prohíbe la importación de productos y subproductos, incluyendo material propagativo de musáceas, principal vía de dispersión de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical; por lo tanto, todas las vías evaluadas para la posible incursión de este patógeno a México, son de Riesgo Medio.

Efecto inhibitorio de sales cuaternarias de amonio

- La dosis de 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de sales cuaternarias de amonio de cuarta generación inhibió *in vitro* el 100% el desarrollo micelial de *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Raza “1 o 2”, por lo que se podría utilizar para implementar medidas de bioseguridad, evitar la dispersión de este patógeno, establecer medidas de exclusión, y retrasar la introducción de Foc R4T a nuestro país.

Efecto inhibitorio de fungicidas sistémicos

- Los fungicidas sistémicos Tebuconazol, Carbendazim y Benomyl a dosis de dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pueden ser utilizados para su aplicación de un tratamiento preventivo para plántulas de banano y plátano previo a su establecimiento en campo, en zonas con presencia de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” y como parte de un manejo, ante una eventual incursión de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical a México.

Efecto inhibitorio de Bacterias antagonistas

- La rizobacteria *Paenibacillus* BSP 1.1 mostró alto potencial inhibitorio *in vitro* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* Raza “1 o 2”, por lo cual, puede ser utilizada para un esquema de manejo en campo ya sea sola o en consorcio con *Serratia* sp., *Bacillus subtilis* y *B. velezensis* que también mostraron altos valores de inhibición *in vitro*.

PERSPECTIVAS GENERALES

Foc R4T es una de las principales enfermedades de plátano y banano a nivel mundial; aun cuando no existen reportes de infección en el fruto, que es la parte comercial, la importancia de este patógeno radica en que puede causar graves pérdidas en la producción, debido a que, no existe un método de control efectivo para este patógeno, ni tampoco existen variedades resistentes disponibles de manera comercial. Por lo tanto, el uso de microorganismos de control biológico, tales como bacterias, que cohabitan la rizósfera de la planta puede ser una opción para la protección de las vitroplantas o plántulas de plátano y banano dentro de un esquema de manejo integrado del patógeno, que incluya otras medidas como: medidas de exclusión y prevención (legislación fitosanitaria), uso de material propagativo certificado, medidas de bioseguridad en los puntos de entrada al país (puertos, aeropuertos y fronteras), ello con la finalidad de evitar o retrasar la introducción de este patógeno en nuestro país.

Además, se propone la protección de vitroplantas y plántulas de plátano y banano mediante la preinoculación de las bacterias *Paenibacillus* BSP1.1, *Serratia* sp., *B. subtilis* y *B. velezensis* para el manejo de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2”, el cual está presente en México.

En el mismo sentido, los fungicidas sistémicos Tebuconazol, Carbendazim y Benomyl a dosis de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, pueden ser utilizados para el tratamiento preventivo del material propagativo (cormos, vitroplantas y plántulas) de plátano y banano susceptibles a *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Raza “1 o 2” o en su caso, dirigir la aplicación a la base de la planta, cuando el cultivo está establecido.

LITERATURA CITADA

- ABGC. 2019. Australian Banana Industry Congress (ABGC) 2019. Program event. En línea: https://bananacongress.org.au/wp-content/uploads/2019/05/Banana-Congress-A4-Program_v3.pdf Fecha de consulta: 31 de octubre de 2019.
- Adeniji, T. A., Barimalaa, I.S. and Achinewhu, S.C. 2006. Evaluation of bunch characteristics and flour yield potential in black Sigatoka resistant plantain and banana hybrids. *Global Journal of Pure and Applied Science*, 12:41-43. En línea: <https://ur.booksc.me/book/72289621/d09982> Fecha de consulta: 21 de julio de 2022.
- Agrocalidad. 2020. II simulacro nacional de actuación para minimizar el riesgo de introducción de Foc r4t en Ecuador. En línea: <http://www.agrocalidad.gob.ec/ii-simulacro-nacional/> Fecha de consulta: 25 de febrero de 2020.
- Aguayo, J., Cerf-Wendling, I., Folscher, A.B., Fourier-Jeandel, C., Ioos, R., Mathews, M.C., Mostert, D., Renault, C., Wilson, V., and Viljoen, A. 2021. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (TR4) causing Banana Wilt in the Island of Mayotte. *Plant Disease* 105(1):219. En línea: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32755365/> Fecha de consulta: 1 de febrero del 2022.
- Amini, J., and Sidovich, D. F. 2010. The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* associated with Fusarium wilt tomato. *Journal of plant Protection Research*, 50(2):172-178. En línea: <http://www.plantprotection.pl/pdf-91523-25801?filename=The%20effects%20of%20fungicides.pdf> Fecha de consulta: 1 de agosto del 2022.
- Ángeles-Cruz, H y Rojas-Weisner, M. L. 2000. Migración femenina internacional en la frontera sur de México. *Papeles de Población*, 6(23):127-151. En línea: <http://www.scielo.org.mx/pdf/pp/v6n23/v6n23a7.pdf> Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2019.
- Angulo-Castro, A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Almaraz-Suárez, J. J., Delgadillo-Martínez, J., Jiménez-Fernández, M., y García-Barradas, O. 2018. Crecimiento y eficiencia fotoquímica del fotosistema II en plántulas de 2 variedades de *Capsicum annuum* L. inoculadas con rizobacterias u hongos micorrícicos arbusculares. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2):178-188. En línea: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.03.011>. Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Ashby, S. F. 1913. Banana disease in Jamaica. *Bulletin of the Department of Agriculture Jamaica*, 2(6): 95-128. En línea: <https://naldc-legacy.nal.usda.gov/naldc/download.xhtml?id=12088&content=PDF> Fecha de consulta: 5 de julio de 2021.
- Bai, T., Qin, M., Li, X., Fan, H., Xu, S., Zeng, L., and Zheng, S. J. 2020. An additional threat to 'Cavendish' banana growers and traders: the infection of banana peduncles by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (Foc TR4). *Plant Health Progress*, 22(4):5 p. en

- línea: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/110845?show=full> Fecha de consulta: 4 de noviembre de 2021.
- Bailey, B. A., Bae, H. H., Strem, M., Crozier, D. J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., Vinyard, B. T., and Holmes, K. A. 2008. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, 46:24-35. En línea: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964408000042> Fecha de consulta: 5 de julio de 2021.
- BananoTecnía. 2018. Gira Técnica de Banano a Colombia 2018 - Santa Marta. En línea: <http://www.bananotecnia.com/eventos/gira-tecnica-de-banano-a-colombia-2018/> Fecha de consulta 1 de noviembre de 2021.
- Bapnet. 2014. International Banana Symposio Philippines 2014. Davao: From local agriculture to global Agribusiness. 19-22 November 2014 at the SMX Convention Center. SM Lanang Premier, Davao City. En línea: <http://banana-networks.org/Bapnet/resources/publications/symposia/symposia/> Fecha de consulta: 31 de octubre de 2019.
- Benítez-Noyola, M. 2013. Inoculación con *Paenibacillus polymyxa* y fertilización nitrogenada en maíz bajo condiciones de temporal. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 89 p. en línea: http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/1865/Benitez_Noyola_M_MC_Edafologia_2013.pdf?sequence=1 Fecha de consulta: 17 de diciembre de 2021.
- Bentley, S., Peg, K. G., Moore, N. Y., Davis, R. D., and Buddenhagen, I. W. 1998. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting. *Phytopathology*, 88:1283-1293. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO.1998.88.12.1283> Fecha de consulta: 5 de julio de 2021.
- Borges, C.V., and Maraschin, M. 2016. *Musa* spp. – Functional properties, biofortification, and bioavailability. pp. 1-25. *In: Bananas cultivation, consumption and crop diseases*. Pearson, V. A. Nova Science Publishers, Inc. New York.
- Bubici, G., Kaushal, M., Prigigallo, M. I., Cabanás, C. G. L., and Mercado-Blanco, J. 2019. Biological control agents against *Fusarium* wilt of banana. *Frontiers in Microbiology*, 10:616. En línea: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00616/full> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- CAB International. 2021. *Crop Protection Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. En línea: <http://www.cabi.org/cpc/> Fecha de consulta: 10 de julio de 2021.
- Caballero-Hernández, A. J. 2011. Uso de hongos endofíticos de *Trichoderma* spp. para el biocontrol del mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) raza tropical 1 en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA). Tesis *Magister Scientiae* en Agricultura Ecológica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Escuela de

- Posgrado. 90 p. En línea: <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/5623> Fecha de consulta: 21 de enero de 2021.
- Caballero-Hernández, A. J., Pocasangre-Enamorado, L. E., Casanoves, F., Avelino, J., Tapiá-Fernández, A. C., y Ortiz, J. L. 2013. Uso de aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp., para el biocontrol del *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Mal de Panamá) raza 1 en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) en condiciones de invernadero. *Universitas*, 4(1):71-82. En línea: <http://agritrop.cirad.fr/573441/> Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Cao, Y., Pi, H., Chandransu, P., Li, Y., Wang, Y., Zhou, H., Xiong, H., Helmann, J. D., and Cai, Y. 2018. Antagonism of two plant-growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. *Scientific Reports*, 8:4360. DOI:10.1038/s41598-018-22782-z. En línea: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-22782-z.pdf> Fecha de consulta: 4 de octubre del 2021.
- Carr, C., Sánchez, M., Alfaro, F., Villalta, R., Sandoval, J., y Guzmán, M. 2017. Marchitez por *Fusarium* o mal de Panamá del banano y otras musáceas. Hoja divulgativa No.11. Corporación Bananera Nacional (CORBANA). En línea: https://www.researchgate.net/publication/324804235_Marchitez_por_Fusarium_o_mal_de_Panama_del_banano_y_otras_musaceas Fecha de consulta: 18 de julio de 2021.
- Cendoya, E., Nichea, M. J., Monge, M. P., Zchetti, V. G. L., Chiacchiera, S. M., and Ramirez, M. L. 2021. Effect of fungicides commonly used for *Fusarium* head blight management on growth and fumonisin production by *Fusarium proliferatum*. *Revista Argentina de Microbiología*, 53: 64-74. En línea: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-microbiologia-372-pdf-S0325754120300304> Fecha de consulta: 28 de julio de 2022.
- Cenis, L. J. 1992. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Research*, 20:2380. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC312363/?page=1>. Accessed 10 June 2021.
- Chen, Y. Y., Wei, S. X., and Zhang, L., 2005. Status of banana R&D in Hainan, China. p.193-201. *In: Molina, A. B., Roa, V. N., Van den Bergh, I., and Borromeo, K. H. (eds.), Advancing Banana and Plantain R&D in Asia and the Pacific - Vol. 13. Proceedings of the 3rd BAPNET Steering Committee Meeting held in Jakarta, Indonesia, 6-9 October 2003. INIBAP, Los Baños, Laguna, Philippines.* En línea: http://banana-networks.org/Bapnet/files/2013/06/BAPNET-Proceedings_China_2004.pdf Fecha de consulta: 23 de septiembre de 2019.
- Colombia Information Management and Analysis Unit. 2019. Humanitaria Needs Overview. Colombia. 55 p. En línea: <https://reliefweb.int/report/colombia/2019-humanitarian-needs-overview-colombia-sp> Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2019.
- Cook, D. C., Taylor, A. S., Meldrum, R. A., and Drenth, A. 2015. Potential economic impact of panama disease (Tropical Race 4) on the Australian banana industry. *Journal of Plant Disease Protection*, 122(5/6):229-237. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF03356557> Consultado: 3 de diciembre, 2021.

- Corpoguajira. 2017. Resolución 2205. “Por la cual, se otorga permiso de prospección y exploración de aguas subterráneas para la construcción de un pozo profundo número 5, en el predio “Finca Don Ali”, localizado, en – Jurisdicción del Municipio de Riohacha – La Guajira, y se dictan otras disposiciones. Corporación Autónoma Regional de la Guajira. 11 p. en línea: <http://corpoguajira.gov.co/wp/wp-content/uploads/2018/01/RESOLUCION-2205-DE-8-NOV-2017.pdf> fecha de consulta: 06 de noviembre de 2019.
- DAF. 2019. Current Panama TR4 situation. Department of Agricultural and Fisheries. Queensland Government. En línea: <https://www.daf.qld.gov.au/business-priorities/biosecurity/plant/eradication-surveillance-control/panama-disease/current-situation> Fecha de consulta: 19 de septiembre de 2019.
- Dale, J., James, A., Paul, J. Y. Khanna, H., Smith M, Peraza-Echeverria, S., García-Bastidas, F., Kema, G., Waterhouse, P., Mengersen, K., and Harding, R. 2017. Transgenic Cavendish bananas with resistance to *Fusarium* wilt Tropical Race 4. Nature Communications, 18:1496. En línea: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-01670-6> Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Delgado-Vargas, V. A., Magdaleno-Villar, J. J., Ayala-Garay, O. J., and Garfias-Sánchez, D. 2018. Seed quality of three native tomato varieties and a commercial one produced under high temperatures. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 24(3):215-227. En línea: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2018000300215&lng=es&nrm=iso&tlng=en&ORIGINALLANG=en Fecha de consulta: 15 de octubre de 2019.
- Deltour, P., França, S. C., Heyman, L., Pereira, O. I., and Höfte, M. 2018. Comparative analysis of pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* populations associated with banana on a farm in Minas Gerais, Brazil. Plant Pathology, 67:707-718. En línea: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/ppa.12757> Fecha de consulta: 5 septiembre de 2021.
- Díaz-Zorrilla, U. 2017. Plátano. pp. 112-115. In: Agenda técnica agrícola de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Ciudad de México.
- Dita, M. A., Waalwijk, C., Buddenahagenc, I. W., Souza, M. T., and Kema, G. H. J. 2010. A molecular diagnostic for Tropical Race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. Plant Pathology, 59: 348-357. En línea: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3059.2009.02221.x> Fecha de consulta: 3 de diciembre de 2021.
- Dita, M. 2017. La amenaza de la raza 4 tropical para América Latina y Caribe: Situación actual y opciones de manejo. Memorias del IV Congreso Latinoamericano y del Caribe de Plátanos y Bananos, XVIII Congreso Nacional Mexicano de Productores de Plátano. Tecomán, Colima, México. Del 27 al 30 de noviembre de 2017.
- Dita, R. M. A., Echevoyén, R. P. E. y Pérez, V. L. F. 2013. 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. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). San Salvador, El Salvador. 155p. En línea:

- https://www.researchgate.net/profile/Plutarco_Echegoyen/publication/256547836_Plan_d_e_contingencia_ante_un_brote_de_la_raza_4_tropical_de_Fusarium_oxysporum_f_sp_cubense_en_un_pais_de_la_region_del_OIRSA/links/02e7e5236098aa1954000000.pdf
Fecha de consulta: 16 de julio de 2021.
- Dita, R. M. A., Echegoyén, R. P. E. y Pérez, V. L. F. 2017. 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. Versión 2. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). San Salvador, El Salvador. 190p. En línea: https://www.oirsa.org/contenido/2018/Sanidad_Vegetal/Manuales%20OIRSA%202015-2018/Plan_conting_FOC_R4T_2017-V2-Final-FEB18-2017.pdf Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S., and Staver, C. P. 2018. *Fusarium* wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable management. *Frontiers in Plant Science*, 9(1468). En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6202804/> Fecha de consulta: 18 de julio de 2021.
- DGIF, 2019. Importaciones y decomisos de productos y subproductos de musaceas. Dirección General de Inspeccion Fitozoosanitaria (DGIF).
- DOA. 2019. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 in Thailand. Department of Agriculture (DOA) of Thailand. Pest Reports from Thailand. International Plant Protection Convention. En línea: <https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2019/11/detection-of-fusarium-oxysporum-f-sp-cubense-tropical-race-4-in-thailand/> Fecha de consulta: 25 de febrero 2020.
- DOF. 1996. NOM-010-FITO -1995. Norma Oficial Mexicana, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del plátano. Diario Oficial de la Federación. 6 p. en línea: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/fito/fito010.pdf> Fecha de consulta: 8 de julio de 2021.
- DOF. 2009. Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-010-FITO-1995, Por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del plátano. Diario Oficial de la Federación (DOF). En línea: <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3857/sagarpa1/sagarpa1.htm#:~:text=Se%20proh%C3%ADbe%20la%20introducci%C3%B3n%20a,con%20el%20listado%20que%20se> En línea: 9 de agosto de 2022.
- DOF. 2017. Decreto Promulgatorio del Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques, adoptado en Londres, el trece de febrero de dos mil cuatro, en el marco de la Organización Marítima Internacional (OMI). En línea: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5496682&fecha=08/09/2017#gsc.tab=0 Fecha de consulta: 28 de agosto del 2021.

- DOF. 2022. Ley de Migración. Última Reforma. DOF 29-04-2022. Diario Oficial de la Federación (DOF). En línea: <https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LMigra.pdf> Fecha de consulta: 4 de mayo de 2022.
- Dong, H., Fan H., Lei, Z., Wu, C., Zhou, D., and Li, H., 2019. Histological and gene expression analyses in banana reveals the pathogenic differences between Races 1 and 4 of banana *Fusarium* wilt pathogen. *Phytopathology*, 109:1029-1042. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/PHYTO-10-18-0384-R> Fecha de consulta: 8 de julio del 2021.
- Du, N., Shi, L., Yuan, Y., Li, B., Shu, S., Sun, J., and Guo, S. 2016. Proteomic analysis reveals the positive roles of the plant-growth-promoting rhizobacterium NSY50 in the response of cucumber roots to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* inoculation. *Frontiers in Plant Sciences*, 7:1859. En línea: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.01859/full> Fecha de consulta: 22 de diciembre de 2021.
- Duque, A. I. S., Cayón, G., Chaves, N., y Rodríguez, M. A. 2015. Endófitos asociados a la raíz de *Musa* spp. pueden actuar como microorganismos benéficos, promover el crecimiento de las plantas e inhibir patógenos. Memorias del III Congreso Latino-Americano e do Caribe de Bananas e Plátanos, no período de 18 a 20 de Agosto de 2015, na cidade de Corupá-Santa Catarina-Brasil. En línea: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/129755/1/Endofitos-Asociados.pdf> Fecha de consulta: 11 de julio de 2021.
- EcoInventos Green Technology. 2019. Un supermercado en Tailandia cambia el plástico por hojas de plátano. En línea: <https://ecoinventos.com/un-supermercado-en-tailandia-cambia-el-plastico-por-hojas-de-platano/> Fecha de consulta: 25 de febrero de 2020.
- Edeza-Urias, J. A. 2019. Promoción de crecimiento vegetal y control de la fusariosis vascular en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) por cepas bacterianas. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Sinaloa. Colegio de Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agronomía. 97 p. <http://cca.uas.edu.mx/images/posgrado/Tesis/COHORTE%202017-2019/113.%20Jorge%20Alberto%20Edeza%20Urias.pdf> Fecha de consulta: 17 de diciembre del 2021.
- EFE. 2020. México detiene a 800 migrantes centroamericanos en la frontera sur. En línea: México detiene a 800 migrantes centroamericanos en la frontera sur. <https://www.efe.com/efe/america/mexico/mexico-detiene-a-800-migrantes-centroamericanos-en-la-frontera-sur/50000545-4157560> Fecha de consulta: 25 de febrero de 2020.
- El Mundo CR, 2019. Costa Rica, en alerta para evitar la entrada de una plaga del banano. En línea: <https://www.elmundo.cr/costa-rica/costa-rica-en-alerta-para-evitar-introduccion-de-peligrosa-plaga-del-banano/> Fecha de consulta: 29 de octubre de 2019.
- Elwakil, M. A., Abdalla, M. E., and Mathur, S. B. 1998. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 1 and 2 associated with tomato seed in Egypt. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 1(2):92-96. En línea:

- https://www.researchgate.net/publication/26608343_Fusarium_oxysporum_fsp_Lycopersici_Races_1_and_2_Associated_with_Tomato_Seeds_in_Egypt Fecha de consulta: 29 de octubre de 2019.
- EPPO. 2020. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 in Mayotte. EPPO Global Database. En línea: <https://gd.eppo.int/reporting/article-6694> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- EPPO. 2021. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical race 4. EPPO Global Database. En línea: <https://gd.eppo.int> Fecha de consulta: 2 de julio de 2021.
- Evan, H. C., Holmes, K. A., and Thomas, S. E. 2003. Endophytes and mycoparasites associated with and indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cacao diseases. *Mycological Progress*, 2: 149-160. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11557-006-0053-4> Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- FAO. 2016. A floating threat. Sea containers spread pests and diseases. International Plant Protection Convention grapples with challenges of globalized trade. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). En línea: <http://www.fao.org/news/story/pt/item/412511/icode/> Fecha de consulta: 08 de mayo de 2019.
- FAO. 2017a. Banana market review and banana statistics 2015-16. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 14 p. En línea: <http://www.fao.org/3/a-i7410e.pdf> fecha de consulta: 2 de Julio de 2021.
- FAO. 2017b. Banana statistical compendium 2015-2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 26 p. En línea: <http://www.fao.org/3/a-i7409e.pdf> Fecha de consulta: 2 de Julio de 2021.
- FAO. 2021. Jornada de capacitación de la FAO sobre *Fusarium* R4T. Foro Mundial Bananero (FMB). Proyecto de emergencia sobre *Fusarium* R4T en América Latina y el Caribe Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). En línea: <https://www.fao.org/3/cb8084es/cb8084es.pdf> Fecha de consulta: 12 de enero de 2022.
- FAOSTAT. 2021. Datos. The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (FAOSTAT). En línea: <http://www.fao.org/faostat/es/#data>. Fecha de consulta 21 de noviembre de 2021.
- Fernández-López, J. 2018. Corrientes oceánicas. Hispanoamérica - historia e instituciones. En línea: <http://www.hispanoteca.eu/Hispanoam%C3%A9rica/Mapas/Corrientes%20oce%C3%A1nicas.htm> Fecha de consulta: 6 de noviembre de 2019.
- Feuillet-Hurtado, C., Macias-Pintor, D., y Chito-Ceron, E. 2011. Plantas útiles para la elaboración de artesanías en el Departamento del Cauca (Colombia). *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 15(2):40-59. En línea:

- <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v15n2/v15n2a03.pdf> Fecha de consulta: 24 de febrero de 2020.
- Fish, 1970. The history of plant pathology in Australia. The Annual Review of Phytopathology 8:13-36. En línea: <https://appsnet.org/History/THE%20HISTORY%20OF%20PLANT%20PATHOLOGY%20IN%20AUSTRALIA.pdf> Fecha de consulta: 6 de julio de 2021.
- Flores-López, H. E., Chávez-Durán, A. A., Ruíz-Corral, J. A., De la Mora-Orozco, C., Ramírez-Ojeda, G., y Martínez-Díaz, T. E. 2014. Análisis de la cadena agroalimentaria del plátano (*Musa paradisiaca*) en Colima, con énfasis en el sistema de producción y potencial productivo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacífico Centro, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco. Libro Técnico Núm 2.
- Forsyth, L. M., Smith, L. J., and Aitken, E. A. B. 2006. Identification and characterization of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* capable of increasing and decreasing *Fusarium* wilt severity. Mycological Research, 110:929-935. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16891106> Fecha de consulta: 9 de julio de 2021.
- Fourie, G., Steenkamp, E. T., Gordon, T. R., and Viljoen, A. 2009. Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* vegetative compatibility groups. Applied and Environmental Microbiology, 75(14):4770-4781. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2708428/> Fecha de consulta: 3 de diciembre de 2021.
- Gajera, H., Domadiya, R., Patel, S., Kapopara, M., and Golakiya, B. 2013. Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system - a review. Current Research in Microbiology and Biotechnology, 1(4):133-142. En línea: https://www.researchgate.net/publication/267571641_Molecular_mechanism_of_Trichoderma_as_bio-control_agents_against_phytopathogen_system_-_a_review Fecha de consulta: 11 de julio de 2021.
- Gao, Y. Y., He, L. F., Li, B. X., Mu, W., Lin, J., and Liu, F. 2017. Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* to six fungicides and reduction in incidence and severity of chili anthracnose using pyraclostrobin. Australasian Plant Pathology, DOI 10.1007/s13313-017-0518-8 Fecha de consulta: 3 de diciembre de 2021.
- García-Bastidas, F., Ordóñez, N., Konkol, J., Al-Qasim, M., Naser, Z., Abdelwali, M., Salem, N., Waalwijk, C., Ploetz, R. C., and Kema, G. H. J. 2014. First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 associated with Panama disease of banana outside Southeast Asia. Plant Disease, 98(5):694. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-09-13-0954-PDN> Fecha de consulta: 16 de julio de 2021.
- García-Bastidas, F. A., Quintero-Vargas, J. C., Ayala-Vásquez, M., Schermer, T., Seidl, M. F., Santos-Paiva, M., Noguera, A. M., Aguilera-Galvez, C., Wittenberg, A., Hofstede, R., Sorensen, A., and Kema, H. J. 2020a. First report of *Fusarium* Wilt Tropical Race 4 in

- Cavendish bananas caused by *Fusarium odoratissimum* in Colombia. *Plant Disease*, 104(3): 994. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-09-19-1922-PDN>.
- García-Bastidas, F. A., Pachacama-Gualotuña, S. F., Jarrín-Escudero, D. A., Iza-Arteaga, M. L., Ayala-Vásquez, M., Emiro-Ortiz, H., Dix-Luna, O. J., Echegaray-Buezo, J., Farfán-Menéndez, D., Bartolini-Martínez, I., Beltrán-Montoya, C., y Zeballos-Céspedes, G. 2020b. Guía andina para el diagnóstico de *Fusarium* Raza 4 Tropical (R4T). *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (syn. *Fusarium odoratissimum*) agente causal de la marchitez por *Fusarium* en musáceas (plátanos y bananos). En línea: <https://www.comunidadandina.org/StaticFiles/202072181721Guia%20Andina%20Final.pdf> Fecha de consulta: 3 de diciembre de 2021.
- GIFMM. 2018a. Colombia - Informe Flash MIRA - Riohacha (La Guajira). Situación de frontera: asentamientos humanos informales: Villa del Sur, Brisas del Norte. Sectores: Majayura (segunda etapa), Villa Campo Alegre, Nuevo Mileno y Resguardo indígena, Las Delicias. 27/08/2018 al 29/08/2019. Grupo Intergencial de Flujos Migratorios Mixtos (GIFMM). En línea: https://www.humanitarianresponse.info/sites/www.humanitarianresponse.info/files/assessments/29082018_flash_riohacha_vf.pdf Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2019.
- GIFMM, 2018b. Respuesta en la Guajira. Grupo Intergencial de Flujos Migratorios Mixtos. En línea: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/document%285%29.pdf> Fecha de consulta: 07 de noviembre de 2019.
- Gnanasekaran, P., Salique, M., Panneerselvam, A., and Umamageswari, K. 2015. *In vitro* biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* by using some Indian medicinal plants. *International Journal of Current Research and Academy Review*, 3(11): 107-116. <http://www.ijcrar.com/vol-3-11/P.%20Gnanasekaran,%20et%20al.pdf> Fecha de consulta 10 de junio de 2021.
- Gopi, M, and Thangavelu, R. 2014. Suppression of *Fusarium* wilt disease of banana by zimmu (*Allium cepa* L. x *Allium sativum* L.) leaf extract. *African Journal of Microbiology Research*, 8(31): 2904-2915. En línea: https://krishi.icar.gov.in/jspui/bitstream/123456789/1042/1/Suppression_of_Fusarium_wilt_disease_of_banana_by_.pdf fecha de consulta: 10 de julio de 2021.
- Grupo Banco Mundial. 2019. Tráfico marítimo de contenedores (TEU: unidades equivalentes a 20 pies). En línea: <https://datos.bancomundial.org/indicador/IS.SHP.GOOD.TU> Fecha de consulta: 6 de noviembre de 2019.
- Gómez-Berrio, A. M. 2011. Transformación del banano en Urabá: experiencias pasadas, iniciativas, presentes y nuevas oportunidades de industrialización. Tesis de maestría en administración. Medellín Universidad Eafit, Escuela de Administración. 69 p. En línea: https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/216/AnaMaria_GomezBerrio_2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y Fecha de consulta: 04 de noviembre de 2019.
- Guzmán, M., Carr, C., Villalta, R., Pérez, L., Alfaro, F., Sánchez, M., Conejo, A. M., y Sandoval, A. 2017. Investigación como soporte para la prevención de la entrada de la Raza 4 Tropical de *Fusarium* Costa Rica. Memorias del IV Congreso Latinoamericano y del Caribe de

- Plátanos y Bananos. XVIII Congreso Nacional Mexicano de Productores de Plátano. Tecomán, Colima, México. Del 27 al 30 de noviembre del 2017.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95-98. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14998u1.29 Fecha de consulta 3 de diciembre de 2021.
- Harman, G. E., Howel, C. R., Veterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology, 2:43-56. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15035008> Fecha de consulta: 8 de Julio de 2021.
- Hennessy, C., Walduck, G., Daly, A., and Padovan, A. 2005. Weed host of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 in northern Australia. Australasian Plant Pathology, 34: 115-117. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1071/AP04091> Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Herrera, A. Y. 1988. Nuevos registros y nuevas combinaciones de gramíneas del Valle de México. Boletín de la Sociedad Botánica de México, 48: 19-22.
- Ho, Y. N., Chiang, H. M., Chao, C. P., Su, C. C., Hsu, H. F., Guo, C. T., Hsieh, J. L., and Huang, C. C. 2015. *In planta* biocontrol of soilborne *Fusarium* wilt of banana through a plant endophytic bacterium, *Burkholderia cenocepaea* 869T2. Plant Soil, 387:295-306. En línea: <https://app.dimensions.ai/details/publication/pub.1033639155> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Hwang, S. C., and Ko, W. H. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. Plant disease, 88 (6): 580-588. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS.2004.88.6.580> Fecha de consulta 7 de julio de 2021.
- Huang, B. Z., Xu, L. B. and Molina, A. B. 2005. Preliminary evaluation of IMTP-III varieties and local cultivars against *Fusarium* wilt disease in southern China. p.187-191. In: A. B. Molina, V. N. Roa, I. Van den Bergh and K. H. Borromeo (Eds.), Advancing Banana and Plantain R&D in Asia and the Pacific – Vol. 13. Proceedings of the 3rd BAPNET Steering Committee Meeting held in Jakarta, Indonesia, 6-9 October 2003. INIBAP, Los Baños, Laguna, Philippines. En línea: http://banana-networks.org/Bapnet/files/2013/06/BAPNET-Proceedings_China_2004.pdf Fecha de consulta: 20 de julio de 2021.
- Huang, Y. H., Wang, R. C., Li, C. H., Zuo, C. W., Wei, Y. R., Zhang, L. and Yi, G. J. 2012. Control of *Fusarium* wilt in banana with chinese leek. European Journal of Plant Pathology 134: 87–95. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3491907/pdf/nihms-406100.pdf> Fecha de consulta: 20 de julio de 2021.
- Huang, J., Pang, Y., Zhang, F., Huang, Q., Zhang, M., Tang, S., Fu, H., and Li, P. 2019. Suppression of *Fusarium* wilt of banana by combining acid soil ameliorant with biofertilizer made from *Bacillus velezensis* H-6. European Journal of Plant Pathology, 154:

- 585-596. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10658-019-01683-5>
Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Hung, T. N., Hung, N. Q., Mostert, D., Viljoen, A., Chao, C. P., and Molina, A. B. 2018. First report of *Fusarium* wilt on Cavendish bananas, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (VCG 01213/16), in Vietnam. *Plant Disease*, 102(2): 448. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-08-17-1140-PDN> Fecha de consulta: 20 de julio de 2021.
- ICA. 2019. Resolución No. 00011912. Por medio de la cual se declara el estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de la enfermedad conocida como marchitez de las musáceas por Foc R4T. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). 22 p. En línea: <https://www.ica.gov.co/getattachment/499e9fe5-1c2c-482a-87a9-62ae25f02f53/2019R11912.aspx> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- IMA. 2021. Mycobank Database. Fungal Databases, Nomenclature and Species Banks. International Mycological Association (IMA). En línea: <http://www.mycobank.org> Fecha de consulta: 13 de julio de 2021.
- IMO. 2017. International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments, 2004. International Marine Organization (IMO). En línea: <http://www.imo.org/en/OurWork/Environment/BallastWaterManagement/Documents/BWM.2-Circ.13-Rev-4.pdf> Fecha de consulta 26 de febrero de 2019.
- INE. 1999. Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Calakmul. Instituto Nacional de Ecología (INE). 273p. En línea: <http://www.paot.mx/centro/ine-semarnat/anp/AN08.pdf> Fecha de consulta: 15 de julio de 2021.
- INECC. 2007. Parque Nacional Dzibilchantún. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). En línea: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/108/yuc.html> Fecha de consulta: 15 de julio de 2021.
- IOM. 2018. Global Migration Indicators 2018. International Organization for Migration (IOM). En línea: https://publications.iom.int/system/files/pdf/global_migration_indicators_2018.pdf Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2019.
- IPPC. 2013a. New banana disease found in Mozambique (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4). En línea: <https://www.ippc.int/en/countries/mozambique/pestreports/2013/09/new-banana-disease-found-in-mozambique-fusarium-oxysporum-fspcubense-tropical-race-4/> Fecha de consulta: 16 de julio de 2021.
- IPPC. 2013b. Specification 51. Minimizing pest movement by sea containers and conveyances in international trade. International Plant Protection Convention. En línea: <https://www.ippc.int/es/publications/specification-51-minimizing-pest-movement-sea-containers-and-conveyances-international/> Fecha de consulta: 26 de febrero de 2020.

- IPPC. 2015. Lista de Plagas Reglamentadas de México. International Plant Protection Convention (IPPC). En línea: <https://www.ippc.int/en/countries/mexico/reportingobligation/3> Fecha de consulta: Fecha de consulta: 14 de agosto de 2019.
- IPPC. 2018. Guidelines on sea container surveys for NPPOs. International Plant Protection Convention (IPPC). En línea: https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2019/03/Sea_Container_Cleanlines_Survey_SCTF_Final_20181116.pdf Fecha de consulta: 24 de febrero de 2019.
- IPPC. 2019a. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in Thailand. International Plant Protection Convention (IPPC). En línea: <https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2019/11/detection-of-fusarium-oxysporum-f-sp-cubense-tropical-race-4-in-thailand/> Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- IPPC. 2019b. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) 11 Pest risk analysis for quarantine pests. International Plant Protection Convention (IPPC). En línea: <https://www.fao.org/3/j1302e/j1302e.pdf> Fecha de consulta: 1 de noviembre de 2021.
- IPPC. 2021. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) 8 Determination of pest status in an area. International Plant Protection Convention (IPPC). En línea: <https://www.fao.org/3/x2968e/x2968e.pdf> Fecha de consulta: 1 de noviembre de 2021.
- IPPC. 2022a. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) 5 Glossary of phytosanitary terms. International Plant Protection Convention (IPPC). En línea: <https://www.fao.org/3/mc891e/mc891e.pdf> Fecha de consulta: 1 de noviembre del 2021.
- IPPC. 2022b 1e. List of Regulated Pests. International Plant Protection Convention (IPPC). En línea: <https://www.ippc.int/en/countries/all/regulatedpests/> Fecha de consulta: 1 de noviembre de 2021.
- Izquierdo-García, L. F., Carmona, S. L., Zuluaga, P., Rodríguez, G., Dita, M., Betancourt, M., and Soto-Suárez, M. 2021. Efficacy of disinfectants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 isolated from La Guajira, Colombia. *Journal of Fungi*, 7:297. 12 p. En línea: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/4/297> Fecha de consulta: 4 de noviembre de 2021.
- Jeschke, P., Witschel, M., Kramer, W., and Schirmer, U. 2019. Modern crop protection compounds, 3rd Edition. Wiley-VCH. 1962 p. <https://www.wiley.com/en-us/Modern+Crop+Protection+Compounds%2C+3rd+Edition-p-9783527340897> Fecha de consulta: 11 de agosto de 2021.
- Jumjunidang, R., and Hermanto, C. 2012 confirm the status of VCG *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in West Sumatera Indonesia. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science* 7(4): 244-249. En línea: <https://pdfs.semanticscholar.org/4ad8/f6e08f8bdf5e1639831c870306a0fc0de580.pdf> Fecha de consulta: 30 de diciembre de 2019.

- Karangwa, P., Monster, D., Ndayihanzamaso, P., Dubois, T., Niere, B., Felde, A. Z., Shouten, A., Blomme, G., Beed, F., and Viljoen, A. 2018. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in East and Central Africa. *Plant Disease*, 102: 552-560. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-17-0282-RE> Fecha de consulta: 10 de junio de 2021.
- Kavino, M., and Manoranjitham, S. K. 2018. *In vitro* bacterization of banana (*Musa* spp.) with native endophytic and rhizospheric bacterial isolates: Novel ways to combat *Fusarium* wilt. *European Journal of Plant Pathology*, 151: 371-387. En línea: <https://en.x-mol.com/paper/article/1335489338024620155> Fecha de consulta: 3 de abril de 2021.
- Kema, G. H. J. 2015. Detection, identification, and the epidemiology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, Tropical Race 4. *Memorias del III Congreso Latino-Americano e do Caribe de Bananas e Plátanos, no período de 18 a 20 de Agosto de 2015, na cidade de Corupá-Santa Catarina-Brasil*. En línea: <http://banana-networks.org/musalac/files/2015/11/FE003-Luis-P%C3%A9rez-Vicente--final.pdf> Fecha de consulta: 3 de julio de 2021.
- Khan, B., Akash, Z., Asad, S., Javed, N., Rajput, N., Jabbar, A., Din, W.U., and Atif, R. M. 2017a. Antagonistic potential of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* associated with panama wilt of banana. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 29 (1): 111-116. En línea: https://www.researchgate.net/publication/318361868_Antagonistic_Potential_of_Trichoderma_Harzianum_against_Fusarium_oxysporum_f_sp_cubense_Associated_with_Panama_Wilt_of_Banana Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Khan, N., Maymon, M., and Hirsch, A. M. 2017b. Combating *Fusarium* infection using *Bacillus*-based antimicrobials. *Microorganism*, 5:75. En línea: doi:10.3390/microorganisms5040075 Fecha de consulta: 04 de octubre de 2021.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35:1547-1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096 Fecha de consulta 10 de junio de 2021
- Kumari, A., and Kumar, H. 2015. Association of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* species with cultured shoot apices of banana (*Musa acuminata*) cultivars. *The Bioscan*, 10(2):629-633. En línea: https://www.researchgate.net/publication/305306849_Association_of_nonpathogenic_Fusarium_oxysporum_species_with_cultured_shoot_apices_of_banana_Musa_acuminata_cultivars Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Landa, B., Hervás, A., Bettiol, W., and Jiménez-Díaz, R. 1997. Antagonistic activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Phytoparasitica*, 25:305-318. En línea: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/12764/1/1997AP039BettiolAntagonistic3360.PDF> fecha de consulta 04 de octubre del 2021.
- Lara-Fiallos, D. F. 2009. Uso de bacterias endofíticas para el control biológico del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) en el cultivar Gros Michel (AAA). Tesis sometida a consideración de la Escuela de Posgrado como requisito para optar por el grado de Magister

- Scientiae en Agricultura Ecológica. 68 p. En línea: https://agritrop.cirad.fr/556130/1/document_556130.pdf Fecha de consulta: 17 de julio de 2021.
- Li, X. G., Zhang, T. L., Wang, X. X., Hua, K., Zhao, L., and Han, Z. M. 2013. The composition of root exudates from two different resistant peanut cultivars and their effects on the growth of soil-borne pathogen. *International Journal of Biological Sciences*, 9(2): 164-173. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23412138> Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Li, W., Chen, J., Duan, Y., Pang, Z., Sun, D., Hu, Y., Hu, H., and Xie, J. 2018. The pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 on three model plants. *Acta Horticulturae Sinica*, 45(4):743-752. En línea: <http://www.ahs.ac.cn/EN/abstract/abstract6328.shtml> Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Liotta, E. 2019. Algunos supermercados en Tailandia y Vietnam ya empezaron a usar hojas de plátano en lugar de plástico (Traducido por Silva, D.). En línea: https://www.vice.com/es_latam/article/43zj8b/vice-supermercados-tailandia-y-vietnam-y-usan-hojas-de-platano-no-plastico Fecha de consulta: 29 de octubre de 2019.
- Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Lamprecht, S. C., and Crous, P.W. 2019. Epitypification of *Fusarium oxysporum* – clearing the taxonomic chaos. *Parsoonia*, 43:1-47. En línea: <https://www.ingentaconnect.com/content/nhn/pimj/pre-prints/content-nbc-persoonia-0481;jsessionid=r0rgvoeppbhs.x-ic-live-03> Fecha de consulta: 13 de julio de 2021.
- Maryani, N., Lombard, L., Poerba, Y. S., Subandiyah, S., Crous, P. W., and Kema, G. H. J. 2019. Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Studies in Mycology*, 92: 155–194. En línea: https://www.studiesinmycology.org/sim/Sim92/Phylogeny_and_genetic_diversity_of_the_banana_Fusarium_wilt_pathogen_Fusarium_oxysporum.pdf Fecha de consulta 20 de julio de 2021.
- Maymon, M., Shpatz, U., Harel, Y. M., Levy, E., Elkind, G., Teverovsky, E., Gofman, R., Haberman, A., Zemorski, R., Ezra, N., Levi, Y., Or, G., Galpaz, N., Israeli, Y., and Freeman, S. 2018. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 causing *Fusarium* wilt of Cavendish bananas in Israel. *Plant Disease*, 102(12): 2655. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-05-18-0822-PDN> Fecha de consulta: 18 de julio de 2021.
- Médicos sin Fronteras. 2019. Las principales rutas migratorias del mundo. En línea: <https://www.msf.es/actualidad/las-principales-rutas-migratorias-del-mundo> Fecha de consulta: 25 de febrero de 2020.
- Meldrum, R. A., Daly, A. M., Tran-Nguyen, L. T. T., and Aitken, E. A. B. 2013. The effect of surface sterilants on spore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4. *Crop Protection*, 54:194-198. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.08.014> Fecha de consulta: 10 de junio de 2021.

- Menzies, J. G., and Jarvies, W. R. 1994. The infestation of tomato seed by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Plant Pathology, 43: 378-386. En línea: https://www.researchgate.net/publication/230435999_The_infestation_of_tomato_seed_by_Fusarium_oxysporum_fsp_radicis-lycopersici Fecha de consulta: 29 de octubre de 2019.
- Mintoff, S. J. L., Nguyen, T. V., Kelly, C., Cullen, S., Hearnden, M., Williams, R., Daniells, J. W., and Tran-Nguyen, L. T. T. 2021. Banana cultivar field screening for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Tropical Race 4 in the northern territory. Journal of Fungi, 7(8): 627. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8400552/pdf/jof-07-00627.pdf> Fecha de consulta: 20 de julio de 2022.
- Mintoff, S. 2022. Banana field screening for resistance to Foc TR4 in the northern territory of Australia. Webinar TR4 Global Network - TR4-Resistant banana varieties: development, introduction and evaluation. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). En línea: 17 de mayo del 2022. <https://www.youtube.com/watch?v=jgzFC0MpFDs> Fecha de consulta: 21 de julio de 2022.
- Molina, A. B., Fabregar, E. G., Sinohin, V. O., Fourie, G., and 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. En línea: https://www.researchgate.net/publication/288947495_Tropical_Race_4_of_Fusarium_oxysporum_f_sp_cubense_causing_new_Panama_wilt_epidemics_in_Cavendish_varieties_in_the_Philippines Fecha de consulta: 23 de julio de 2021.
- Molina, A. B. 2009. Status of the occurrence of banana *Fusarium* wilt tropical race 4 in Asia. pp. 13-17. In: Pocasangre, L.E. (Ed.). Reunión de grupos de interés sobre los riesgos de la Raza Tropical 4 de *Fusarium*, BBTV y otras plagas de musáceas para la región del OIRSA, America Latina y el Caribe. En línea: https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Reunion_de_grupos_de_inter%c3%a9s_sobre_los_riesgos_de_la_raza_tropical_4_de_Fusarium_BBTV_y_otros_Plagas_de_Musaceas_para_la_Region_del_OIRSA_America_Latina_y_el_Caribe_1388.pdf Fecha de consulta: 9 de julio de 2021.
- Molina, A. B., Fabregar, E., Sinohin, V. G., Yi, G., and Viljoen, A. 2009. Recent occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in Asia. Acta Horticulturae, (828): 109-115. En línea: [https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/12191/Molina_Recent\(2009\).pdf?sequence=1](https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/12191/Molina_Recent(2009).pdf?sequence=1) Fecha de consulta: 16 de julio de 2019.
- Molina, A. B. 2014. Mitigating banana *Fusarium* wilt Tropical Race 4 through a farmer-participatory approach of developing disease management strategies. Annual report. En línea: http://banana-networks.org/Bapnet/files/2014/02/PH-C34002-Technical-Component_FINALTR.pdf Fecha de consulta: 6 de noviembre de 2019.
- Molina, A. B., Fabregar, E., Sinohin, V. G., Yi, G., and Viljoen, A. 2009. Recent occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in Asia. Acta Horticulturae, (828): 109-115. En línea:

- [https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/12191/Molina_Recent\(2009\).pdf?sequence=1](https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/12191/Molina_Recent(2009).pdf?sequence=1) Fecha de consulta: 16 de julio de 2019.
- Moore, N. Y., Pegg, K. G., Allen, R. N., and Irwin, J. A. G. 1993. Vegetative compatibility and distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture, 33(6):797-802. En línea: <http://www.publish.csiro.au/an/EA9930797> Fecha de consulta: 16 de julio de 2021.
- Nadal-Medina, R., Manzo-Sánchez, G., Orozco-Romero, J., Orozco-Santos, M., y Guzmán-Gonzalez, S. 2009. Diversidad genética de bananos y plátanos (*Musa* spp.) determinada mediante marcadores RAPD. Revista Fitotecnia Mexicana, 32(1):1-7. En línea: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v32n1/v32n1a1.pdf> Fecha de consulta: 18 de julio de 2022.
- Ndayihanzamaso, P., Karangwa, P., Mostert, D., Mahuku, G., Blomme, G., Beed, F., Swennen, R., and Viljoen, A. 2020. The development of a multiplex PCR assay for the detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* lineage VI strains in East and Central Africa. European Journal Plant Pathology, 158: 495-509. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10658-020-02092-9> Fecha de consulta: 10 junio 2021.
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., and Viljoen, A. 2006. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing *Fusarium* wilt of banana. Plant Pathology, 55: 217-223. En línea: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3059.2006.01344.x> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., and Viljoen, A. 2007. Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. Crop Protection, 26:697-705. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219406001888> Fecha de consulta: 21 de noviembre de 2021.
- Nguyen, T. V., Tran-Nguyen, L. T. T., Wright, C. L., Trevorrow, P., and Grice, K. 2019. Evaluation 1 of the efficacy of commercial disinfectants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race 1 and Tropical Race 4 propagules. Plant Disease, 103(4): 721-728. DOI: 10.1094/PDIS-03-18-0453-RE Fecha de consulta: 16 de julio de 2021.
- Niwas, R., Chand, G., and Azad, C. S. 2020. *In vitro* evaluation of fungicides against growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing Panama wilt disease of banana. International Journal of Chemical Studies, 8(1):191-194. <https://www.chemijournal.com/archives/2020/vol8issue1/PartB/7-6-182-391.pdf> fecha de consulta: 22 de enero de 2021.
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., and Ploetz, R. C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 95(5):2044-2049. En línea: <https://www.pnas.org/content/pnas/95/5/2044.full.pdf> fecha de consulta 20 de enero de 2021.
- OECD. 2010. Foreword to "Safety Assessment of Transgenic Organisms". Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Volumen 4. Section 2. Bananas and

- plantains (*Musa* spp.). OECD Consensus Documents, OECD Publishing, Paris. En línea: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264096158-6-en.pdf?expires=1658427745&id=id&accname=guest&checksum=0F0A72A813CA52713935615AED98B5EB> Fecha de consulta: 21 de julio de 2022.
- OIRSA. 2017. Costa Rica entre países que lideran acciones para minimizar riesgo de fusariosis del banano (FOC R4T). Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). En línea: <https://www.oirsa.org/noticia-detalle.aspx?id=3453> Fecha de consulta 25 de febrero de 2020.
- OIRSA. 2019. Realizan simulacro de actuación ante posible brote de Foc R4T en Guatemala. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). En línea: <https://www.oirsa.org/noticia-detalle.aspx?id=7828> Fecha de consulta: 25 de febrero de 2020.
- O'Neill, W. T. O., Henderson, J., Pattemore, J. A., O'Dwyer, C., Perry, S., Beasley, D. R., Tan, Y. P., Smyth, A. L., Goosem, C. H., Thomson, K. M., Hobbs, R. L., Grice, K. R. E., Trevorrow, P., Vawdrey, L. L., Pathania, N., and Shivas, R. G. 2016. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 strain in northern Queensland. Australasian Plant Disease Notes 11(1): 33. En línea: <https://doi.org/10.1007/s13314-016-0218-1> Fecha de consulta: 12 de febrero de 2020.
- Ordoñez, N., García-Bastidas, F., Laghari, H. B., Akkary, M. Y., Harfouche, E. N., al-Awar, B. N., and Kema, G. H. J. 2016. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 causing Panama disease in Cavendish bananas in Pakistan and Lebanon. Plant Disease, 100(1):209. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-12-14-1356-PDN> Fecha de consulta: 16 de julio de 2021.
- Orozco-Cuello, C., Sanandres-Campis, E., y Molinares-Guerrero, I. 2012. Colombia, Panamá y la Ruta Panamericana: encuentros y desencuentros. Revista digital de Historia y Arqueología desde el Caribe colombiano, 9(16):101-130. En línea: <http://www.scielo.org.co/pdf/memor/n16/n16a05.pdf> Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2019.
- Orozco-Santos, M. 2013. Historia y situación actual del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) en México. Revista Mexicana de Fitopatología, 31(Suplemento 1): S35. En línea: <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/docs/suplemento.pdf>. Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Orozco-Santos, M. 2017. Plátano. pp. 220-244. In: Agenda técnica agrícola de Colima. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Ciudad de México.
- Özarslandan, M., and Akgül, D. S. 2020. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race 4 causing *Fusarium* wilt disease of banana in Turkey. Plant Disease, Ahead of print. En línea: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1881-PDN>. Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Palmero, D., Iglesias, C., and Tello, J. C. 2006. Estudio preliminar de la presencia de especies de *Fusarium* en el agua del río Albuñol y en los fondos marinos de la costa almeriense y

- granadina. Memorias del VII congreso SEAE Zaragoza. 11 p. en línea: https://www.researchgate.net/publication/235898303_Estudio_preliminar_de_la_presencia_de_especies_de_Fusarium_en_el_agua_del_rio_albunol_y_en_los_fondos_marinos_de_la_costa_Almeriense_y_Granadina Fecha de consulta: 05 de noviembre de 2019.
- Palmero-Llamas, D. 2008. Biogeografía y patología del género *Fusarium* en ambientes salinos y semiáridos del litoral Mediterráneo de España. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. 190 p. En línea: https://www.researchgate.net/publication/28282128_Biogeografia_de_especies_de_Fusarium_en_el_litoral_mediterraneo_de_Espana Fecha de consulta: 6 de noviembre de 2019.
- Paul, J. Y., Becker, D. K., Dickman, M. B., Harding, R. M., Khanna, H. K., and Dale, J. L. 2011. Apoptosis-related genes confer resistance to *Fusarium* wilt in transgenic ‘Lady Finger’ bananas. *Plant Biotechnology Journal*, 9:1141-1148. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21819535> Fecha de consulta: 15 de julio de 2021.
- Paparu, P., Dubois, T., Gold, C. S., Niere, B., Adipala, E., and Coyne, D. 2006. Colonisation pattern of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, a potential biological control agent, in roots and rhizomes of tissue cultured *Musa* plantlets. *Annals of Applied Biology*, 149:1-8. En línea: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1744-7348.2006.00064.x> Fecha de consulta: 15 de julio de 2021.
- Pegg, K. G., Coates, L. M., O’Neill, W. T., and Turner, D. W. 2019. The epidemiology of *Fusarium* wilt of banana. *Frontiers in Plant Science*, 10:1365. En línea: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.01395/full> fecha de consulta: 4 de noviembre de 2021.
- Pérez-Hernández, A., Porcel-Rodríguez, E., and Gómez-Vázquez, J. 2017. Survival of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* and fungicide application, soil solarization, and biosolarization for control of crown and foot rot of Zucchini squash. *Plant Disease*, 101:1507-1514. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/PDIS-06-16-0883-RE> Fecha de consulta: 1 de agosto de 2022.
- Pérez-Vicente, L., Batlle-Viera, A., Chacón-Benazet, J., Montenegro-Moracen, V. 2009. Eficacia de *Trichoderma harzianum* A34 en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal de la marchitez por *Fusarium* o mal de Panamá de los bananos en Cuba. *Fitosanidad*, 13(4):259-263. En línea: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1562-30092009000400006 Fecha de consulta: 19 de julio de 2021.
- Pérez-Vicente, L. F., Dita, M. A., Martínez- de la Parte, E. 2014. Technical manual prevention and diagnostic of *Fusarium* wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (TR4). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). En línea: <http://www.fao.org/3/a-br126e.pdf> Fecha de consulta: 13 de Julio de 2021.
- Pérez-Vicente, L. y Martínez de la Parte, E. 2015. Efecto de un desinfectante de superficies a base de amonio cuaternario sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Dickeya paradisiaca* y *Colletotrichum musae*. Memorias del III Congreso Latino-Americano e do Caribe de

- Bananas e Plátanos, no período de 18 a 20 de Agosto de 2015, na cidade de Corupá-Santa Catarina-Brasil. En línea: <http://banana-networks.org/musalac/files/2015/11/FE003-Luis-P%C3%A9rez-Vicente--final.pdf> Fecha de consulta: 13 de Julio de 2021.
- PHA. 2019. Panama disease. Fact sheet. Plant Health Australia. Queensland Government. Australian Banana Growers Council Inc. en línea: <http://www.planthealthaustralia.com.au/wp-content/uploads/2013/03/Panama-disease-FS.pdf> Fecha de consulta: 19 de julio de 2021.
- Philexport. 2018. International Banana Conference, 2018 on october 11-12, 2018 at the SMX Convention Center, SM Lanang Premier, Lanang, Davao City. Consultado en línea: <https://www.philexportdavao.org/ibancon> Fecha de consulta: 31 de octubre de 2019.
- Pineda-Cabrales, M. A., y Rosa-Salazar, L. E. 2006. Elaboración de artesanías con el pseudotallo y hojas de plátano en Córdoba, Colombia S. A. XVII Reuniao Internacional da Associação para a Cooperaçao nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na América Tropical. Joinville-Santa Catarina, Brasil. p. 407.
- Pineda-Mendoza, D. Y. 2015. Potencial de tres cepas de rizobacterias como antagonistas de *Rhizoctonia solani* en chile serrano (*Capsicum annuum* L.). Tesis de maestría en Edafología. Colegio de Posgraduados, Área de Microbiología; 2015. Montecillo, Estado de México. México. 60 p.
- Pineda-Mendoza, D. Y., Almaraz, J. J., Lara-Hernandez, M. E., Arteaga-Garibay, R., y Silva-Rojas, H. V. 2019. Cepas de bacterias aisladas de esporomas de hongos ectomicorrízicos promueven el crecimiento vegetal. ITEA-Información Técnica Económica Agraria, 115(1): 4-17. En línea: <https://doi.org/10.12706/itea.2018.027> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Plan Regional de Respuesta para Refugiados y Migrantes. 2019. R4V. Respuesta a Venezolanos. Plataforma de Coordinación para Refugiados y Migrantes de Venezuela. 110 p. En línea: <https://www.refworld.org/es/pdfid/5cbe52304.pdf> Fecha de consulta 8 de noviembre de 2019.
- Ploetz, R. C., and Pegg, K. 1997. *Fusarium* wilt of banana and Wallace's line: Was the disease originally restricted to his Indo-Malayan region?. Australasian Plant Pathology, 26(4): 239-249. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1071/AP97039> Fecha de consulta: 13 de Julio de 2021.
- Ploetz, R. C. and Pegg, K. G. 2000. *Fusarium* wilt. pp. 143-159. In: D.R. Jones (ed.) Diseases of Banana, Abacá and Enset. CABI Publishing, Wallingford, UK. En línea: <https://trove.nla.gov.au/work/16021403?q&versionId=18800753> Fecha de consulta: 12 de julio de 2021.
- Ploetz, R. C. 2000. Panama disease: a classic and destructive disease of banana. Plant Health Progress. En línea: <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/management/bananapanama/> Fecha de consulta: 18 de julio de 2021.

- Ploetz, R. C. 2005. Panama disease: an old nemesis rears its ugly head part 2: The Cavendish era and beyond. Online. APSnet Features. En línea: <https://www.apsnet.org/edcenter/apsnetfeatures/Documents/2005/PanamaDisease2.pdf> Fecha de consulta: 10 de julio de 2021.
- Ploetz, R. 2009. Generación de la raza tropical 4 del Mal de Panamá: evaluación de riesgo y un plan de acción para evaluar el problema. 1p. In: Reunión de grupos de interés sobre los riesgos de la raza 4 de *Fusarium*, BBTv y otras plagas de musáceas para la región del OIRSA, América Latina y el Caribe. Pocasangre, L.E. (Comp.). 2009. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). El Salvador. 72 p. en línea: <https://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/detail/reunion-de-grupos-de-interes-sobre-los-riesgos-de-la-raza-tropical-4-de-fusarium-bbtv-y-otras-plaga/> Fecha de consulta: 18 de julio de 2021.
- Ploetz, R. C., Kema, G. H. J., and Ma, L. J. 2015. Impact of diseases on export and smallholder production of banana. Annual Reviews of Phytopathology, 53:269-288. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26002290> Fecha de consulta: 24 de septiembre de 2019.
- Ploetz, R. 2018. *Fusarium* wilt. pp. 207-228. In: Jones, D.R. (Ed.). Diseases of Banana, Abacá, and Enset. CABI publishing. En línea: <https://books.google.com.mx/books?id=HeWCDwAAQBAJ&pg=PA210&lpg=PA210&dq=Panama+disease+belice+1913&source=bl&ots=zZ9heNd4FZ&sig=ACfU3U0Ja8JJnKiPwMYIAItIszG364kP7w&hl=es&sa=X&ved=2ahUKewjixuiVwLrkAhVEQ6wKHbRZACMQ6AEwDXoECAgQAQ#v=onepage&q&f=true> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Portal de datos abiertos UNAM. 2019. Colecciones Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). En línea: <https://datosabiertos.unam.mx/> Fecha de consulta 15 de julio de 2021.
- Procolombia. 2019. Perfil de logística desde Colombia hacia México. Exportaciones Turismo Inversión Marca País. 10 p. en línea: <https://www.colombiatrader.com.co/herramientas-del-exportador/perfiles-logisticos-de-exportacion-por-pais/perfil-logistico-de-exportacion-mexico> fecha de consulta: 6 de noviembre de 2019.
- ProMusa. 2017. Infected nursery plants suspected in TR4 outbreak. Mobilizing banana science for sustainable livelihoods. En línea: <http://www.promusa.org/blogpost527-Infected-nursery-plants-suspected-in-TR4-outbreak> Fecha de consulta: 31 de diciembre de 2019.
- ProMusa. 2018. TR4 present in the UK. <https://www.promusa.org/blogpost580-TR4-present-in-the-UK>.
- ProMusa. 2020. Taiwan Banana Research Institute (TBRI). En línea: <https://www.promusa.org/Taiwan+Banana+Research+Institute+--+TBRI> Fecha de consulta: 20 de julio del 2022.
- QDAFHI. 2020. Guide to alternative hosts of panama disease in Australia. Queensland Department of Agriculture and Fisheries as part of Hort Innovation projects (QDAFHI). 47 p. En línea:

- <https://www.musalit.org/seeMore.php?id=19948&recent> Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- Qi, Y. X., Zhang, X., Pu, J. J., Xie, Y. X., Zhang, H. Q., and Huang, S. L. 2008. Race 4 identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* from Cavendish cultivars in Hainan province, China. *Australasian Plant Disease Notes*, 3(1): 46-47. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF03211234#citeas> Fecha de consulta 16 de julio de 2021.
- Ramakrishna, W., Yadav, R., and Li, K. 2019. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. *Applied Soil Ecology*, 138:10-18. En línea: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139318312150> Fecha de consulta: 16 de diciembre de 2021.
- Reis, A., and Boiteux, L. 2007. Outbreak of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in commercial fresh-market tomato fields in Rio de Janeiro State, Brazil. *Horticultura Brasileira*, 25: 451-454. <http://www.scielo.br/pdf/hb/v25n3/a25v25n3.pdf>.
- Reyes-Cortés, K. M. y Sánchez-Torres, T. Y. 2016. Análisis de la comercialización de jitomate de invernadero en la región del Valle de Tulancingo, basado en el análisis de redes de vínculos. *Boletín científico, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 5(9). <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icea/n9/e11.html>.
- Robinson, J. C., and Galán-Sauco, V. 2010. Bananas and plantains. CAB International. 311 p.
- Rojas-Rangel, T. J. 2017. Migración rural jornalera en México: la circularidad de la pobreza. *Iberofórum. Revista de Ciencias Sociales de la Universidad Iberoamericana XII (23)* 1-35.
- Rojas-Wiesner, M. y Ángeles-Cruz, H. 2004. La frontera de Chiapas con Guatemala como región de destino de migrantes internacionales. En línea: https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/1296/1/100000035145_documento.pdf Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2019.
- Rojas-Weisner, M. L. 2018. En el borde: ser trabajadora agrícola inmigrante en Chiapas. *Carta Económica Regional* 30(121):145-171. En línea: <http://www.cartaeconomicaregional.cucea.udg.mx/index.php/CER/article/view/7104> Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2019.
- Rubio-Tinajero, S., Osorio-Hernández, E., Estrada-Drouaillet, B., Silva-Espinosa, J. H. T., Rodríguez-Mejía, M. D. L., and Nava-Juárez, R. A. 2021. *In vitro* antagonist biocontrol of *Fusarium oxysporum* and *Dickeya chrysanthemi*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(3):515-528. En línea: <https://www.smf.org.mx/rmf/Vol3932021/RMF2104-1.pdf> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Rujappan, K., Vidhyasekaran, P., Sethuraman, K., and Baskaran, T. L. 2002. Development of powder and capsule formulations of *Pseudomonas fluorescens* strain Pf-1 for control of banana wilt. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 109: 80-87. En línea: https://www.jstor.org/stable/43215423?seq=1#metadata_info_tab_contents Fecha de consulta 5 de octubre de 2021.

- SAGARPA. 2005. Plan rector sistema producto nacional plátano. México DF, México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 5-14pp. En línea: http://siic.ucol.mx/Archivos_prov%5Cprn_platano.pdf Fecha de consulta: 6 de diciembre de 2019.
- Sajeev, K. K., and Eswaran, A. 2008. Efficacy of micro nutrients on banana *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) and it's synergistic action with *Trichoderma viride*. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 36 (1):52-54. En línea: <https://www.notulaeobotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/91> Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. C., and Glick, B. R. 2021. Rhizosphere colonization determinants by Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). Biology, 10:475. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8229920/pdf/biology-10-00475.pdf> Fecha de consulta: 17 de diciembre de 2021.
- SCT. 2019. Anuario estadístico de los puertos de México de 2019. Secretaria de Comunicaciones y Transportes (SCT). En línea: http://www.sct.gob.mx/fileadmin/CGPMM/U_DGP/estadisticas/2016/Anuario/Anuario2019.htm Fecha de consulta: 28 de noviembre de 2021.
- SCT. 2021. Estadística de los puertos de México. Integración de la estadística del movimiento y operación portuaria. Secretaria de Comunicaciones y Transportes (SCT). En línea: <https://www.gob.mx/puertosymarinamercante/acciones-y-programas/estadisticas-70565> Fecha de consulta: 18 de agosto del 2021.
- Segura-Mena, R. A., Stoorvogel, J. J., García-Bastidas, F., Salacinas-Niez, M., Kema, G. H. J., and Sandoval, J. A. 2021. Evaluating the potential of soil management to reduce the effect of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in banana (Musa AAA). *European Journal of Plant Pathology*, 160:441-455. En línea: <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02255-2> Fecha de consulta 3 de abril de 2020.
- SENASA. 2021. Primer Reporte sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical, W.C. Snyder & H.N. Hansen 1940. Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú (SENASA). En línea: https://assets.ippc.int/static/media/files/pestreport/2021/04/30/Reporte_Foc_R4T_PERU_IPPC_29_abril_2021.pdf Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Senasica. 2015. Plan de Acción para la Vigilancia y Aplicación de Medidas de Control Contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 (Mal de Panamá) en México. Grupo Especialista Fitosanitario. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica). En línea: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/180745/Plandeaccionvigilanciaycontrol-maldePanam_enM_xico.pdf Fecha de consulta: 13 de julio de 2021.
- Senasica. 2018. Protocolo de Diagnóstico *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Marchitez por Foc R4T). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica). 28p. En línea:

- <http://sinavef.senasica.gob.mx/CNRF/AreaDiagnostico/DocumentosReferencia/Documentos/ProtocolosFichas/Protocolos/HongosFitopatogenos/1.%20Protocolo%20Fusarium%20Oxysporum%20f.sp.%20cubense%20V.1%20Pub.pdf> Fecha de consulta: 25 de mayo de 2020.
- Senasica. 2020. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). Plaga bajo vigilancia activa. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (SINAVEF). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica). En línea: <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-fitosanitaria-sinavef> Fecha de consulta: 1 de noviembre de 2021.
- Senasica. 2021. Acciones operativas para las plagas bajo vigilancia epidemiológica fitosanitaria. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica). En línea: <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/AccionOperativaV2.aspx> Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- Senasica. 2022. Módulo de Requisitos Fitosanitarios para la Importación de mercancía de origen vegetal. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica). En línea: <https://sistemasssl.senasica.gob.mx/mcrfi/resultadosConsultaRequisitos.xhtml> Fecha de consulta: 16 de julio de 2019.
- Shen, Z., Ruan, Y., Wang, B., Zhong, S., Su, L., Li, R., and Shen, Q. 2015. Effect of biofertilizer for suppressing *Fusarium* wilt disease of banana as well as enhancing microbial and chemical properties of soil under greenhouse trial. *Applied Soil Ecology*, 93:111-119. En línea: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139315001158> Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- Shi, L., Du, N., Shu, S., Sun, J., Li, S., and Guo, S. 2017. *Paenibacillus polymyxa* NSY50 suppresses *Fusarium* wilt in cucumbers by regulating the rhizospheric microbial community. *Scientific Reports*, 7:41234. En línea: <https://www.nature.com/articles/srep41234.pdf> Fecha de consulta: 22 de diciembre de 2021.
- SIAP. 2017. Jitomate. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. En línea: <https://www.gob.mx/siap/articulos/jitomate-3-3-millones-de-toneladas-en-2016> Fecha de consulta: 7 de julio de 2021.
- SIAP. 2018. Atlas agroalimentario 2012-2018. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México. 215 p. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018 Fecha de consulta 21 de febrero de 2019.
- SIAP. 2021. Anuario Estadístico de la producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). En línea: <http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> Fecha de consulta: 25 de julio de 2021.

- Simmonds, J. H. s/a. *A short history of the early years of plant pathology in Queensland*. En línea: <https://appsnet.org/History/Early%20years%20in%20QLD.pdf> Fecha de consulta 13 de julio de 2021.
- Sivamani, E., and Gnananickam, S. S. 1988. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in banana by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Plant and Soil* 107:3-9. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02371537> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Soma, D., Sharma, S., and Aggarwal, A. 2008. Efficacy of fungicides on mycelial growth and enzyme production on *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. *Annals of Plant Protection Sciences*, 16(1):135-138. <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:apps&volume=16&issue=1&article=032> Fecha de consulta: 11 de agosto de 2021.
- Somu, R., Thammaiah, N., Swamy, G. S. K., Kulkarni, M. S., and Devappa, V. 2014. *In vitro* evaluation of fungicides against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *International Journal of Plant Protection*, 7 (1):221-224. En línea: http://researchjournal.co.in/upload/assignments/7_221-224_555.pdf Fecha de consulta 11 de agosto del 2021.
- Somu, R. and Thammaiah, N. 2015. Physiological studies of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing panama wilt. *The Bioscan*, 10(4):1721-1724.
- Solpot, T. C., and Cumagun, C. J. R. 2019. Control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Sm.) Snyder and Hansen Tropical Race 4 causing *Fusarium* wilt in banana cv. "Lakatan". *Journal of Agricultural Research, Development, Extension and Technology*, 25(1), 21-30. En línea: <https://jardet.usm.edu.ph/index.php/jardet/article/view/3/3> Fecha de consulta: 3 de abril de 2021.
- Stanaway, M. A., Zalucki, M. P., Gillespie, P. S., Rodriguez, C. M. and Maynard, G. V. 2001. Pest risk assessment of insects in sea cargo containers. *Australian Journal of Entomology*, 40:180-192. En línea: https://www.ippc.int/static/media/files/publications/en/2013/06/05/1307376468_15_Forum_SeaCon_Pest_RA_of_insec.pdf Fecha de consulta: 1 de noviembre de 2021.
- Stellenbosch University. 2013. Global distribution of Foc TR4. Stellenbosch, South Africa. En línea: <http://www.sun.ac.za/english/faculty/agri/plant-pathology/ac4tr4/background/global-distribution-of-foc-tr4> Fecha de consulta: 19 de julio de 2021..
- Su, H. J., Hwang, S. C., and Ko, W. H. 1986. *Fusarium* wilt of Cavendish bananas in Taiwan. *Plant Disease* 70(9):814-818. En línea: http://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1986Articles/PlantDisease70n09_814.PDF Fecha de consulta: 16 de julio de 2021.
- Su, H. J., Chuang, T. Y., Kong, and W. S. 1977. Physiological race of fusarial wilt fungus attacking Cavendish of Taiwan. *Taiwan Banana Research Institute Spec. Publ.* 21 p.

- Sun, E. J., Su, H. J., and Ko, W. H. 1978. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 from soil or host tissue by cultural characteristics. *Phytopathology*, 68:1672- 1673. En línea: https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1978Articles/Phyto68n11_1672.PDF Fecha de consulta: 11 de julio de 2021.
- Swennen, R., and Ortiz, R. 1997. Morphology and growth of plantain and banana. International Institute of Tropical Agriculture (IITA) Research Guide 66. Training Program, Ibadan, Nigeria. 32 p. First Edition. 33 p. En línea: <https://biblio.iita.org/documents/U97BkSwennenMorphologyNothomNodev.pdf-a2a424a543434adb6fb1933271e7bb90.pdf> Fecha de consulta: 21 de julio de 2022.
- Syed, R. N., Lodhi, A. M., Jiskani, M. M., Rajput, K. I., Khaskheli., M. A. Khanzada, M. A., Rajput, N. A., Miatlo, S. A., Rajput, A. O. 2015. First report of Panama wilt disease of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in Pakistan. *Journal of Plant Pathology*, 97(1):213. En línea. <http://www.sipav.org/main/jpp/index.php/jpp/article/view/3285> fecha de consulta: 1 de noviembre del 2021.
- Taribuka, J., Wibowo, A., Widyastuti, S. M., and Sumardiyono, C. 2017. Potency of six isolates of biocontrol agents endophytic *Trichoderma* against *Fusarium* wilt on banana. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 4(2):723-731. En línea: https://www.researchgate.net/publication/312415910_Potency_of_six_isolates_of_biocontrol_agents_endophytic_Trichoderma_against_fusarium_wilt_on_banana Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- Thangavelu, R., and Gopi, M. 2015. Combined application of native *Trichoderma* isolates possessing multiple functions for the control of *Fusarium* wilt disease in banana cv. Grand Naine. *Biocontrol Science & Technology*, 10:1147-1164. En línea: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583157.2015.1036727> Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- Thangavelu, R., and Uma, S. 2018. Tropical Race 4 - a virulent strain of *Fusarium* wilt affecting Indian banana. *Banana Fungal Disease Fact Sheet 2*. ICAR-National Research Centre for Banana. India. 8 p. En línea: [http://nrcb.res.in/documents/Publications/Factsheet/tr4-eng.pdf#targetText=The%20Fusarium%20wilt%20affected%20plants,Grand%20Naine%20field%20devastated%20bunch.&targetText=I%20Tropical%20race%204%20\(TR4,including%20Cavendish%20group%20of%20bananas](http://nrcb.res.in/documents/Publications/Factsheet/tr4-eng.pdf#targetText=The%20Fusarium%20wilt%20affected%20plants,Grand%20Naine%20field%20devastated%20bunch.&targetText=I%20Tropical%20race%204%20(TR4,including%20Cavendish%20group%20of%20bananas) Fecha de consulta: 12 de julio de 2021.
- Thangavelu, R., Mostert, D., Gopi, M., Devi, P. G., Padmanaban, B., Molina, A. B., and Viljoen, A. 2019. First detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (TR4) on Cavendish banana in India. *European Journal of Plant Pathology*, 154 (3): 777-786. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10658-019-01701-6> Fecha de consulta: 24 de julio de 2021.
- Torres-Bedoya, E., Bebbler, D. P., and Studholme, D. J. 2021. Taxonomic revision of the banana *Fusarium* wilt TR4 pathogen is premature. *Phytopathology*, 111:2141-2145. En línea:

- <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO-03-21-0089-LE> Fecha de consulta: 3 de diciembre del 2021.
- Ubaub, L. T., and Martin, R. E. 2016. Potential of vasicular-arbuscular mycorrhiza supplemented with vermi tea against Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4) on 'Cavendish' banana. Imperial Journal of Interdisciplinary Research, 2(8):1165-1173. En línea: <https://www.onlinejournal.in/IJIRV2I8/194.pdf> Fecha de consulta: 11 de julio de 2021.
- Urias, C. R. 2016. Simulacro epidemiológico ante la detección del mal de panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical). Memorias del simulacro epidemiológico ante la detección de mal de Panamá, Raza 4 Tropical. Realizado del 6 al 9 de septiembre de 2016. En Cihuatlán, Jalisco, México.
- Urias, C., Dita, M., Gonzalez, R., Guzmán, M., Sandoval, J., Pérez-Vicente, Tapia, A., Mora, G., y Llaunger, R. 2017. Plan de Acción Continental del OIRSA para prevención de la entrada de la Raza 4 Tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y capacidades de diagnóstico en las ONPF. Memorias del Taller Latinoamericano y del Caribe de diagnóstico fitosanitario de la Raza 4 Tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Centro Nacional de referencia Fitosanitaria. Tecámac, Estado de México. 22-26 de mayo de 2017.
- US National Weather Service. 2019. Mapa de vientos. Tutiempo Networks, S.L. en línea: <https://mapa.tutiempo.net/viento/#current/wind/surface/level/orthographic=-46.26,16.13,546> fecha de consulta: 6 de noviembre de 2019.
- Viljoen, A. 2015. The history and current status of banana *Fusarium* wilt from bananarama to bananageddon?. En línea: http://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/Docs_Resources_2015/TR4/Current_status_of_Fusarium_wilt_disease_of_banana_and_future_risks-Altus_Viljoen.pdf Fecha de consulta: 05 de julio de 2021.
- Viljoen, A. 2018. Global status of Foc TR4 epidemics and Foc TR4 research. Proceedings of the International Banana Symposium Philippines 2014. Davao: from local agriculture to global agribusiness. 19-22 November 2014 at the SMX Convention Center. SM Lanang Premier, Davao City. En línea: <http://banana-networks.org/Bapnet/resources/publications/symposia/symposia/> Fecha de consulta: 07 de noviembre de 2019.
- Vives-Peris, V., Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., and Pérez-Clemente, R. M. 2019. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. Plant Cell Reports, 39(1):3-17. En línea: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31346716/> Fecha de consulta: 26 de diciembre del 2021.
- Waite, B. H., and Dunlap, V. C. 1953. Preliminary host range studies with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Plant Disease Reporter, 37:79-80. En línea: <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=uiug.30112009650257&view=1up&seq=1> Fecha de consulta: 8 de julio de 2021.
- Wang, B. B., Shen, Z. Z., Zhang, F. G., Raza, W., Yuan, J., Huang, R., Ruan, Y. Z., Li, R., and Shen, Q. R. 2016. *Bacillus amyloliquefaciens* strain W19 can promote growth and yield

- and suppress *Fusarium* wilt in banana under greenhouse and field conditions. *Pedosphere*, 26(5): 733-744. En línea: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1002016015600832> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Xu, S., Wang, J., Wang, H., Bao, Y., Li, Y., Govindaraju, M., Yao, W., Chen, B., and Zhang, M. 2019. Molecular characterization of carbendazim resistance of *Fusarium* species complex that causes sugarcane pokkah boeng disease. *BMC Genomics* 20:115. En línea: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-019-5479-6> Fecha de consulta: 28 de julio de 2022.
- Xue, C., Penton, R., Shen, Z., Zhang, R., Huang, Q., Li, R., Ruan, Y., and Shen, Q. 2015. Manipulating the banana rhizosphere microbiome for biological control of Panama disease. *Scientific Reports*, 5:11124. 10 p. En línea: <https://www.nature.com/articles/srep11124> Fecha de consulta: 5 de octubre del 2021.
- Yang, J., Li, B., Liu, S. W., Biswas, M. K., Liu, S., Wei, Y. R., Zuo, C. W., Deng, G. M., Hu, C. H., Yi, C. J., and Li, C. Y. 2016. Fermentation of Foc TR4-infected bananas and *Trichoderma* spp. *Genetics and Molecular Research*, 15 (4). En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27813563> Fecha de consulta: 9 de julio de 2021.
- Zhai, Y., Zhu, J. X., Tan, T. M., Xu, J. P., Shen, A. R., Yang, X. B., Li, J. L., Zeng, L. B., and Wei, L. 2021. Isolation and characterization of antagonistic *Paenibacillus polymyxa* HX-140 and its biocontrol potential against *Fusarium* wilt of cucumber seedlings. *BMC Microbiology*, 21:75. En línea: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-021-02131-3> Fecha de consulta: 22 de diciembre de 2021.
- Zhang, N., Wu, K., He, X., Li, S. Q., Zhang, Z. H., Shen, B., Yang, X. M., Zhang, R. F., Huang Q. W., and Shen Q. R. 2011. A new bioorganic fertilizer can effectively control banana wilt by strong colonization with *Bacillus subtilis* N11. *Plant Soil*, 344:87-97. En línea: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-011-0729-7> Fecha de consulta 5 de octubre del 2021.
- Zheng, S. J., García-Bastidas, F. A., Li, X., Zeng, L., Bai, T., Xu, S., Yin, K., Li, H., Fu, G., Yu, Y., Yang, L., Nguyen, H. C., Douangboupha, B., Khaing, A. A., Drenth, A., Seidl, M. F., Meijer, H. J. G., and Kema, G. H. J. 2018. New geographical insights of the latest expansion of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 into the Greater Mekong subregion. *Frontiers in Plant Science*, 9(457): 1-9. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29686692> Fecha de consulta: 12 de julio de 2021.
- Zhu, Y., Liang, X., Li, Y., Duan, Y., Zhen, Z., Wang, J., and Zhou, M. 2018. F240 of β_2 -Tubulin explain why *Fusarium graminearum* is less sensitive to carbendazim than *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 108:352-361. En línea: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/PHYTO-09-17-0295-R> Fecha de consulta: 28 de julio de 2022.
- Zvyagintseva, A. Y., Ivin, V. V., Kashin, I. A., Orlova, T. Y., Selina, M. S., Kasyan, V. V., Korn, O. M., Kornienko, E. S., Kulikova, V. A., Bezverbnaya, I. P., Zvereva, L. V., Radashevsky,

V. I., Belogurova, L. S., Begun, A. A., and Gorodkov, A. N. 2009. Acclimation and introduction of hydrobionts ships' ballast water organisms in the Port of Vladivostok. Russian. Journal of Marine Biology, 35(1):41-52. En línea: https://www.researchgate.net/publication/225385153_Acclimation_and_introduction_of_hydrobionts_ships%27_ballast_water_organisms_in_the_Port_of_Vladivostok/figures?lo=1 Fecha de consulta: 26 de febrero de 2020.