



MINISTERIO DE AGRICULTURA
Y DESARROLLO RURAL

Uso y control de calidad de desinfectantes en esquemas de bioseguridad, para la prevención y contención de la marchitez por *Fusarium* Raza 4 Tropical

Autores

Mónica Betancourt Vásquez • Sandra Lorena Carmona Gutiérrez
Gustavo Adolfo Rodríguez Yzquierdo • Luisa Fernanda Izquierdo García
Mauricio Soto Suárez • Juan Camilo Gómez-Correa • Sebastián Zapata Henao
Antonio González Ulloa • Andrea Paola Zuluaga Cruz • Jorge Hernán Palacino Córdoba
Juliette Catalina Quintero • Gloria Patricia Castillo Urquiza • Miguel Ángel Dita Rodríguez

ICA
Instituto Colombiano Agropecuario

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria



MINISTERIO DE AGRICULTURA
Y DESARROLLO RURAL

Uso y control de calidad de desinfectantes en esquemas de bioseguridad, para la prevención y contención de la marchitez por *Fusarium* Raza 4 Tropical

Autores

Mónica Betancourt Vásquez • Sandra Lorena Carmona Gutiérrez
Gustavo Adolfo Rodríguez Yzquierdo • Luisa Fernanda Izquierdo García
Mauricio Soto Suárez • Juan Camilo Gómez-Correa • Sebastián Zapata Henao
Antonio González Ulloa • Andrea Paola Zuluaga Cruz • Jorge Hernán Palacino Córdoba
Juliette Catalina Quintero • Gloria Patricia Castillo Urquiza • Miguel Ángel Dita Rodríguez

ICA
Instituto Colombiano Agropecuario

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Uso y control de calidad de desinfectantes en esquemas de bioseguridad, para la prevención y contención de la marchitez por *Fusarium Raza 4 Tropical*. / Mónica Betancourt Vásquez [y otros doce] – Mosquera, (Colombia): AGROSAVIA, 2022

76 páginas (Colección Alianzas AGROSAVIA)

Incluye referencias bibliográficas, fotografías y gráficos.

ISBN: 978-958-740-610-8

ISBN e-Book: 978-958-740-609-2

1. Banano 2. *Fusarium oxysporum* 3. Enfermedades de las plantas 4. Desinfectantes
5. Seguridad alimentaria 6. Control de calidad 7. Normas de bioseguridad.

Palabras clave normalizadas según Tesaurus Multilingüe de Agricultura Agrovoc
Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

Centro de Investigación Tibaitatá. Kilómetro 14 vía Mosquera-Bogotá, Mosquera, Cundinamarca.
Código postal 250047, Colombia.

Esta publicación fue elaborada en el desarrollo del proyecto “Acciones para la prevención y mantenimiento del estatus fitosanitario en sistemas productivos de cítricos, musáceas y durazno en Colombia (ID 1001947)”, dentro de los convenios derivados n.º 8 y 10, del convenio marco interadministrativo n.º 021 de 2018 suscrito entre el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Agradecimientos a Kathleen Baquero, Andrés Bruges, Eddie Yacir Álvarez, Jacobo Buriticá, Jorge Pertuz y Ana Noguera, quienes realizaron y acompañaron los muestreos en fincas, puntos de control del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), puestos de lavado de la Asociación de Bananeros de Colombia (Augura) y al puerto de Santa Marta. De igual forma, agradecimientos a Camilo Sanabria y Tatiana Santos, quienes apoyaron el procesamiento de las muestras tomadas.

Colección: Alianzas Agrosavia

Tipología: Manual

Fecha de recepción: 11 de julio de 2022

Fecha de evaluación: 11 de julio de 2022

Fecha de aceptación: 20 de julio de 2022

Publicado: septiembre de 2022

Preparación editorial

Editorial AGROSAVIA

editorial@agrosavia.co

Editora: Nathalie De la Cuadra N.

Corrección de estilo: Andrés Castillo Brieva

Ilustraciones: Juan Felipe Martínez Tirado

Diseño y diagramación: Mónica Cabiativa Daza

Citación sugerida: Betancourt Vásquez, M., Carmona Gutiérrez, S. L., Rodríguez Yzquierdo, G. A., Izquierdo García, L. F., Soto Suárez, M., Gómez-Correa, J. C., Zapata Henao, S., González Ulloa, A., Zuluaga Cruz, A. P., Palacino Córdoba, J. H., Quintero, J. C., Castillo Urquiza, G. P., & Dita Rodríguez, M. Á. (2022). *Uso y control de calidad de desinfectantes en esquemas de bioseguridad, para la prevención y contención de la marchitez por Fusarium Raza 4 Tropical*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). <https://doi.org/10.21930/agrosavia.analisis.7406092>

Cláusula de responsabilidad: AGROSAVIA e ICA no son responsables de las opiniones y de la información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando en este último supuesto que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación. Igualmente, expresan que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente, frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros, relativa a los derechos de autor u otros derechos que se vulneren como resultado de su contribución.

Línea de atención al cliente: 018000121515

atencionalcliente@agrosavia.co

www.agrosavia.co



https://co.creativecommons.org/?page_id=13



Contenido

Los autores.....	7
Introducción	15
Descripción de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	
Raza 4 Tropical (<i>Foc</i> R4T): enfermedad y patógeno	17
Síntomas externos	17
Síntomas internos.....	17
Morfología y estructuras reproductivas	18
Factores de riesgo para la dispersión de <i>Foc</i> R4T	19
Uso de desinfectantes dentro de los esquemas de bioseguridad contra <i>Foc</i> R4T	25
Implementación de normas de bioseguridad en campo	29
Recomendaciones generales de ingreso.....	30
Uso y desinfección de calzado	31
Desinfección de vehículos y herramientas.....	36
Desinfección de contenedores en fincas o puertos	38

Resultados de las investigaciones de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA sobre el uso de desinfectantes	39
Metodología	39
Discusión	46
Conclusiones	48
Evaluación del proceso de desinfección en fincas y en vías terrestres de Colombia	49
Muestreos en puestos de control oficiales de Magdalena y La Guajira	51
Muestreo en puestos de lavado en Urabá y Magdalena.	53
Muestreo en puertos	55
Procesamiento de muestras a nivel microbiológico e identificación de <i>Foc R4T</i>	56
Resultados	59
Consideraciones finales	64
Conclusiones.....	66
Recomendaciones generales para los procesos de bioseguridad y el uso de desinfectantes contra <i>Foc R4T</i> a nivel de finca.....	67
Referencias	68

Lista de figuras

Figura 1. Síntomas de la marchitez por de las musáceas <i>Foc R4T</i> y estructuras propagativas del patógeno	18
Figura 2. Formas de dispersión de <i>Foc R4T</i>	21
Figura 3. Pasos para planificar y adoptar la práctica de desinfección	28
Figura 4. Registro de visitantes en las fincas cuarentenadas por <i>Foc R4T</i>	29
Figura 5. Correcta vestimenta del traje de bioseguridad y personal de la finca con ropa de uso exclusivo del predio	31
Figura 6. Área de cambio de calzado y puesta de traje de bioseguridad	32
Figura 7. Fosa de desinfección de calzado para ingreso o salida de la finca	32
Figura 8. Área de lavado y desinfección de calzado	32
Figura 9. Uso de tirillas de amonio cuaternario en pediluvios	33
Figura 10. Vista de placa-huella en condiciones de campo	34
Figura 11. Área de lavado de botas antes de la fosa de desinfección para el cambio de calzado y salida de la finca	34
Figura 12. Esquema sinóptico del proceso de bioseguridad en fincas	35
Figura 13. Área de lavado y desinfección de vehículos, rodiluvio.....	36
Figura 14. Procedimiento de lavado de vehículos	37
Figura 15. Punto de control de la ONPF e ICA	37
Figura 16. Aspersor con solución desinfectante para uso regular en herramientas..	38
Figura 17. Infraestructura de arcos de lavado en el puerto de Santa Marta (Magdalena)	38
Figura 18. Eficacia de amonios cuaternarios contra <i>Foc R4T</i> en ausencia de suelo en dos tiempos de exposición.....	43
Figura 19. Eficacia de amonios cuaternarios contra <i>Foc R4T</i> en presencia de suelo..	44
Figura 20. Eficacia de glutaraldehído frente a propágulos de <i>Foc R4T</i> en presencia de suelo	45
Figura 21. Eficacia de un desinfectante a base de glutaraldehído sobre propágulos de <i>Foc R4T</i> en presencia de suelo	45
Figura 22. Ubicación de puntos de muestreo en los departamentos de Magdalena y La Guajira	50

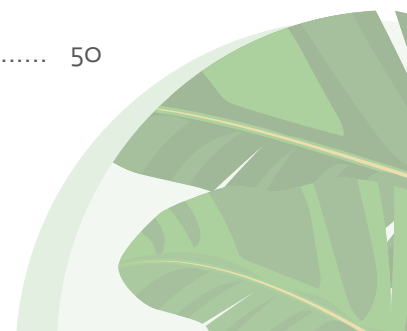


Figura 23. Procedimiento de toma de muestras en pediluvios en fincas	50
Figura 24. Ubicación de puestos de desinfección y lavado muestreados	52
Figura 25. Pasos del protocolo de muestreo en puestos de control	53
Figura 26. Proceso de muestreo en puestos de lavado de Urabá	54
Figura 27. Procedimiento de muestreo en filtros de aguas residuales.....	55
Figura 28. Proceso de muestreo en puertos	56
Figura 29. Procesamiento de las muestras para aislamiento de colonias características de <i>Fusarium</i> sp	57
Figura 30. Procedimiento para aislamiento de colonias características de <i>Fusarium</i> sp. y conservación	58

Lista de tablas

Tabla 1. Factores de riesgo de dispersión de <i>Foc</i> R4T en plantaciones de musáceas	22
Tabla 2. Desinfectantes evaluados y sus características químicas (ingredientes activos y generación de amonios cuaternarios)	40
Tabla 3. Puestos de control del ICA muestreados en los departamentos de Magdalena, La Guajira, Cesar y Córdoba	51
Tabla 4. Puestos de lavado muestreados en Urabá y Magdalena	54
Tabla 5. Cebadores usados para la identificación de <i>Foc</i> R4T	58
Tabla 6. Muestras tomadas en fincas, en diferentes puntos de bioseguridad por departamento	59
Tabla 7. Detección de <i>Foc</i> R4T en puestos de desinfección y lavado de cuatro departamentos de Colombia	61
Tabla 8. Muestras evaluadas en el puerto de Santa Marta	62

Los autores

Mónica Betancourt Vásquez

Correo: mbetancourt@agrosavia.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-6702-9524>

Ingeniera agrónoma de la Universidad de Caldas, con diploma de estudios avanzados en Biotecnología y Microorganismos Asociados y PhD en Ciencias Agrarias de la Universidad Politécnica de Madrid. Más de 20 años de experiencia en diagnóstico y caracterización biológica y molecular de patógenos de plantas, con énfasis en epidemiología, evolución de virus de plantas y manejo integrado de enfermedades en cultivos de plátano, mora, maracuyá, tomate de árbol, lulo, caña de azúcar y papa. Desde el año 2019 es responsable en Colombia, desde la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA, de la estrategia de investigación para hacer frente a la emergencia por *Foc R4T*. Se ha desempeñado como docente universitaria e investigadora en fitopatología, microbiología y biología molecular. En la actualidad, es investigadora PhD asociada de AGROSAVIA.

Sandra Lorena Carmona Gutiérrez

Correo: scarmona@agrosavia.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0001-7348-3566>

Agrónoma de la Corporación Universitaria de Santa Rosa de Cabal (Unisarc), con maestría en Ciencias Agrarias en la línea de investigación Fisiología de Cultivos. Trabaja como investigadora en fitopatología y control biológico desde hace nueve años en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA, y desde 2019 ha apoyado todas las actividades relacionadas con el diagnóstico, secuenciación, control biológico y evaluación de bioseguridad para *Foc R4T* en Colombia. Amplia experiencia en áreas de control biológico de plagas y enfermedades, manejo integrado de plagas, fitopatología, interacción planta-patógeno y fisiología de cultivos, incluidas destrezas para el trabajo de laboratorio y ensayos en condiciones controladas.

Gustavo Adolfo Rodríguez Yzquierdo

Correo: grodriguezy@agrosavia.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-3709-8534>

Docente e investigador en fruticultura tropical desde hace 25 años. Profesor de pre- y posgrado de la Universidad Central de Venezuela (UCV) en manejo agronómico de frutales. Coordinador y coinvestigador de diferentes proyectos sobre cultivos de plátano, banano, maracuyá, piña y papaya. En la actualidad es investigador PhD sénior de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA. Sus trabajos actuales se enfocan en el desarrollo de líneas de investigación en ecofisiología de estrés, manejo eficiente del recurso hídrico, nutrición mineral, producción integrada de cultivos frutales tropicales y modelos de agronegocios sostenibles en diferentes sistemas productivos. Acompaña la estrategia de investigación en Foc R4T desde AGROSAVIA, en el componente de manejo de suelos y agronómico del cultivo.

Luisa Fernanda Izquierdo García

Correo: lfizquierdo@agrosavia.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0001-5462-8221>

Microbióloga agrícola y veterinaria de la Pontificia Universidad Javeriana, máster en Ciencias Agrarias, en la línea de Fitopatología, de la Universidad Nacional de Colombia. Vinculada a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA desde el año 2011, se desempeña como investigadora máster en AGROSAVIA desde el año 2019. Ha trabajado principalmente en el área de control biológico y manejo de enfermedades asociado a los patógenos *Fusarium oxysporum* en uchuva, tomate y banano; *Plasmodiophora brassicae* en brócoli; *Rhizoctonia solani* en arroz; *Sclerotinia* en lechuga; *Colletotrichum* sp. en mango; entre otros. Ha publicado artículos científicos en revistas indexadas sobre temas relacionados con manejo de enfermedades con énfasis en control biológico de fitopatógenos y consorcios microbianos.

Mauricio Soto Suárez

Correo: msoto@agrosavia.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-2392-2839>

Doctor en Biología de la Universidad de Perpignan, Francia. Investigador con experiencia de quince años en las áreas de biología molecular y fitopatología. En la actualidad es investigador PhD asociado de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA. Sus intereses de investigación se han centrado en el campo de la patología vegetal, con estudios en aspectos fisiológicos, bioquímicos y moleculares tanto a nivel del patógeno como del hospedero. Estas investigaciones incluyen detección, diagnóstico y análisis de la estructura poblacional del patógeno; caracterización de determinantes genéticos que causan la enfermedad, y búsqueda de alternativas al uso de agroquímicos para el control de enfermedades (inductores de resistencia, biofungicidas, sustancias bioactivas, etc.). En la actualidad trabaja en el estudio de la marchitez por *Fusarium* del banano. Su propósito es combinar investigación básica y aplicada para proporcionar a los agricultores recomendaciones de manejo de enfermedades basadas en la ciencia.

Juan Camilo Gómez Correa

Correo: jcgomez@agrosavia.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0001-8363-6597>

Ingeniero agrónomo y magíster en Ciencias Agrarias con énfasis en Salud Pública Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Actualmente, es investigador máster de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA en el Centro de Investigación Caribia, Zona Bananera, Magdalena. Fue joven investigador del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias), en el proyecto “Fitoepidemiología de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* M. Morelet) en la región de Urabá”. Cuenta con más de siete años de experiencia en la formulación y ejecución de proyectos en limitantes fitosanitarias de los cultivos de mango, musáceas, cítricos y hortalizas sembrados en la región Caribe de Colombia.



Sebastián Zapata Henao

Correo: dircenibanano@augura.com.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0001-8612-567X>

Ingeniero agropecuario del Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, magíster en Ciencias Agrarias con énfasis en fitopatología de la Universidad Nacional de Colombia. Director del Centro de Investigaciones del Banano (Cenibanano) desde 2020. Ha trabajado en control biológico de *Foc* R1, manejo de enfermedades poscosecha y salud de suelos bananeros, entre otras áreas de investigación.

Antonio José González Ulloa

Correo: antoniogonzalezulloa8@gmail.com

Orcid: <http://orcid.org/0000-0001-8261-5890>

Ingeniero agrónomo de la Universidad del Magdalena, candidato a maestría en Ciencias Agrarias de la misma institución. Trabaja como jefe de bioseguridad del Grupo Agrovid S. A. S. desde el año 2019. Ha recibido capacitación y entrenamiento en fitopatógenos del cultivo de banano, en el Centro de Investigación del Banano (Cenibanano), en Carepa, Antioquia (Colombia). En el cultivo de banano, ha trabajado sobre todo en el manejo de enfermedades como moko, sigatoka y en la prevención y contención de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical, agente causal de marchitez por *Fusarium*, así como en el diseño de esquemas de bioseguridad para la prevención y contención de *Foc* R4T en países como Perú, Ecuador y Colombia.

Andrea Paola Zuluaga Cruz

Correo: azuluga@agrosavia.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-3003-4856>

Bióloga de la Universidad de los Andes (Colombia), con maestría en Fitopatología de la Universidad Cornell (EE. UU.) y doctorado en Fitopatología y Biología de las Interacciones Plantas-Microorganismos de la Universidad Cornell (EE. UU.). Trabaja en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA como investigadora PhD desde 2018. Alta experiencia y conocimiento en los campos de fitopatología, epidemiología, genética

(clásica, molecular y de poblaciones), biología del desarrollo (incluidas las interacciones hospedero-oomicetos, hongos, virus y bacterias) y manejo de enfermedades. Los resultados de investigación han contribuido a ampliar el conocimiento de cómo los patógenos manipulan la interacción con sus hospederos, y cómo los hospederos reaccionan frente a la infección del patógeno, permitiendo desarrollar estrategias de control de enfermedades. Además, ha estudiado el impacto de factores abióticos (estrés hídrico) en la interacción planta-microorganismos, que afectan el desarrollo de las enfermedades. Los siguientes son los principales patosistemas con los que ha trabajado: *Phytophthora infestans*-papa y tomate; *Ralstonia solanacearum*-papa, tomate y banano; *Magnaporthe oryzae*-arroz-sequía; PYVV-papa-sequía; *Tuta absoluta*-tomate; *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersicum*-tomate; *F. oxysporum* f. sp. *cubense* R1 y RT4-banano; *Plasmodiophora brassicae*-brócoli; *Lasioidiplodia*-cacao-sequía-lluvia. Los resultados de estas investigaciones han sido publicados en revistas indexadas.

Jorge Hernán Palacino Córdoba

Correo: jorge.palacino@ica.gov.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-2611-073X>

Ingeniero agrónomo de la Universidad de Caldas, con especialización en Gerencia y Mercadeo. Trabaja como director técnico de Sanidad Vegetal en el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) desde el año 2018 y está vinculado a la entidad desde 2006, donde ha trabajado en áreas de frutales, epidemiología y sanidad vegetal, y también como coordinador nacional del Plan para el Manejo del Huanglongbing (HLB) de los cítricos y *Fusarium* Raza 4 Tropical. Se desempeñó como joven investigador por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias) en el área de fitopatología del Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé), obteniendo el Premio Nacional de Fitopatología por sus estudios de interacción de micorrizas vesículo-arbusculares y nematodos formadores de nódulos en pitaya. Ha sido profesor universitario en las áreas de fisiología vegetal en



la Universidad de Caldas, de producción vegetal en la Universidad del Tolima y de mercadeo agropecuario en la Universidad La Gran Colombia. Consultor del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) para el desarrollo en planes de mercado agropecuario.

Juliette Catalina Quintero Vargas

Correo: catalinaquintero Vargas@gmail.com

Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-4435-7824>

Ingeniera agrónoma, magíster en Fitopatología de la Universidad de Caldas. Trabaja como profesional especializada en la Dirección Técnica de Epidemiología y Vigilancia Fitosanitaria del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) desde 2013. Tiene experiencia en el diseño y puesta en marcha de proyectos de vigilancia fitosanitaria de organismos fitopatógenos con énfasis en *Fusarium* Raza 4 Tropical, estructuración de marco normativo para la declaratoria de áreas libres de plagas, planes fitosanitarios de exclusión y contención orientados a la mitigación de los riesgos de dispersión y establecimiento de plagas de importancia económica y cuarentenaria, estructuración de proyectos para articulación de medidas fitosanitarias con el sector público-privado y gestión de acciones de comunicación del riesgo dirigidas a productores y asistentes técnicos para la prevención de plagas cuarentenarias, sobre todo en sistemas productivos de musáceas.

Gloria Patricia Castillo Urquiza

Correo: gcastillo@unimagdalena.edu.co

Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-4659-6359>

Ingeniera agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Maestría y doctorado en Fitopatología de la Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, Brasil, con trabajos de tesis relacionados con fitovirología. Estancias posdoctorales en Embrapa Soja y en la Universidade Federal de Viçosa. Investigadora PhD de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA entre 2014 y 2021, actualmente docente catedrática en la Universidad del Magdalena. Experiencia en fitovirología, diagnóstico y detección de fitopatógenos, genética de poblaciones de fitovirus,

análisis de expresión diferencial de genes en la interacción planta-virus, enfermedades en mango y su manejo, enfermedades en musáceas y hortalizas de clima cálido.

Miguel Ángel Dita Rodríguez

Correo: m.dita@cgiar.org

Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-0496-4267>

Ingeniero agrónomo de la Universidad Central de Las Villas, Cuba (1995), MSc en Biotecnología Vegetal de la misma institución (1998) y doctor en Fitopatología de la Universidade Federal de Viçosa, Brasil (2003). Ha realizado posdoctorados en Biotecnología Vegetal (Instituto de Agricultura Sostenible [IAS-CSIC], España, 2004-2006) y en Fitopatología Molecular (Plant Research International, Universidad de Wageningen, Países Bajos, 2008-2009). Tiene más de 20 años de experiencia en fitopatología tropical, con trabajos en países como Cuba, Brasil, España, Países Bajos, Costa Rica, Nicaragua, Panamá, Honduras, República Dominicana, Colombia y Perú. Sus principales áreas de interés de investigación son las interacciones planta-microorganismos (patógenos y benéficos), así como diagnóstico, salud del suelo y enfoques integrados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades.

Introducción

Fusarium oxysporum f. sp. *cupense* Raza 4 Tropical (*Foc* R4T), agente causal de la marchitez del banano, es considerado el patógeno más importante de las musáceas, en especial del banano de exportación (var. Cavendish). Además de Cavendish, *Foc* R4T afecta un gran número de cultivares, incluidos plátanos de cocción importantes para la seguridad alimentaria de muchos países. Ante la ausencia de variedades comerciales resistentes, las estrategias de bioseguridad que permitan disminuir el riesgo de transmisión del patógeno entre parcelas, fincas o regiones afectadas, son fundamentales para asegurar la sanidad de las plantaciones.

En la actualidad, *Foc* R4T se encuentra presente en 34 países con sistemas de producción de musáceas muy variados, lo cual dificulta la implementación de estrategias de bioseguridad y aumenta el riesgo de dispersión del patógeno.

En el continente americano, *Foc* R4T se encuentra presente en Colombia (García-Bastidas et al., 2019) y Perú (Acuña et al., 2021). El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) ha confirmado la presencia de la enfermedad en trece fincas ubicadas en los departamentos de La Guajira y Magdalena, con un estimado de 224,76 ha erradicadas hasta el mes de mayo de 2022. A pesar de que todas las fincas se encuentran bajo cuarentena y con estrictas medidas de bioseguridad, la presencia del patógeno en Colombia genera preocupación a nivel nacional, pues plátanos y bananos son cultivos clave tanto para la exportación como para la seguridad alimentaria.

La primera estrategia para prevenir la enfermedad es la exclusión del patógeno, lo cual significa evitar su entrada a zonas de producción. La bioseguridad general de las fincas y la identificación de puntos críticos que puedan favorecer la dispersión del patógeno, a través de suelo contaminado (por ejemplo, mediante uso de herramientas, transporte de fruta, labores culturales, riego, etc.), son elementos fundamentales en la implementación de protocolos específicos de bioseguridad, para evitar la diseminación del patógeno desde puntos infectados a otras áreas de la finca o entre fincas afectadas y sanas.

En este documento, se describen aspectos generales de los procesos de bioseguridad implementados en las fincas afectadas por *Foc* R4T en Colombia, y que están siendo aplicados también en fincas de banano de exportación a nivel nacional. Se presentan además avances de investigación en el uso de desinfectantes para la prevención de *Foc* R4T.



Descripción de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical (*Foc* R4T): enfermedad y patógeno



Los síntomas de marchitez causados por *Fusarium* en banano fueron descritos por primera vez en Brisbane, Australia, en 1874, en el cultivar Sugar (subgrupo Silk, AAB) con *Foc* R1 (Stover et al., 1961; Pegg et al., 2019). Sin embargo, *Foc* R4T solo se reportó por primera vez hasta el año 1967, en clones Cavendish encontrados en Taiwán.

Por lo general, las plantas afectadas por *Foc* R4T presentan síntomas después de seis meses de incubación, y lo común es que los primeros aparezcan al inicio de la fase de floración. Sin embargo, en materiales altamente susceptibles, como el tipo Cavendish, y con alta densidad del inóculo en el suelo, los síntomas pueden presentarse en plantas jóvenes (Dita et al., 2018).

Síntomas externos

Los síntomas iniciales aparecen en las hojas más viejas o inferiores de la planta, con un amarillamiento que avanza hacia las jóvenes. El amarillamiento progresa desde los bordes hacia el interior del foliolo, y en estados avanzados se observa necrosis en las láminas de las hojas, lo mismo que hojas caídas en forma de ruana alrededor del pseudotallo. Una característica diagnóstica importante es que, aunque la planta esté marchita o prácticamente muerta, se conserva erecta (Dita et al., 2010, 2018) (figura 1a). Hojas apicales con deformaciones, abortos de racimos o rajaduras del pseudotallo pueden aparecer o no (Dita et al., 2018).

Síntomas internos

A nivel interno, *Fusarium* produce necrosamiento de los haces vasculares (que inicialmente adquieren un color de rojizo a violeta), el cual avanza hasta

coloraciones completamente oscuras producto de la necrosis continua en los haces vasculares (figura 1b), que vienen acompañadas de tilosas. Los síntomas ocasionados por *Foc R4T* se caracterizan por no tener una apariencia acuosa (figura 1b).

Morfología y estructuras reproductivas

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* no se distingue morfológicamente de otros *F. oxysporum*, sean saprófitos, habitantes de suelo o patógenos de plantas (Leslie & Summerell, 2006).

Este hongo produce abundantes macro y microconidios en estructuras llamadas “esporodoquios”. Los macroconidios ($27-55 \times 3,3-5,5 \mu\text{m}$) son abundantes, de falcados (de curvatura semejante a la de una hoz) a casi rectos, de paredes delgadas, con tres a cinco septos (usualmente tres). La célula apical por lo general está atenuada o tiene forma de gancho en algunos aislamientos. Los microconidios ($5-16 \times 2,4-3,5 \mu\text{m}$), usualmente sin septos, pueden ser ovales, elípticos o reniformes y se forman de manera abundante en falsas cabezas, en monofialides cortas (figura 1c). Las clamidosporas ($7-11 \mu\text{m}$ de diámetro) son numerosas en hifas o conidios, aisladas o en cadenas, y lo usual es que aparezcan en pares (figura 1d).

Factores de riesgo para la dispersión de *Foc R4T*

F. oxysporum se dispersa principalmente por el suelo y el material vegetal, aunque también se han descrito otros agentes dispersores como viento, insectos, animales domésticos y/o silvestres, herramientas, maquinaria, neumáticos, zapatos y otros equipos (Dita et al., 2018). Sustratos o enmiendas orgánicas con plantas distintas a las musáceas también pueden ser portadores del patógeno, tal como se ha evidenciado en Centroamérica, en el sistema agroforestal café-banano, donde *Foc R1* se puede dispersar mediante sustratos utilizados en plántulas de café (Dita et al., 2018).

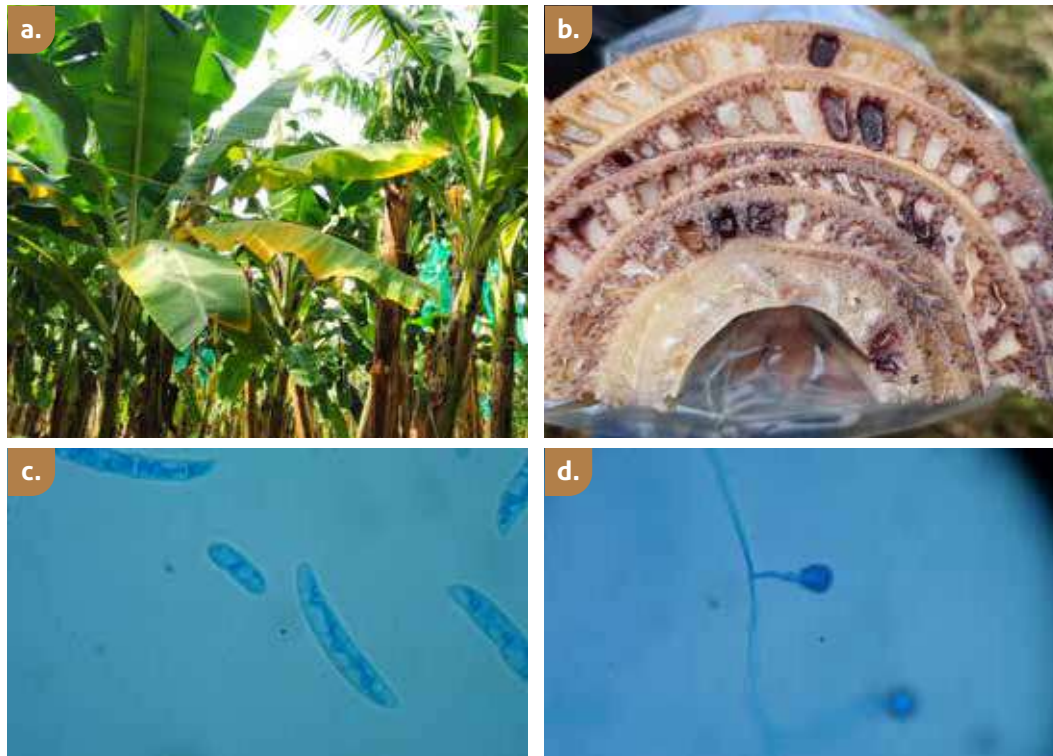


Figura 1. Síntomas de la marchitez de las musáceas *Foc R4T* y estructuras propagativas del patógeno. **a.** Síntomas externos; **b.** Síntomas internos; **c.** Estructuras propagativas: macroconidias y microconidias; **d.** Clamidosporas.

Fotos: Madeleyne Parra, Mónica Betancourt, Sandra Lorena Carmona

Para identificar y mitigar los factores de riesgo de diseminación de *Foc R4T*, conviene separar la dispersión de cortas o largas distancias. Se considera que la de cortas distancias es la que ocurre dentro de la finca o la parcela productiva ya infectada, o la que se da entre fincas infectadas y libres aledañas. La de largas distancias es la que ocurre en áreas alejadas de los primeros puntos de detección.

El movimiento de material vegetal infectado y de agua y suelo contaminados parece ser uno de los factores más importantes para la diseminación de la enfermedad. Las lluvias pueden originar salpicaduras que transportan propágulos del patógeno o suelo infectado a distancias cortas. Con la escorrentía, estas salpicaduras dispersan el inóculo por los canales de riego y drenaje, o por los ríos.

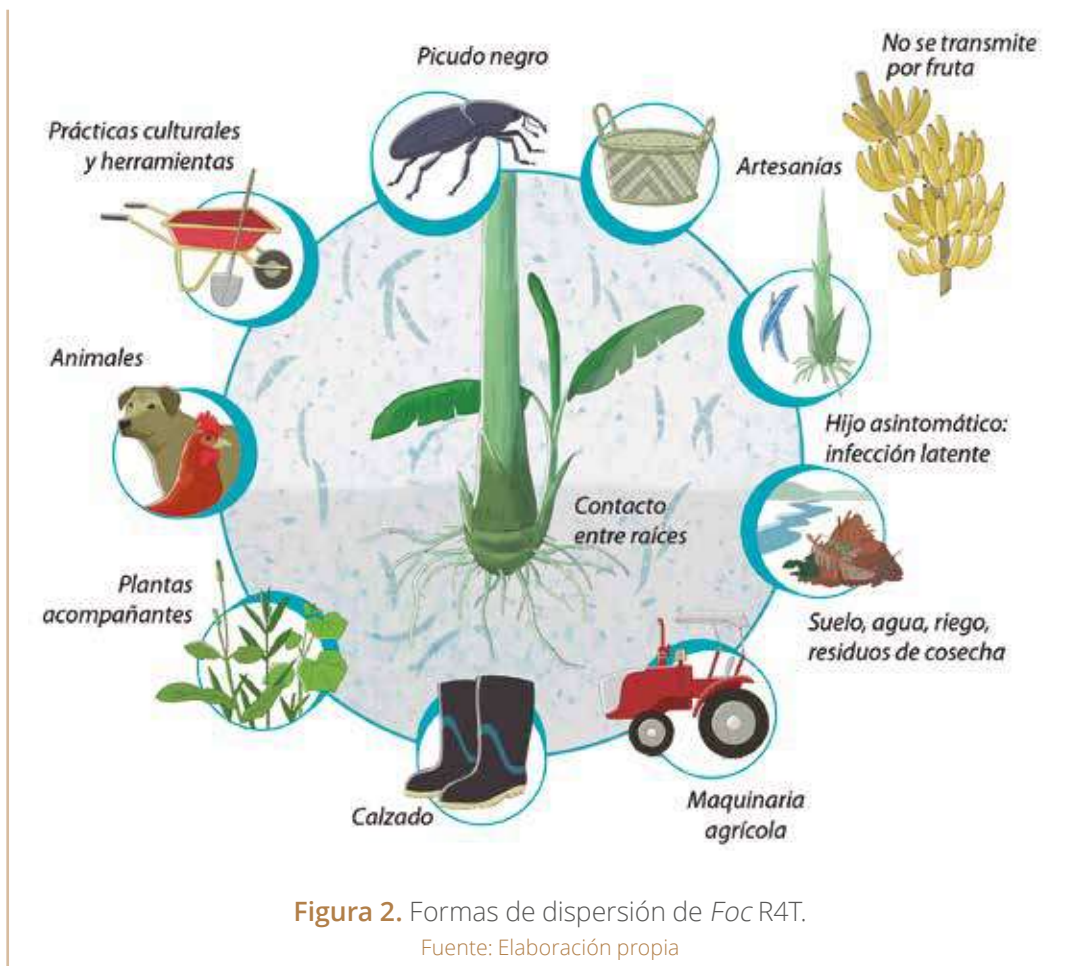
La dispersión del patógeno a larga distancia puede deberse al traslado de material de siembra infectado para uso como semilla o de suelo contaminado adherido a material de siembra, zapatos, herramientas o maquinaria (Bentley et al., 1998; Ploetz 2006; Pérez-Vicente, 2010).

Al principio, las plantas infectadas se encuentran distribuidas al azar dentro del cultivo; después, debido a la diseminación planta a planta, se forma un patrón agregado que aumenta su distribución de acuerdo con el manejo del cultivo.

La dispersión por movimiento pasivo de propágulos del patógeno ocurre en material vegetal de siembra, restos de plantas enfermas, compost o lixiviados. Las plantas madre infectadas contaminan los retoños por lo general de forma asintomática. Se considera que este fue el factor determinante para la propagación de *Foc R1*, el cual generó las epidemias que devastaron a Gros Michel en el siglo pasado (Dita et al., 2018).

La rápida propagación de la enfermedad en China se ha asociado al uso de material de siembra infectado y al agua de riego contaminada obtenida del río Pearl. Un efecto indirecto de la transmisión por medio del agua se presenta en invernaderos regados con líquido contaminado, el cual convierte las plántulas *in vitro* en diseminadoras asintomáticas (Dita et al., 2018).

En Australia, se han identificado poblaciones de cerdos salvajes (jabalíes) como dispersores pasivos de enfermedades fúngicas ocasionadas por patógenos del suelo, y en Centroamérica, roedores como ratas silvestres o topos (Dita et al., 2018). El picudo negro *Cosmopolites sordidus* Germar también puede transportar esporas viables del patógeno en su exoesqueleto (Meldrum et al., 2013a; Guillén Sánchez et al., 2021). Otros insectos como *Metamasius hemipterus* o los mosquitos *Bradysia* spp. también deberían ser tomados en cuenta como diseminadores de *Fusarium* spp. en invernaderos y viveros (Dita et al., 2018).



Los principales riesgos de la introducción de *Foc R4T* se relacionan con factores antropogénicos como el movimiento de material de siembra, mercancías, plantas, flores, artesanías, entre otros. Equipo agrícola, ropa, calzado, herramientas, contenedores y todo lo demás utilizado en áreas infestadas con *Foc R4T* pueden transportar y difundir el patógeno en áreas libres de la enfermedad. Huracanes, ciclones, tifones o vientos intensos también son potenciales diseminadores de *F. oxysporum*, puesto que pueden transportar restos vegetales, agua, suelo y otros elementos contaminados (Dita et al., 2018). En la figura 2 se resumen las principales vías de diseminación de *Foc R4T*.

Una de las tareas principales de la bioseguridad es identificar y caracterizar los factores de riesgo de dispersión para poder manejarlos adecuadamente (tabla 1).

Tabla 1. Factores de riesgo de dispersión de *Foc* R4T en plantaciones de musáceas

Vía de dispersión	Riesgo	Acciones de mitigación
Agua	<p>Aguas de riego y drenajes. Las fuentes de agua empleadas para el riego de la plantación podrían dispersar el patógeno por contaminación en la fuente o por salpicadura de gotas de plantas enfermas a plantas sanas. La disposición de residuos vegetales y de suelo en los canales de drenaje podría contaminar plantas aguas abajo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Tomar el agua para el riego de canales específicos y no de drenajes o de reservorios alimentados a partir de drenajes. • Instalar sistemas de riego eficientes que coloquen el agua en la planta o disminuyan el tamaño de la gota y con ello las salpicaduras. • Incorporar los residuos vegetales a la plantación y disponer los residuos no aprovechables en áreas específicas para ello.
Material vegetal	<p>Uso de material de siembra no registrado. Dado que no se cuenta con esquemas de producción de semilla certificada, los materiales producidos en fincas y sin control de autoridad sanitaria pueden estar contaminados con diferentes patógenos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • No usar semilla proveniente de sitios con registro de enfermedades cuarentenarias. • Usar semilla proveniente de viveros con registro de la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF). • En caso de realizar procesos de endurecimiento en finca, garantizar el uso de sustratos limpios. • Hacer verificación constante del material que se va a utilizar y su sanidad antes de llevar a campo.
Insectos	<p>Insectos plaga, particularmente barrenadores como el picudo negro, pueden cargar y dispersar partículas de suelo contaminadas y esporas de <i>Foc</i> R4T.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar un estricto manejo integrado de insectos plaga. • Manejar de manera adecuada los residuos de cosecha, principalmente de pseudotallos, los cuales facilitan la presencia de picudos

Vía de dispersión	Riesgo	Acciones de mitigación
Ropa, calzado y dotación	El personal que trabaja en las fincas puede dispersar el patógeno en ropa, botas y dotación al trasladarse entre áreas afectadas y zonas limpias.	<ul style="list-style-type: none"> • Dotar al personal de ropa y calzado para uso exclusivo en la finca. • Ubicar áreas de lavado y desinfección de botas para ingreso y salida de lotes y finca. • Separar al personal entre quienes trabajan en zonas libres y quienes lo hacen en áreas afectadas por el patógeno. • Solicitar al personal disminuir el contacto de la dotación (termos, celulares, libretas, entre otros) con suelo y plantas.
Entrada de personal ajeno a la finca	Es posible que los visitantes de las fincas provengan de sitios con problemas sanitarios y transporten el patógeno en ropa, zapatos y dotación.	<ul style="list-style-type: none"> • Restringir el ingreso de personas externas a la finca y llevar el control de su procedencia (predios visitados) a partir del registro de su entrada, con objeto de identificar el nivel de riesgo. • Exigir el uso de botas y vestimenta exclusivas o botas y traje de bioseguridad para ingresar a la finca.
Suelo y material vegetal	Herramientas empleadas en las labores culturales. Durante la realización de estas tareas, se pueden contaminar las herramientas.	<ul style="list-style-type: none"> • Dotar al personal de insumos (frascos lavadores o aspersores, solución desinfectante, entre otros) para el lavado y desinfección de las herramientas empleadas durante las diferentes labores. • Destinar herramientas para uso exclusivo en áreas limpias y afectadas.



Vía de dispersión	Riesgo	Acciones de mitigación
Maquinaria agrícola y vehículos	La maquinaria agrícola y los vehículos pueden dispersar el patógeno al llevar adheridas partículas de suelo contaminadas en llantas, chasis, herramientas, entre otros.	<ul style="list-style-type: none"> • Prohibir o restringir el ingreso de vehículos externos a la plantación e implementar estrictos protocolos de limpieza y desinfección para su ingreso y salida de la finca. • Restringir la movilización de maquinaria agrícola de áreas afectadas a zonas libres del patógeno dentro de la finca. • Llevar registro de la procedencia de maquinaria agrícola y de vehículos, con objeto de determinar el nivel de riesgo.
Animales domésticos y salvajes	Los animales pueden dispersar el patógeno mediante partículas de suelo adheridas a su cuerpo, cuando se mueven libremente entre áreas afectadas y zonas limpias.	<ul style="list-style-type: none"> • Prohibir la tenencia de animales domésticos y restringir el desplazamiento de animales silvestres al interior de las plantaciones.
Viento	En condiciones de alta incidencia de la enfermedad y sin erradicación de las plantas, puede generarse transmisión aérea.	Monitorear y erradicar de manera temprana las plantas enfermas.

Fuente: Elaboración propia

Uso de desinfectantes dentro de los esquemas de bioseguridad contra *Foc R4T*



Para desarrollar procesos de prevención, contención o manejo de *Foc R4T*, desde pequeños hasta grandes productores deben adoptar esquemas de desinfección para evitar la dispersión del patógeno a través de macroconidias, microconidias y clamidosporas (estructuras resistentes que favorecen la persistencia del hongo en suelo y residuos vegetales) (Dita et al., 2018). Para ello, se recomienda la instalación de pediluvios, rodiluvios y zonas de desinfección en puntos de ingreso y de tránsito peatonal y vehicular (Dita et al., 2013; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2013).

Una de las actividades que se ha reconocido como fundamental, sin importar el tipo de agricultor, es la desinfección de calzado, vehículos y herramientas mediante sustancias que tienen la capacidad de eliminar las estructuras de multiplicación del hongo. Los productos empleados en esta práctica, de origen natural o de síntesis química, se denominan “desinfectantes” (Lindsay, 2018). En cada país existe una gama de productos del ámbito agrícola o industrial con un potencial efecto desinfectante sobre los microorganismos. Identificar la eficacia de los productos disponibles en el mercado es clave para su uso adecuado en los sistemas productivos.

En general, los desinfectantes más recomendados para uso agrícola son los de amplio espectro. Entre ellos se encuentra el yodo agrícola, el cual tiene un uso amplio como desinfectante de herramientas y calzado, e incluso también se aplica en el suelo para el control de patógenos. El yodo inhibe los procesos respiratorios de los microorganismos y en consecuencia causa su muerte (Gottardi, 2001). Otras sustancias bien conocidas y de uso generalizado, sobre todo por su bajo costo, son los compuestos a base de cloro,

cuyo efecto oxidante inactiva las proteínas enzimáticas de los microorganismos (Sánchez-Saldaña & Sáenz-Anduaga, 2005).

El glutaraldehído es un aldehído de actividad fungicida y fungistática que inactiva rápidamente los microorganismos gracias a su efecto dañino sobre ADN, ARN y proteínas. Actúa mejor diluido en aguas con pH de 7 a 8, pero su acción es más limitada en microorganismos que forman esporas de resistencia, como *Foc R4T* (Ordóñez González, 2021).

Las sales de amonio cuaternario (SAC) han sido probadas con alta eficacia en microorganismos, pero el efecto puede variar de acuerdo con el tipo de amonio. En la actualidad, las SAC se clasifican de primera a quinta generación según la complejidad, conformación y combinación de las moléculas, las cuales potencian su actividad antifúngica (Wessels & Ingmer, 2013). Las moléculas de los amonios cuaternarios poseen una carga positiva que se une a las paredes y membranas celulares de los hongos, con lo cual las desestabilizan y ocasionan ruptura y daño general en la célula (Feng et al., 2020).

26

Todos los desinfectantes anteriormente descritos son menos eficaces en presencia de materia orgánica o de altas concentraciones de proteínas, ya que estas variables inhiben sus ingredientes activos y permiten escapes de estructuras infectivas del hongo que hacen posible su dispersión. Por esta razón, se recomienda de manera especial usarlos diluidos en aguas limpias y de buena calidad (Wild, 2017).

Se han llevado a cabo muchos estudios sobre la capacidad de esas sustancias, para determinar su eficiencia y eficacia en el control del hongo *Foc R4T*. En tal sentido, se han evaluado productos a base de cloro, yodo, cal y otros ingredientes activos, aunque los amonios cuaternarios, y en tiempos más recientes los glutaraldehídos, son los ingredientes activos que han demostrado mayor eficacia en el control de las estructuras propagativas del hongo, tanto en condiciones *in vitro* como en campo (Meldrum et al., 2013b; Nguyen et al., 2019; Izquierdo-García et al., 2021, Ordóñez González, 2021). De igual manera, la formulación ideal, la concentración y el tiempo de exposición y

recambio se han evaluado con mayor énfasis en *Foc* R1 y R4T, con el fin de optimizar las recomendaciones de uso.

Con base en los resultados de estos estudios, se recomienda el uso de amonios cuaternarios de primera a quinta generación, los cuales controlan de modo eficiente las estructuras del hongo, sobre todo en ausencia de suelo. Para que la capacidad desinfectante del amonio cuaternario no se reduzca, se aconseja sobre todo remover residuos sólidos y lavar calzado, herramientas o vehículos antes de entrar en contacto con la solución, consejo que se resume en la premisa “entre limpio y salga limpio”.

La Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) de cada país establece criterios y recomendaciones para el uso correcto de estas sustancias desinfectantes a nivel de finca, basados en procesos de prevención y contención y asociados a lavado de calzado y desinfección de herramientas, vehículos y contenedores para transporte de fruta. Cada una de estas labores ha sido cuidadosamente evaluada y validada en los países productores, con el fin, por una parte, de garantizar el uso correcto y eficiente de estas sustancias, y por otra, de establecer los programas sanitarios de prevención y control de acuerdo con las legislaciones y reglamentaciones de cada país.

La desinfección, indistintamente del producto utilizado, debe surtir los pasos expuestos en la figura 3 antes de llevarse a la práctica en condiciones de campo.



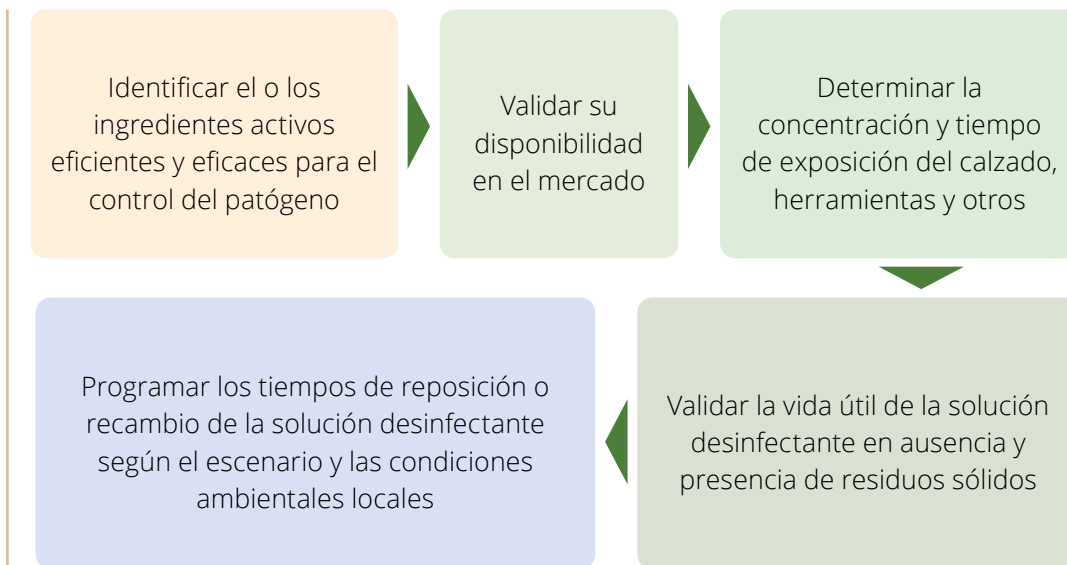


Figura 3. Pasos para planificar y adoptar la práctica de desinfección.

Fuente: Elaboración propia

Implementación de normas de bioseguridad en campo

Las fincas de banano con y sin presencia confirmada del patógeno necesariamente deben contemplar un programa riguroso de bioseguridad desde las decisiones operativas en campo. En 2018, el ICA estableció procedimientos de bioseguridad para las áreas de producción de banano, plátano y heliconias (Quintero et al., 2018). Básicamente, cualquier persona (trabajador o visitante), antes de entrar a las áreas productivas, debe pasar por un proceso de desinfección de calzado, y este último, además, debe ser de uso exclusivo de la finca. La implementación de este procedimiento varía de acuerdo con la capacidad financiera del productor, de forma que existen desde infraestructuras más tecnificadas (como en fincas grandes de exportación) hasta muy sencillas (pequeños productores). Sin embargo, ambos casos tienen como premisa y denominador común prevenir y minimizar la dispersión del patógeno, para lo cual es clave la adopción de esta práctica de desinfección.

29

Para entrar a las fincas con estatus cuarentenario por presencia de *Foc R4T*, se lleva un registro de todos los visitantes que ingresan, el cual debe estar a cargo de un funcionario (figura 4).



Figura 4. Registro de visitantes en las fincas cuarentenadas por *Foc R4T*.

Foto: Juan Gómez

A continuación, se indica el esquema metodológico utilizado en fincas grandes de exportación, que en el caso de Colombia han llevado a cabo enormes esfuerzos en temas de bioseguridad y tienen protocolos internos para el seguimiento de la estrategia integral sanitaria contra *Foc R4T*.

Recomendaciones generales de ingreso

Para ingresar a las fincas afectadas por *Foc R4T*, el personal externo debe usar traje de bioseguridad tipo I, en lo posible desechable, fabricado con tela quirúrgica de mínimo 35 g, con puños y tobillos encauchados. Antes de entrar a la finca, la persona autorizada debe cambiar su calzado por botas de caucho de uso exclusivo para el tránsito al interior en la finca. El traje se debe poner sin que toque el suelo, y las mangas de las piernas deben cubrir por la parte exterior la bota de bioseguridad hasta el tobillo para evitar la entrada de residuos o de suelo por la boca del calzado (figura 5). Posteriormente, la persona debe ponerse un gorro desechable y desinfectar las manos y las botas de manera adecuada antes de entrar a la finca. Por último, el retiro de los elementos de bioseguridad debe hacerse de adentro hacia afuera, de modo que el traje quede al revés. Este último se descarta de inmediato después de usado, junto con el gorro, y se debe repetir la desinfección de manos.

Con el fin de disminuir los costos de implementación de la bioseguridad en las fincas bananeras afectadas en Colombia, se ha optado por el uso de ropa exclusiva para el personal recurrente (figura 5). Estas personas se distribuyen por zonas de trabajo para minimizar la posibilidad de contacto con focos de la enfermedad.



Figura 5. Correcta vestimenta del traje de bioseguridad y personal de la finca con ropa de uso exclusivo del predio.

Foto: Juan Gómez

Uso y desinfección de calzado

Existe una infraestructura en las fincas para que los trabajadores o visitantes dejen su calzado y se pongan las botas de uso exclusivo, así como los trajes de bioseguridad (en el caso de visitantes) (figura 6). Luego se pasa por la fosa o pediluvio, que contiene una solución desinfectante a base de amonio cuaternario, y que es obligatorio para la entrada. Las fincas han adecuado pediluvios largos, en los que pueden entrar varias personas para desinfección a fin de evitar aglomeraciones y esperas para el ingreso (figura 7). Al obligar a la persona a dar unos pasos dentro del pediluvio, se cumple con el tiempo de contacto mínimo (30 segundos) del calzado con la solución desinfectante, lo cual garantiza la eficacia de esta práctica.

En lotes con focos de *Foc R4T*, se debe tener una sola entrada y salida. En estos puntos se colocan pediluvios que pueden estar bajo techo para que la solución desinfectante no tenga efectos de evaporación o dilución por efecto de precipitación. En algunos casos, los pediluvios son construidos en concreto y en ellos se hace el procedimiento de lavado y posterior desinfección (figura 8). Cada pediluvio cuenta con una zona de lavado con agua y con otra

sección donde está el amonio cuaternario para el proceso de desinfección. Cabe resaltar que las fincas no afectadas también cuentan con este modelo para cada una de las salidas, desde la planta empacadora hasta los lotes.



Figura 6. Área de cambio de calzado y puesta de traje de bioseguridad.

Foto: Juan Gómez



Figura 7. Fosa de desinfección de calzado para ingreso o salida de la finca.

Foto: Juan Gómez



Figura 8. Área de lavado y desinfección de calzado.

Foto: Juan Gómez

Otro factor importante es el tiempo de reposición o recambio de la solución desinfectante. Factores como la acumulación de suelo en el pediluvio, el tiempo transcurrido desde que se pone la solución, la frecuencia del uso del pediluvio, entre otros, deben tenerse en cuenta para garantizar que en todo momento la solución tenga la capacidad de desinfectar y no pierda eficiencia. Existen tirillas para evaluar la concentración del amonio cuaternario, las cuales sirven para tomar decisiones sobre el tiempo de reposición. La figura 9 ilustra el uso adecuado de las tirillas de amonio cuaternario, que se deben sumergir en la solución desinfectante hasta que cambien de color. La tirilla se compara con la escala impresa en el envase, que va de 0 a 1.500 ppm. Si la tirilla indica una concentración menor de 1.000 ppm (banda azul claro, verde o amarilla), es preciso renovar la solución de amonio cuaternario.

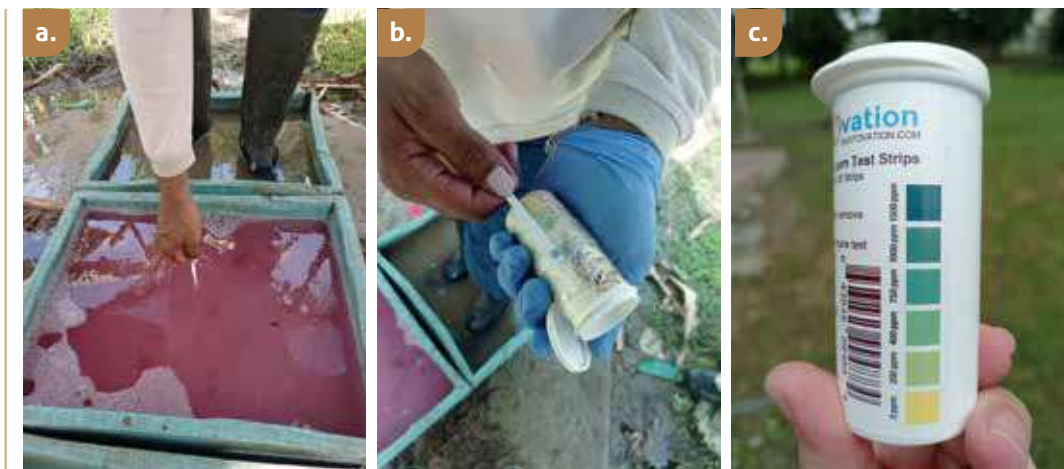


Figura 9. Uso de tirillas de amonio cuaternario en pediluvios. **a.** Inmersión de la tirilla en el pediluvio de desinfección; **b.** Lectura de la concentración de amonio cuaternario según la escala de colores; **c.** Escala de colores que indica la concentración.

Fotos: Juan Gómez

Las fincas de exportación han implementado otras estrategias para disminuir el contacto de las botas con suelo de la finca. Cuentan con caminos de concreto denominados “placa-huella”, sobre los cuales los trabajadores se desplazan por el cable vía, y con senderos que comunican los lotes y disminuyen el contacto con el suelo (figura 10).



Figura 10. Vista de placa-huella en condiciones de campo.

Foto: Juan Gómez

El protocolo de salida del personal contempla una situación similar, en la que el trabajador o visitante lava sus botas con agua en un primer pediluvio y luego avanza al siguiente, donde se encuentra la solución desinfectante en la que debe sumergir las botas por 30 segundos (figura 11). Posteriormente, cada trabajador o visitante deja las botas en el área de calzado y se pone los zapatos personales que se quitó antes del ingreso. Por último, se descarta el traje en bolsas de manejo de residuos peligrosos. Cada finca establece un protocolo de destrucción de estos materiales.



Figura 11. Área de lavado de botas antes de la fosa de desinfección para el cambio de calzado y salida de la finca.

Foto: Juliette Catalina Quintero Vargas

En la figura 12 se presenta un esquema paso a paso del protocolo de bioseguridad.



Figura 12. Esquema sinóptico del proceso de bioseguridad en fincas.

Fuente: Elaboración propia Fotos: Juan Gómez

Desinfección de vehículos y herramientas

Para el ingreso a las fincas con estatus cuarentenario, un empleado lleva registro de todos los vehículos que ingresan (motos, carros, camionetas, camiones), y además realiza el proceso de lavado y desinfección de las llantas en el área de rodiluvio (figura 13). El empleado retira con agua a presión los excesos de sólidos adheridos a las llantas y a otras zonas de los vehículos (figura 14a), para luego hacer una aspersión de la solución de amonio cuaternario en llantas y ejes (figura 14b). Esto se realiza cuando entran y salen los vehículos.

Un proceso similar se desarrolla en las fincas de banano de exportación libres de la enfermedad, en las cuales también se tiene una estructura y un protocolo riguroso para la entrada de visitantes y el lavado de vehículos al ingreso y salida de las fincas.

36



Figura 13. Área de lavado y desinfección de vehículos, rodiluvio.

Foto: Juan Gómez

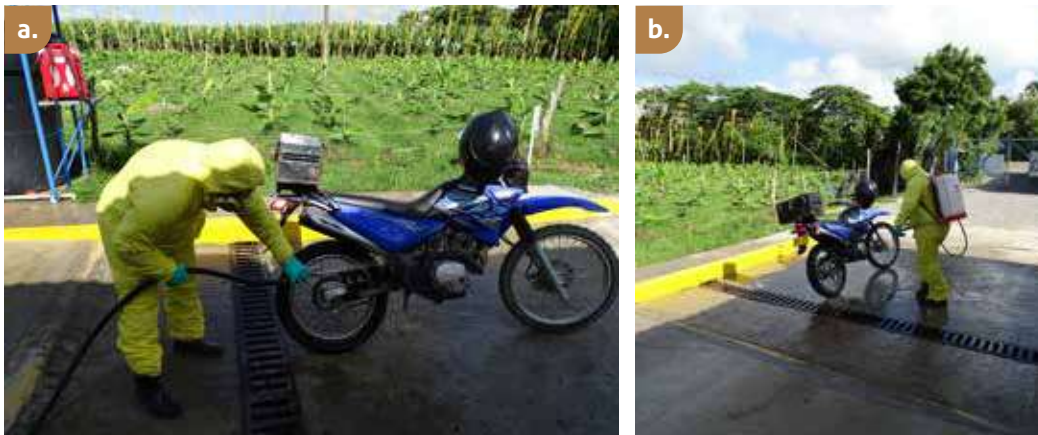


Figura 14. Procedimiento de lavado de vehículos.

a. Lavado de vehículos con agua a presión; **b.** Desinfección de vehículos mediante aspersión de una solución de amonio cuaternario a 1.200 ppm.

Fotos: Juan Gómez

Para vehículos que se trasladan de áreas con presencia del patógeno a zonas libres, el ICA dispone de puntos de control, en donde lleva a cabo un proceso de desinfección con una infraestructura acondicionada para tales efectos (figura 15). Este proceso garantiza el monitoreo de los vehículos que ingresan a las fincas y disminuye la probabilidad de diseminar el patógeno a otras zonas del país. Los puntos de control del ICA cuentan con área en gravilla, zona de lavado y fosas de recolección, que permiten una secuencia metodológica en la labor de desinfección.



Figura 15. Punto de control de la ONPF (ICA).

Foto: Juan Gómez

Para desinfectar herramientas de trabajo (machetes, azadón, palas, etc.) en zonas donde han aparecido focos de la enfermedad, existen áreas específicas y además el personal de lotes afectados es diferente al personal general de la finca (figura 16).



Figura 16. Aspersor con solución desinfectante para uso regular en herramientas.

Foto: Juan Gómez

Desinfección de contenedores en fincas o puertos

38

Para garantizar que los contenedores de fruta que siguen rutas de comercialización nacionales e internacionales no sean vehículos de dispersión del patógeno, previamente los vehículos deben someterse a lavado y aspersión de la solución desinfectante de amonio cuaternario en la zona de empaque de las fincas. Además, en los puertos de embarque existe una infraestructura para desinfección adicional de los contenedores, denominada “arco de desinfección”, la cual está bajo supervisión del ICA (figura 17).



Figura 17. Infraestructura de arcos de lavado en el puerto de Santa Marta (Magdalena).

Foto: Jacobo Robledo

Resultados de las investigaciones de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA sobre el uso de desinfectantes



Con el fin de determinar la eficacia de diferentes desinfectantes frente a *Foc* R4T, se evaluó un grupo de productos recomendados por el ICA y las asociaciones de productores de banano, con una dosis de 1.200 ppm frente a una cepa del patógeno proveniente de La Guajira en condiciones *in vitro*. Los ensayos se desarrollaron para las diferentes estructuras reproductivas del hongo, en exposición directa y con presencia de suelo. Los resultados de este trabajo se pueden consultar en la publicación de Izquierdo-García et al. (2021).

Metodología

39

Evaluación de desinfectantes contra macro y microconidias de *Foc* R4T sin presencia de suelo. Se prepararon soluciones de trabajo de diez desinfectantes comerciales basados en amonio cuaternario para asegurar una concentración final de 1.200 ppm en cada producto. Esta concentración es efectiva en la desinfección de *Foc* R4T de acuerdo con los resultados reportados por Nguyen et al. (2019). Además, se evaluaron cuatro concentraciones de un glutaraldehído (500, 800, 1.200 y 2.000 ppm) (tabla 2). Los desinfectantes fueron puestos en contacto con estructuras activas (macro y microconidias) de *Foc* R4T en dos tiempos diferentes: <1 minuto (entre 6 y 30 segundos) y 15 minutos.

Tabla 2. Desinfectantes evaluados y sus características químicas (ingredientes activos y generación de amonios cuaternarios)

Desinfectante	Ingrediente activo	Generación amonio cuaternario
1. QAC1- 1. ^a	Cloruro de benzalconio	1. ^a
2. QAC2-1. ^a	Cloruro de benzalconio	1. ^a
3. QAC3-1. ^a	Cloruro de benzalconio	1. ^a
4. QAC4-1. ^a	Cloruro de benzalconio	1. ^a
5. QAC5-4. ^a	Cloruro de dimetilamonio	4. ^a
6. Qac6-4. ^a	Cloruro de didecildimetilamonio	4. ^a
7. QAC7-4. ^a	Cloruro de benzalconio + cloruro de didecildimetilamonio	4. ^a
8. QAC8-5. ^a	Cloruro di(octil/decil) + dimetilamonio + cloruro de benzalconio	5. ^a
9. QAC9-5. ^a	Amonio cuaternario	5. ^a
10. QAC10-5. ^a	Amonio cuaternario	5. ^a
11. GA11. ^a	Glutaraldehído	-

Fuente: Elaboración propia

Una concentración de 1×10^6 conidios/mL de macro y microconidias de *Foc* R4T se mezcló con el respectivo desinfectante en los tiempos mencionados anteriormente, luego se llevó a concentraciones de inactividad con dilución en agua a 120 ppm y se sembró en cajas de Petri con medio de cultivo sólido de agar de papa y dextrosa (PDA). Después de siete días, se llevaron a cabo las evaluaciones de inhibición de macro y microconidias en cada uno de los desinfectantes. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, en el que cada tratamiento correspondió a los productos desinfectantes, incluido un

control positivo sin aplicación de desinfectante, con tres réplicas técnicas de cada tratamiento y tres cajas de Petri como unidad experimental.

Evaluación de desinfectantes contra macro y microconidias de *Foc R4T* en presencia de suelo. Se pesaron 100 mg de suelo previamente tamizado, con un contenido de materia orgánica de 10,56 % en tubos de 2 mL, y se esterilizaron con tres ciclos en autoclave (121 °C y 20 PSI de presión). Se inocularon 200 µL de una suspensión de 5×10^5 conidios/mL en cada tubo de 2 mL que contenía suelo estéril, y los tubos se llevaron a incubación a 27 °C durante 24 horas.

Pasadas 24 horas de contacto de *Foc R4T* con el suelo, se adicionaron a cada tubo 800 µL de cada desinfectante evaluado para obtener una concentración final de 1.200 ppm en presencia de patógeno y suelo. Se evaluaron tiempos de exposición de <1 y 15 minutos. Inmediatamente después de los tiempos de contacto, se realizó una dilución del desinfectante a 120 ppm con el fin de detener la reacción. Luego se sembró 1 mL en medio PDA suplementado con tritón y cloranfenicol, se llevó a incubación durante cinco días a 25 °C y se estimó el número de unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL). Se utilizó el mismo diseño experimental indicado en los ensayos sin presencia de suelo.

Evaluación de desinfectantes *in vitro* contra clamidosporas de *Foc R4T*. Para la producción de clamidosporas se siguió el protocolo suministrado por la Corporación Bananera Nacional de Costa Rica (Corbana), con un medio de cultivo basado en suelo y raíces de banano o plátano. Para ello, se tomaron raíces de plátano y banano sanas, se licuaron a máxima velocidad durante un minuto, el líquido obtenido se filtró con muselina (0,5 mm) para eliminar el exceso de humedad, y el material se colocó en bandejas de aluminio y se secó a 50 °C durante 24 horas. Posteriormente, las raíces secas se licuaron con el fin de disminuir el tamaño de partícula, se mezclaron en un erlenmeyer de 500 mL con suelo orgánico en una relación 3:1 de raíz-suelo (v/v) y se esterilizaron en dos ciclos de autoclave a 121 °C y 15 psi de presión durante quince minutos.



La inoculación de *Foc* R4T se realizó a partir de una fermentación líquida del hongo de siete días de edad en medio de cultivo de caldo de papa (*potato-dextrose-broth* [PDB]), con 10 mL de inóculo en 100 mL de medio de cultivo. Luego se llevó a incubación a 27 °C bajo oscuridad, y a partir del día 21 se observó bajo el microscopio la formación de clamidosporas.

Después de los 21 días de incubación, y con el fin de liberar las clamidosporas puras y separarlas de otras estructuras formadas por el microorganismo, se siguió el protocolo descrito por Nguyen et al. (2019). Se tomó el micelio junto con medio de cultivo y se adicionó agua destilada estéril con una jeringa sobre una muselina estéril para eliminar los microconidios. Luego, el micelio fue llevado a agitación, a temperatura ambiente, durante una hora a 500 rpm, con el fin de romper los agregados de micelio y liberar las clamidosporas formadas. Posteriormente, el micelio fue filtrado por muselina, el líquido obtenido se centrifugó durante 30 minutos a 7.000 g, se eliminó el sobrenadante y el *pellet* fue resuspendido en sacarosa al 50% y centrifugado a 7.000 g durante dos minutos para eliminar el suelo. Después, el sobrenadante que contenía aún microconidios y clamidosporas fue centrifugado de nuevo durante 30 minutos a 7.000 g para eliminar los microconidios restantes. El sobrenadante obtenido, que contenía las clamidosporas puras, fue centrifugado otra vez durante una hora. El *pellet* obtenido fue resuspendido en agua destilada estéril, procedimiento que se repitió dos veces con el fin de eliminar los residuos de sacarosa. Finalmente, las clamidosporas fueron conservadas a 4 °C hasta su uso.

Evaluación de desinfectantes contra clamidosporas de *Foc* R4T en ausencia y presencia de suelo. El protocolo para la evaluación de las clamidosporas en ausencia y presencia de suelo fue el mismo usado para macro y microconidias, poniendo en contacto una concentración de 5×10^5 de clamidosporas.

Resultados. El protocolo usado fue eficaz para la producción de propágulos de *Foc* R4T y la posterior evaluación de la eficacia de los desinfectantes contra las clamidosporas.

Evaluación de desinfectantes contra *Foc* R4T en ausencia de suelo.

Todos los amonios cuaternarios (1.200 ppm) presentaron 100% de eficacia contra macro, microconidias y clamidosporas (figura 18).

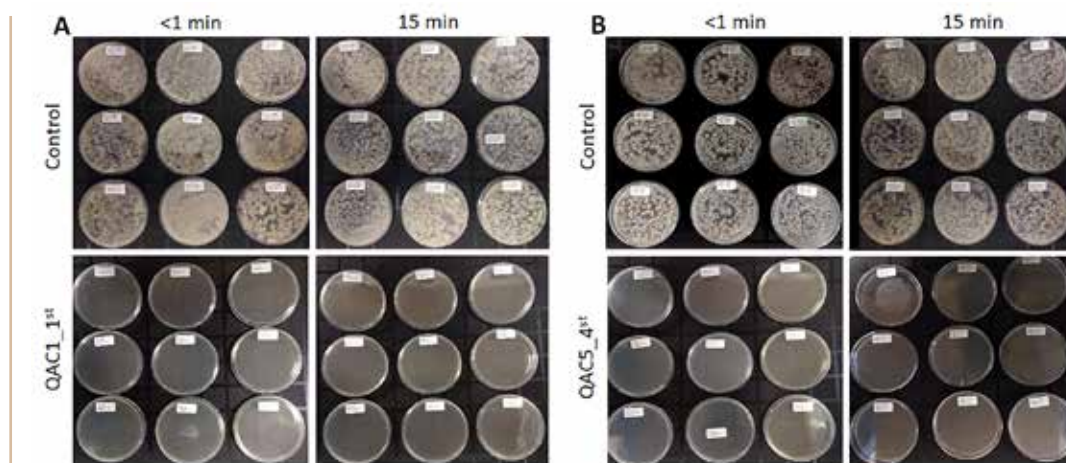


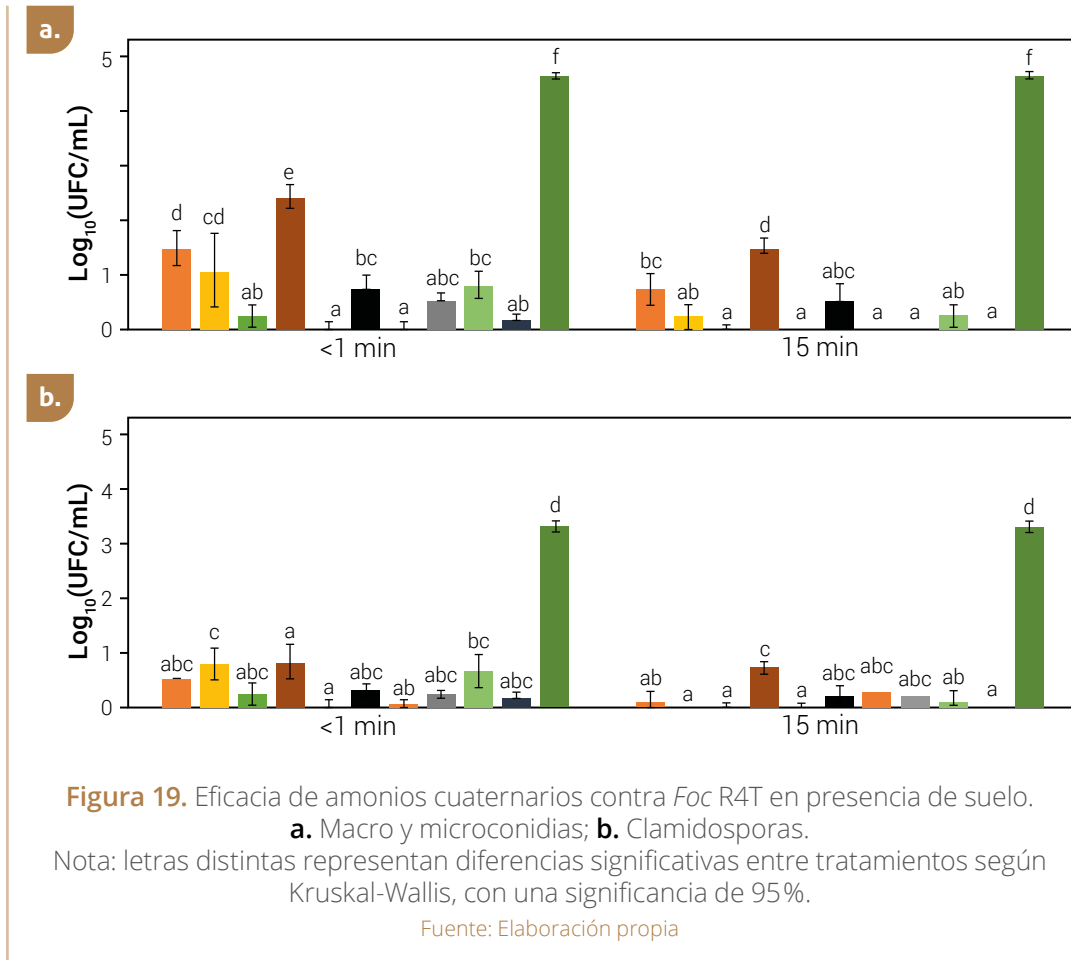
Figura 18. Eficacia de amonios cuaternarios contra *Foc* R4T en ausencia de suelo en dos tiempos de exposición. **a.** Macro y microconidias con (abajo-QAC1_1st) y sin (arriba-control) tratamiento desinfectante; **b.** Clamidosporas de *Foc* R4T con (abajo-QAC5_4st) y sin (arriba-control) tratamiento desinfectante.

Fuente: Elaboración propia. Fotos: Lorena Carmona y Luisa Izquierdo

Evaluación de desinfectantes contra *Foc* R4T en presencia de suelo.

Todos los amonios cuaternarios redujeron la germinación de esporas de *Foc* R4T tanto a <1 min como a 15 min de exposición, con valores de inhibición de 80 a 100% (figura 19a). Seis amonios cuaternarios (QAC2_1.º, QAC3_1.º, QAC7_4.º, QAC8_5.º, QAC9_5.º y QAC10_5.º) alcanzaron más de 95 % de actividad fungicida contra micro y macroconidias de *Foc* R4T a 15 min de exposición. Otros tres desinfectantes (QAC1_1.º, QAC4_1.º y QAC6_4.º) redujeron su eficacia de 70 a 91 %, lo que permitió escapes de propágulos de *Foc*.

Similar a lo obtenido con micro y macroconidias, el QAC5_1.º alcanzó 100% de efecto fungicida contra clamidosporas en presencia de suelo en ambos tiempos de exposición (figura 19b). Los amonios QAC3_1.º y QAC8_5.º fueron eficaces en 98 y 100%; y 94 y 97 % contra clamidosporas a <1 min y 15 min respectivamente. Los demás desinfectantes alcanzaron niveles de eficacia entre 82 y 97%.



No se encontraron reportes previos en Colombia sobre tiempos de exposición, concentraciones y productos basados en glutaraldehídos para su uso en campo. Por esta razón se evaluaron cuatro concentraciones, de las cuales, en presencia de suelo, ninguna fue 100% efectiva durante <1 min de exposición (figuras 20 y 21). Sin embargo, después de 15 min, las concentraciones de 1.200 y 2.000 ppm previnieron de manera efectiva el crecimiento de *Foc* R4T (figura 21), con diferencias significativas entre tiempos de exposición y dosis.

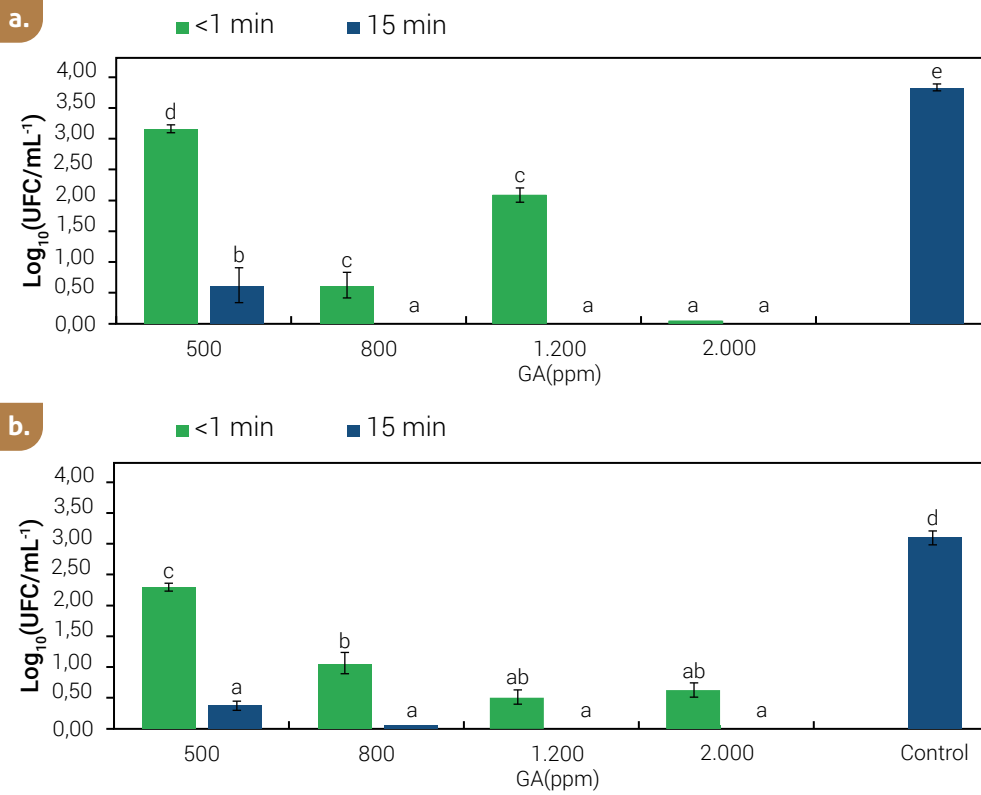


Figura 20. Eficacia de glutaraldehído frente a propágulos de *Foc* R4T en presencia de suelo. **a.** Macro y microconidias; **b.** Clamidosporas.

Fuente: Elaboración propia.

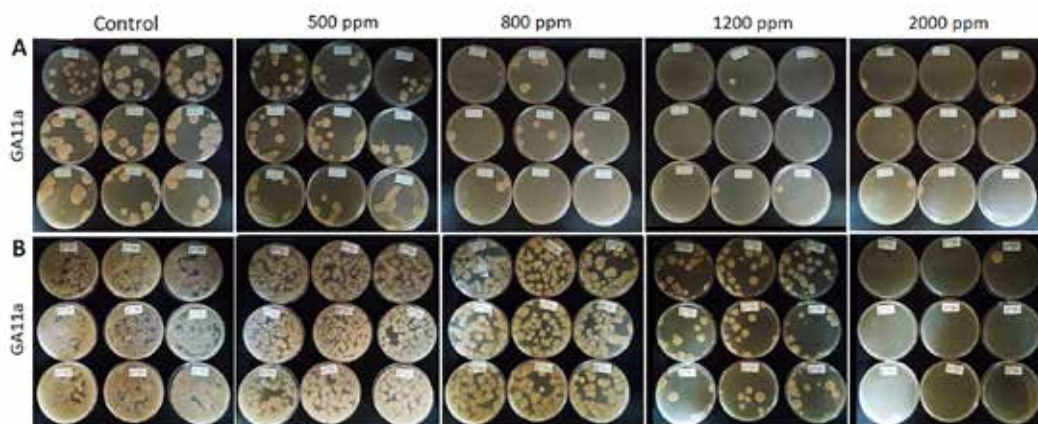


Figura 21. Eficacia de un desinfectante a base de glutaraldehído sobre propágulos de *Foc* R4T en presencia de suelo. **a.** Macro y microconidias; **b.** Clamidosporas.

Fotos: Luisa Izquierdo, Lorena Carmona

Discusión

La exclusión es la mejor práctica de manejo para una plaga cuarentenaria como es el caso de *Foc R4T*. Desde este punto de vista, es esencial usar medidas de bioseguridad basadas en resultados científicos. Luego de una incursión de *Foc R4T*, las herramientas que permiten mantener la sostenibilidad en la producción son la detección temprana, la erradicación de plantas infectadas y, sobre todo, la implementación de estrictas medidas de bioseguridad (Dita et al., 2018). El éxito de estas estrategias depende de la calidad de los procedimientos de desinfección, lo cual incluye información confiable sobre la eficacia de los desinfectantes disponibles en el mercado local. Varios estudios han evaluado con anterioridad diferentes desinfectantes (Meldrum et al., 2013b; Nguyen et al., 2019; Ordóñez González, 2021). En este trabajo, se evaluaron diez amonios cuaternarios y un glutaraldehído en presencia y ausencia de suelo (Izquierdo-García et al., 2021). Sin suelo, todos los amonios cuaternarios tuvieron 100 % de eficacia tanto con macro y microcoidias como con clamidosporas. Resultados similares fueron obtenidos por Nel et al. (2007), pero en diferentes tiempos de exposición (5, 10, y 15 min). En otro estudio, el uso de amonios cuaternarios mostró alta eficacia contra esporas de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Bennet et al., 2011); sin embargo, de acuerdo con lo encontrado en este trabajo, la eficacia se redujo en presencia de suelo.

La materia orgánica presente en el suelo contribuye a disminuir la actividad biocida de los desinfectantes. Nguyen et al. (2019) evaluaron el efecto de dos tipos de suelos (ferralsol en *Foc R1* y kandosol en *Foc R4T*) sobre la disminución de la actividad de diferentes desinfectantes. Ambos suelos son comunes en el continente americano. Los ferralsoles por lo general tienen entre 0,7 y 3% de materia orgánica, y en algunas excepciones pueden alcanzar 9% (Morell Planes & Hernández Jiménez, 2008). Los suelos colectados en La Guajira, Colombia, han presentado un valor promedio de materia orgánica de 1,8%; en este estudio se empleó un andosol rico en materia orgánica (10,56%) para simular lo que ocurre en suelos con altos niveles de materia orgánica, los cuales han sido reportados como inhibidores de

glutaraldehydos (Chandler-Bostock & Mellits, 2015). Estas variantes podrían explicar las diferencias en las eficacias obtenidas en este trabajo y el de Nguyen et al. (2019).

También se ha reportado que la materia orgánica afecta los glutaraldehydos, como en el trabajo de Chandler-Bostock y Mellits (2015), en el que un desinfectante a base de glutaraldehído solo fue efectivo frente a bajos o nulos contenidos de materia orgánica contra un rotavirus porcino. Se han descrito dos mecanismos por los cuales la materia orgánica tiene un efecto negativo sobre la eficacia de amonios cuaternarios: 1) la materia orgánica puede actuar como una barrera física que protege a los microorganismos, y 2) la materia orgánica interactúa con la molécula desinfectante dada su carga catiónica, lo que afecta la disponibilidad del desinfectante para estar en contacto con el microorganismo (Iñiguez-Moreno et al., 2018).

Meldrum et al. (2013b) evaluaron la germinación de microconidias de *Foc* R4T después de cuatro tiempos de exposición (30 s, 1, 5 y 15 min) en un amonio cuaternario de cuarta generación y un hipoclorito de sodio, y encontraron 100% de eficacia en los cuatro tiempos de exposición. No obstante, un detergente usado para maquinaria agrícola resultó eficaz en solo 60% de todos los tiempos. Por otro lado, el producto basado en hipoclorito de sodio perdió su capacidad después de un mes a temperaturas entre 22 y 58 °C y luz constante, mientras el amonio cuaternario mantuvo un 100% de eficacia

Recientemente, los amonios cuaternarios y otros desinfectantes han sido evaluados en *Foc* R4T en presencia de suelo (0,05 g/mL), con 100% de eficacia en varios tiempos de exposición (30 s a 24 h) en una concentración de 1.200 ppm (Nguyen et al., 2019).

En este estudio, un desinfectante basado en glutaraldehído no fue 100% efectivo a 1.200 ppm e incluso a 2.000 ppm en presencia de suelo, durante <1 min de contacto. Sin embargo, después de 15 min el producto fue eficaz, lo que indica la importancia del tiempo de exposición para las concentraciones de 1.200 y 2.000 ppm.



Es importante considerar que algunos microorganismos como *Xanthomonas* spp. y *Pseudomonas* spp. pueden degradar los amonios cuaternarios al romper el enlace C-alkil-N del compuesto (Takenaka et al., 2007; Tezel & Pavlostathis, 2015). Por eso es importante realizar estudios en las localidades específicas.

Los amonios cuaternarios se encuentran entre los desinfectantes de mayor uso, ya que en las dosis recomendadas no son corrosivos, resultan altamente estables y eficaces contra microorganismos y presentan bajo riesgo de toxicidad para humanos y animales (Gerba, 2015). La reducción de la eficacia de los desinfectantes por parte del suelo hace necesario lavar antes de realizar la desinfección de herramientas, botas, vehículos, etc.

La incursión de *Foc* R4T en Colombia encendió las alarmas no solo para las zonas productoras libres del patógeno en el país, sino también para todos los países productores de Latinoamérica y el Caribe (LAC). Mantener el patógeno restringido a las zonas actualmente afectadas mantendrá a salvo no solo el mercado del banano nacional, valorado en 858 millones de dólares (FAO, 2014), sino también la economía de 12 millones de personas que dependen de este cultivo en LAC (Dita et al., 2013).

Conclusiones

Este trabajo representa la evidencia científica para recomendar desinfectantes disponibles en el mercado en Colombia, que pueden contribuir a limitar la dispersión de *Foc* R4T. Sin embargo, para la mayoría de productos no es posible lograr la efectividad del 100 % en presencia de suelo con la concentración de 1.200 ppm. Es crucial complementar los desinfectantes con un proceso adicional en campo, que incluya la remoción completa del suelo presente en equipos, herramientas, botas y demás elementos.

Para seleccionar las dosis más altas de amonios cuaternarios y glutaraldehídos en los procesos de desinfección, se deben tener en cuenta otros factores, tales como costo del producto, tiempo de exposición, tipo de superficie, corrosividad, longevidad e impacto sobre el ambiente.

Evaluación del proceso de desinfección en fincas y en vías terrestres de Colombia



Con el objetivo de verificar a nivel de laboratorio el funcionamiento de las estrategias de bioseguridad implementadas en las fincas bananeras de Colombia libres y afectadas por *Foc R4T*, se hicieron muestreos en los diferentes esquemas de bioseguridad implementados en fincas comerciales, de traspatio y puestos de control y desinfección ubicados en los departamentos de La Guajira y Magdalena.

Los sitios de muestreo fueron concertados previamente con el ICA, e incluyeron en el Magdalena cinco fincas de traspatio y cinco comerciales, y en La Guajira cinco fincas comerciales en cuarentena, cinco fincas comerciales sin reportes de *Foc R4T* y cinco fincas de traspatio (figura 22).

Para la toma de muestras, se siguieron todos los protocolos de bioseguridad para *Foc R4T* y COVID-19 definidos por el ICA y por cada una de las fincas. Se utilizaron equipos de protección personal (overol desechable, botas, guantes y tapabocas) para ingresar a las fincas y sus diferentes lotes. Para el caso de las fincas cuarentenadas, las muestras fueron directamente tomadas por funcionarios del ICA y personal interno de cada finca.

En cada finca y de acuerdo con el sistema de bioseguridad instalado, se tomaron muestras de las soluciones de los pediluvios ubicados en el acceso principal a la finca y en las entradas de uno o dos lotes seleccionados al azar dentro de las plantaciones. También se realizó un frotis con hisopos en botas de los trabajadores antes y después del proceso de desinfección. Todas las muestras se tomaron al inicio del ingreso del personal y al final de la jornada (figura 23).

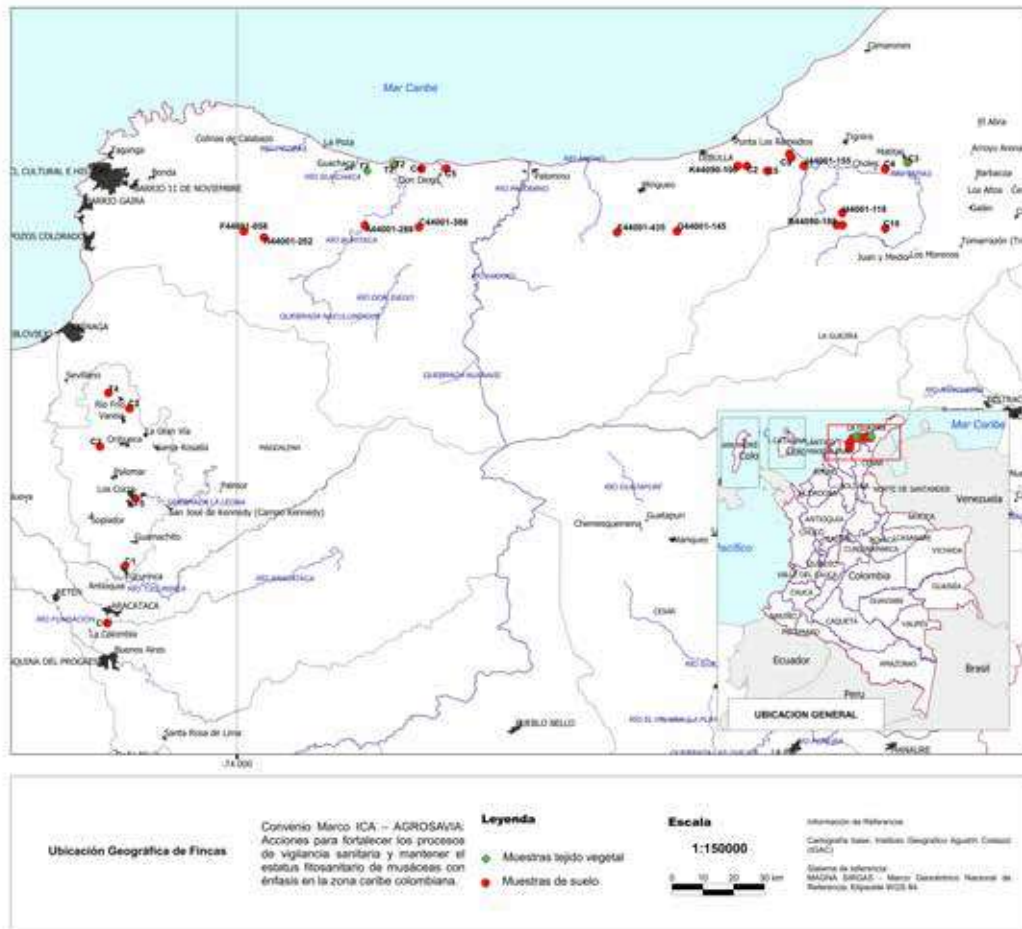


Figura 22. Ubicación de puntos de muestreo en los departamentos de Magdalena y La Guajira.

Fuente: Elaboración propia



Figura 23. Procedimiento de toma de muestras en pediluvios en fincas. **a.** Frotis en calzado; **b.** Toma de muestras en pediluvio; **c.** y **d.** Estado final de las muestras para envío a laboratorio.

Fotos: Kathleen Baquero

Muestreos en puestos de control oficiales de Magdalena y La Guajira

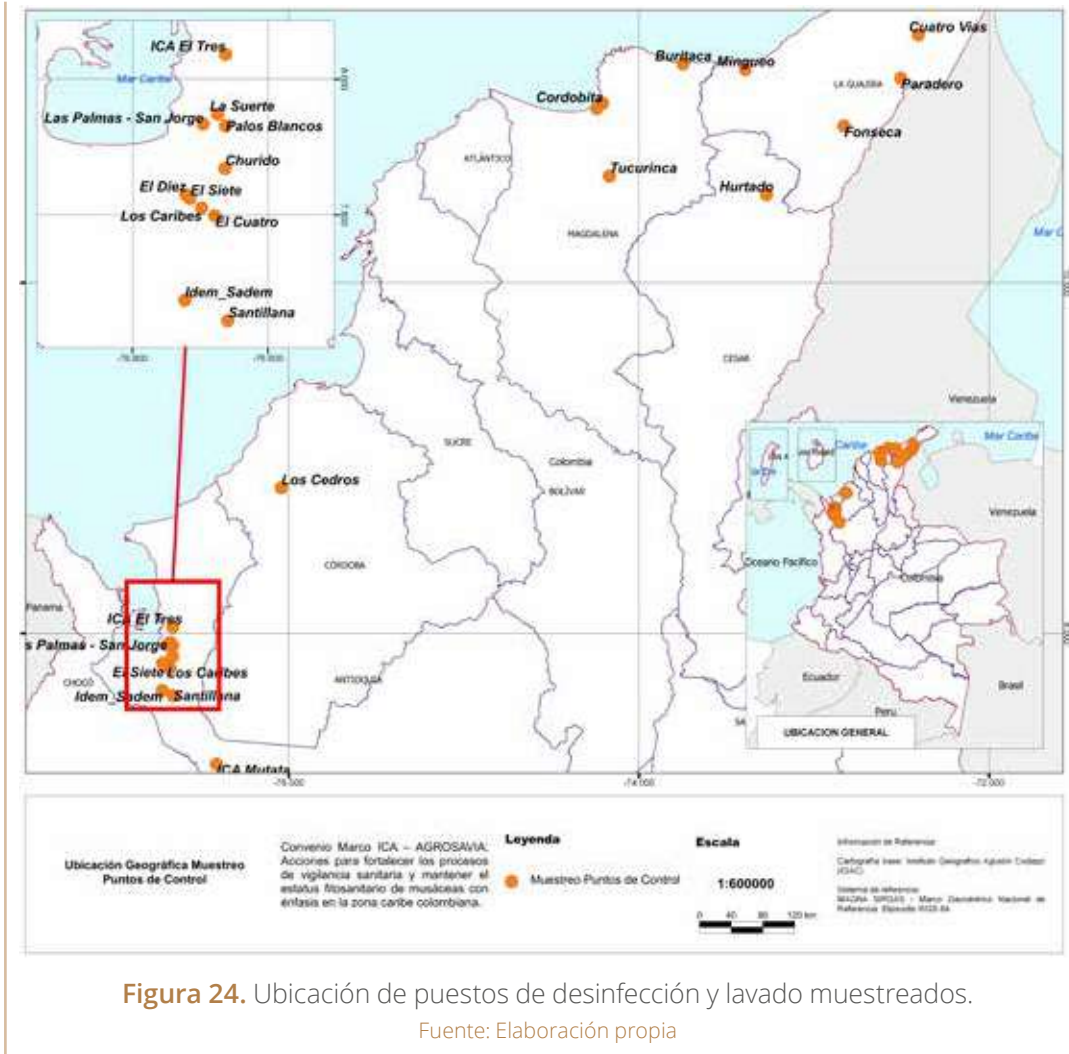
Con el objetivo de evaluar la eficacia de los desinfectantes usados en los puestos de control del ICA, se hizo un recorrido en la costa norte colombiana en cuatro departamentos: Cesar, Córdoba, La Guajira y Magdalena.

En los departamentos de Cesar y Córdoba se llevó a cabo un solo muestreo en los puestos de control y desinfección de mayor flujo vehicular. Para el caso de Magdalena y La Guajira, se realizaron dos muestreos en momentos diferentes en los puestos de control y desinfección establecidos en todo el perímetro de las zonas bananeras (tabla 3, figura 24).

Tabla 3. Puestos de control del ICA muestreados en los departamentos de Magdalena, La Guajira, Cesar y Córdoba

Departamento	Municipio	Nombre puesto de control y desinfección
Magdalena	Ciénaga	Cordobita
Magdalena	Zona Bananera	Tucurinca
Magdalena	Ciénaga	Sevillano
Magdalena	Santa Marta	Buritacá
La Guajira	Maicao	Cuatro Vías
La Guajira	Albania	Paradero
La Guajira	Fonseca	Fonseca
La Guajira	Dibulla	Mingueo
Córdoba	Montería	Los Cedros
Cesar	Valledupar	Hurtado

Fuente: Elaboración propia



El muestreo en los puestos de control consistió en tomar frotis con hisopos de las llantas de los carros antes y después del proceso de desinfección. Para la toma de muestras se utilizaron hisopos estériles y tubos de plástico. El frotis se realizó en cada una de las llantas y en tres puntos diferentes, con un hisopo por cada una. Los hisopos después se unificaron en un solo tubo para el envío a laboratorio (figura 25).

1. Para carros de cuatro llantas, se hicieron frotis en dos llantas escogidas al azar.
2. Para carros de más de dos ejes (camiones), se muestrearon cuatro llantas.



Figura 25. Pasos del protocolo de muestreo en puestos de control.
a. Toma de muestra con hisopo, frotis de llanta; **b.** Estado final de la muestra para envío a laboratorio.

Fotos: Kathleen Baquero

Muestreo en puestos de lavado en Urabá y Magdalena

El trabajo se llevó a cabo en diez puntos de lavado en la subregión del Urabá antioqueño y en dos puestos del Magdalena (tabla 4, figura 26). En cada uno de ellos se realizó un frotis a las llantas de los vehículos lavados y desinfectados para verificar la efectividad del procedimiento. Además, se identificó y caracterizó cada punto de acuerdo con la afluencia de vehículos y los procesos llevados a cabo.

Se llevaron a cabo dos recorridos en los puntos de desinfección, y en cada uno se realizó el muestreo de mínimo dos vehículos. Se hizo un frotis a las llantas de los vehículos, dos a los de dos ejes y cuatro a los de tres o más ejes, en tres momentos del proceso de lavado y desinfección: al momento de llegada, luego del lavado y después de la desinfección (figura 26).

Una vez obtenidos los frotis de las llantas, estos se dispusieron en tubos plásticos de 15 mL, y se almacenaron en refrigeración a 5 °C hasta su envío al Centro de Investigación (CI) Tibaitatá de AGROSAVIA.

Tabla 4. Puestos de lavado muestreados en Urabá y Magdalena

Cantidad	Lugar	Municipio-región o departamento
1	Santillana	Chigorodó-Urabá
2	Ídem-Sadem	Chigorodó-Urabá
3	El Cuatro	Carepa-Urabá
4	Los Caribes	Carepa-Urabá
5	El Siete	Carepa-Urabá
6	El Diez	Carepa-Urabá
7	Churidó	Apartadó-Urabá
8	Palos Blancos	Turbo-Urabá
9	La Suerte	Turbo-Urabá
10	Las Palmas-San Jorge	Turbo-Urabá
11	ICA El Tres	Turbo-Urabá
12	ICA Mutatá	Mutatá-Urabá
13	El Reposo	Zona Bananera-Magdalena
14	Cerro Azul	Zona Bananera-Magdalena

Fuente: Elaboración propia



Figura 26. Proceso de muestreo en puestos de lavado de Urabá. **a.** Muestreo en llantas del vehículo; **b.** Lavado de llantas; **c.** Desinfección de llantas.

Fotos: Eddie Yacir Álvarez

Paralelamente, en cada punto de desinfección se obtuvieron muestras de aguas en la cámara de recibo del líquido, en los tanques desarenadores y en el filtro de vertimiento final (figura 27). Al igual que las anteriores, las muestras se almacenaron en tubos de plástico a 5 °C hasta su envío al CI Tibaitatá.



Figura 27. Procedimiento de muestreo en filtros de aguas residuales.
a. Filtros finales de disposición de agua; **b.** Cajas de recolección de lodos.

Fotos: Gloria Castillo

Muestreo en puertos

En condiciones de puerto, se tomaron muestras a los contenedores de banana en los siguientes momentos:

1. Antes del lavado o paso del contenedor (vehículo) por el arco de lavado.
2. Después del paso por el arco de lavado.
3. Después de la aplicación del desinfectante en el arco de desinfección.

Además, se tomaron muestras de líquidos residuales en los siguientes puntos (figura 28):

1. Pozo de residuos de solución desinfectante en el área de desinfección.
2. Solución desinfectante del pediluvio de los operarios.



Figura 28. Proceso de muestreo en puertos; **a.** Arcos de lavado en puerto; **b.** Proceso de desinfección en puerto; **c.** Toma de muestras en fosas de descarte; **d.** Estado final de la muestra para envío al laboratorio.

Fotos: Jacobo Robledo

Procesamiento de muestras a nivel microbiológico e identificación de *Foc R4T*

Las muestras fueron recibidas, desembaladas, registradas y almacenadas en el Laboratorio de Genética Molecular de AGROSAVIA, CI Tibaitatá, en el área designada para el trabajo con *Foc R4T*, según protocolo de manejo y custodia de muestras de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubeense* R4T de los laboratorios de diagnóstico fitosanitario, proporcionado por el ICA.

Para las muestras de hisopado, se adicionaron 2 mL de Tween 80 a 0,1 % por cada hisopo contenido en el tubo. La muestra hidratada se agitó con vórtex (3.000 rpm) durante dos minutos, con el fin de suspender en el líquido la mayor cantidad posible de partículas adheridas al hisopo. De esta suspensión se tomaron 200 μ L, que fueron sembrados por triplicado en medio de cultivo PDA suplementado con cloranfenicol al 0,01 % y tritón al 0,1 %. Las muestras de agua se homogenizaron en vórtex (3.000 rpm) y en seguida se

tomó 1 mL de cada una y se sembró directamente en superficie por triplicado, en el medio de cultivo PDA suplementado con cloranfenicol al 0,01 % y tritón al 0,1 % (figura 29).

Las cajas fueron incubadas por diez días a 25 °C, y se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), discriminando las de *Fusarium* sp. de acuerdo con su morfología macroscópica característica (colonia rosa a púrpura, o blanca). Los diferentes morfotipos identificados como *Fusarium* sp. se conservaron en glicerol al 30% y a -20 °C hasta su procesamiento (figura 29).

Los aislamientos clasificados por morfología como *Fusarium* sp. se reactivaron en medio de cultivo sólido de PDA, y se incubaron a 25 °C. A partir de una colonia del hongo, se preparó cada muestra para realizar la identificación mediante la técnica Colony PCR —reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de colonia de *Foc*—, la cual se usa para tamizar una gran cantidad de muestras en poco tiempo (Bergkessel & Guthrie, 2013) (figura 30). Los cebadores usados se describen en la tabla 5, y son específicos para identificar la Raza 4 Tropical de *F. oxysporum* f. sp. *ubense* (*Foc*).



Figura 29. Procesamiento de las muestras para aislamiento de colonias características de *Fusarium* sp.

Fuente: Elaboración propia

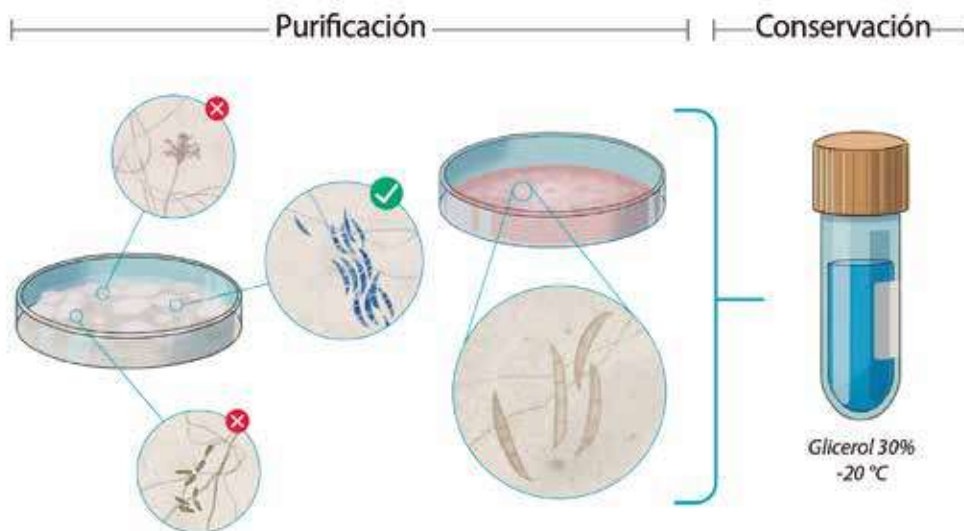


Figura 30. Procedimiento para aislamiento de colonias características de *Fusarium* sp. y conservación.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Cebadores usados para la identificación de *Foc R4T*

Nombre	Secuencia del cebador	Amplicón	Identificación	Referencia
W2987-F	TGCCGAGAACCACTGACAA	452 pb	Raza 4 Tropical	Magdama et al. (2019)
W2987-R	GCCGATGTCTTCGTCAGGTA			

Fuente: Elaboración propia

Se tomaron fragmentos de micelio y se sumergieron en 20 μ L de agua de grado molecular en tubos con capacidad de 200 μ L. Los tubos se incubaron a 94 °C por diez minutos y se les realizó una vuelta de centrifuga para precipitar el tejido fúngico. Se tomaron 2,5 μ L del sobrenadante para preparar la reacción de PCR. El programa usado para la amplificación del fragmento fue un ciclo de 30 s a 94 °C para la desnaturalización inicial; 32 ciclos de 15 s a 94 °C para la desnaturalización, 30 s a 60 °C para la hibridación, 1 min a 72 °C para la extensión, y un ciclo de 5 min a 72°C para la extensión final. Las reacciones se observaron en un gel de agarosa al 1,4%, con un fotodocumentador de electroforesis. Como control positivo, se usó ADN de aislamientos de referencia pertenecientes a cada raza; como controles negativos, se emplearon ADN de referencia de otras formas especiales del complejo de especies de *Fusarium oxysporum* (f. sp. *lycopersici*, f. sp. *radicis-lycopersici* [patógenos del tomate], y *Fusarium* no patogénicos).

Resultados

El muestreo en fincas tenía como objetivo principal evaluar los esquemas de bioseguridad en relación con el uso de desinfectantes y su eficacia en unidades cuarentenadas, comerciales y traspacios de los departamentos de La Guajira y Magdalena. En total, se muestrearon diez fincas del Magdalena y quince de La Guajira, para un total de 225 y 240 muestras de botas respectivamente (tabla 6). Cada muestra se evaluó por triplicado en laboratorio; por lo tanto, se analizaron un total de 1.395 muestras de botas, 291 de residuos de pediluvios y 93 de agua. Ninguna muestra resultó positiva para *Foc R4T* con la técnica utilizada en este trabajo.

Tabla 6. Muestras tomadas en fincas, en diferentes puntos de bioseguridad por departamento

Departamento	Tipo de finca	Número de fincas	Muestras de botas	Pediluvios	Agua de riego y/o drenaje	Presencia de <i>Foc R4T</i>
Magdalena	Comercial	5	225	51	10	No se detectó
Magdalena	Traspatio	5	N/A	N/A	5	No se detectó
Total, Magdalena		10	225	51	15	
La Guajira	Comercial	4	40	8	5	No se detectó
La Guajira	Traspatio	6	N/A	N/A	1	No se detectó
La Guajira	Cuarentena	5	200	38	10	No se detectó
Total, La Guajira		15	240	46	16	
Total, general		25	465	97	31	

Fuente: Elaboración propia

Puestos de desinfección

Se muestrearon diez puestos de desinfección ubicados en los departamentos de Magdalena, La Guajira, Cesar y Córdoba. En cada uno de ellos se tomaron muestras de vehículos que tuvieran injerencia en el sector agrícola, en especial con los cultivos de musáceas. A cada vehículo se le realizó un frotis de llantas en dos momentos, antes y después de la aplicación del desinfectante. Se tuvo en cuenta el número de ejes para aumentar el tamaño de la muestra, de tal forma que en los de dos ejes, se escogían dos llantas al azar, y en los de tres o más ejes, se tomaban cuatro llantas al azar para realizar el frotis antes y después de la desinfección. Se muestreó un total de 147 vehículos, discriminados de la siguiente manera: 22 automóviles, 37 camionetas, 33 camiones, 34 mulas y 21 de otro tipo (motocicletas, bicicletas y tractores). El total de muestras procesadas a nivel microbiológico fue de 293, dado que se tomaron antes y después del proceso de desinfección. Cada una fue procesada por triplicado en condiciones de laboratorio, para un total de 566 muestras (tabla 7). Todas las muestras resultaron ser negativas para *Foc* R4T con la técnica utilizada en este trabajo.

Puestos de lavado comunitarios en Magdalena y Urabá

Se muestrearon un total de catorce puestos de lavado, dos en Magdalena y doce en Urabá. Se examinaron 39 carros en Magdalena, lo que correspondió a 107 muestras microbiológicas de acuerdo con los diferentes muestreos: antes y después del lavado y después de la aplicación del desinfectante. En Antioquia (Turbo, Apartadó, Carepa, Chigorodó y Mutatá), se muestrearon 110 carros, que correspondieron a 284 muestras microbiológicas. El total fue de 391 muestras, que se evaluaron por triplicado, y no se detectó *Foc* R4T en ninguna de ellas (tabla 7).

Además, en cada puesto de lavado se tomaron muestras de las siguientes partes: cámara de recibo de agua, tanques desarenadores y filtro de vertimiento final. En ninguna de ellas se detectó la presencia de *Foc* R4T.

Tabla 7. Detección de *Foc R4T* en puestos de desinfección y lavado de cuatro departamentos de Colombia

Departamento	Tipo de puesto de control	Número	N.º vehículos muestreados	Total de muestras	Presencia de <i>Foc R4T</i>
Magdalena	Puesto de control ICA	4	64	128	No detectado
La Guajira	Puesto de control ICA	4	61	122	No detectado
Córdoba	Puesto de control ICA	1	11	21	No detectado
Cesar	Puesto de control ICA	1	11	22	No detectado
Subtotal	Puestos de control (P. C.)	10	147	293	No detectado
Magdalena	Puestos de lavado y desinfección comunitarios	2	39	107	No detectado
Antioquia	Puestos de lavado y desinfección comunitarios	12	110	284	No detectado
Subtotal	Puestos de lavado (P. L.)	14	149	391	No detectado
Total general	P. C. – P. L.	24	296	684*	No detectado

* Para cada caso, las muestras fueron procesadas por triplicado en laboratorio.

Fuente: Elaboración propia

Muestreo en puertos

La evaluación de los contenedores en el puerto de Santa Marta se realizó en dos momentos. El primero correspondió a dos días separados debido a la baja afluencia de contenedores (muestreo 1), mientras que el segundo se completó en un solo día (muestreo 2). En el muestreo 1 se evaluaron diez contenedores antes y después del arco de lavado y doce contenedores diferentes después del arco de desinfección. En el muestreo 2 se evaluaron once contenedores antes y después del arco de lavado y doce contenedores diferentes después del arco de desinfección (tabla 8).

Tabla 8. Muestras evaluadas en el puerto de Santa Marta

Tipo de muestra	Cantidad	Positivo <i>Foc R4T</i>
Contenedor antes del arco de lavado	21	No detectado
Después del arco de lavado	21	No detectado
Después del arco de desinfección	24	No detectado
Agua del arco de lavado	10	No detectado
Desinfectante residual del arco de desinfección	10	No detectado
Trampa de grasa	10	No detectado
Lavado contenedor	10	No detectado
Desinfectante pediluvio general	6	No detectado
Desinfectante pediluvio después del arco de lavado	4	No detectado
Total	116*	No detectado

* Muestras procesadas por triplicado en laboratorio.

Fuente: Elaboración propia

Los contenedores evaluados antes del arco de lavado se frotaron con tres hisopos asépticos en los tres tercios longitudinales del costado opuesto al conductor, a una altura promedio de 1,80 m. Los hisopos utilizados en cada contenedor fueron almacenados, sellados y transportados en tubos de 15 mL. Posteriormente, estos contenedores se evaluaron después del arco de lavado con la misma metodología descrita, pero en el costado diferente al muestreado (adyacente al conductor). Después del arco de desinfección, se siguió la misma metodología de evaluación descrita en el proceso llevado a cabo antes del arco de lavado.

Para la evaluación de aguas y solución desinfectante residuales, se recolectaron las siguientes cuatro alícuotas de 15 mL: 1) agua del arco de lavado, 2) desinfectante residual del arco de desinfección, 3) agua de la trampa de grasas y 4) agua del lavado interno del contenedor. De la misma manera se tomaron tres alícuotas de la solución desinfectante del pediluvio general y dos de la solución del pediluvio después del arco de lavado. Finalmente, la concentración de las soluciones desinfectantes del arco de desinfección y

los pediluvios se midieron mediante tirillas indicadoras de amonio cuaternario. En términos generales, los pediluvios mantuvieron una concentración de 1.500 ppm en las dos evaluaciones, mientras que en el arco de lavado la solución fue de 750 y 1.000 ppm en la primera y segunda evaluación, respectivamente.

El crecimiento de *Fusarium* spp. fue muy bajo y esporádico en cada tipo de muestra y en cada momento de muestreo. No hubo diferencias significativas y en ninguno de los casos se detectó *Foc* R4T.





Consideraciones finales

En general, la dispersión de patógenos habitantes del suelo, como *Foc* R4T, se lleva a cabo en distancias cortas, excepto por el movimiento de plantas (Costa et al., 2014). Sin embargo, también se ha comprobado la diseminación del hongo en plantaciones afectadas mediante suelo, agua, herramientas, equipos agrícolas, ropa, botas, material de siembra (Ploetz, 2015) o insectos como el picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) (Meldrum et al., 2013a).

A nivel de campo, al comienzo de los primeros brotes de la marchitez por *Fusarium*, las plantas infectadas pueden estar distribuidas al azar, pero luego la difusión por lo general se da planta a planta, en un patrón agregado que se observa a menudo en muchas áreas (Meldrum et al., 2013a). La dispersión se produce por movimiento pasivo de propágulos del patógeno (Dita et al., 2018), e incluso se han detectado niveles significativos del inóculo en el suelo adherido a los zapatos después de una visita de campo (Dita et al., 2018).

64

En este trabajo se evaluó la presencia de *Foc* R4T en diferentes tipos de muestras ambientales provenientes de los procesos de bioseguridad en fincas afectadas y no afectadas por *Foc* R4T, y en puestos de desinfección y lavado ubicados en Urabá, Magdalena y La Guajira, a fin de prevenir la entrada o dispersión del patógeno. Además, con dos metodologías diferentes se evaluó el riesgo de dispersión de *Foc* a través de contenedores en el puerto de Santa Marta. Los resultados indicaron muy bajas poblaciones de biotipos de *Foc* y ninguna de ellas asociada a *Foc* R4T.

Se considera, por tanto, que los procesos de bioseguridad utilizados en Colombia están funcionando de manera adecuada y son eficaces frente al patógeno y como medida de protección contra otros problemas fitosanitarios asociados.

Cabe mencionar que los resultados también permiten inferir que la incidencia del patógeno en las zonas afectadas se encuentra muy localizada, lo que explicaría su ausencia en las muestras de pediluvios y botas de trabajadores de estas fincas. Por lo tanto, es necesario mantener este estatus de distribución restringida mediante la aplicación rigurosa de las normas de bioseguridad.





Conclusiones

1. No se detectó *Foc* R4T en las muestras ambientales tomadas en puestos de control, botas de trabajadores, rodiluvios, pediluvios, agua de riego y agua de drenaje en zonas afectadas, lo que sugiere que los protocolos de bioseguridad implementados son eficaces.
2. No se encontró *Foc* R4T en muestras ambientales de suelo, agua, pediluvios, rodiluvios, puestos de control y/o lavado, lo cual indica que el patógeno aún sigue con una distribución restringida a La Guajira y Magdalena.
3. Es necesario desarrollar metodologías más robustas para maximizar las capacidades de detección de *Foc* R4T en muestras ambientales con baja concentración del patógeno.

Recomendaciones generales para los procesos de bioseguridad y el uso de desinfectantes contra *Foc R4T* a nivel de finca



1. Lavar para evitar el ingreso de partículas de suelo contaminadas a las fincas y aumentar la eficacia de los desinfectantes. “Entre limpio y salga limpio”.
2. Reducir el ingreso de personas y vehículos que no sean indispensables para el proceso productivo.
3. Usar productos a base de amonio cuaternario con eficacia comprobada y registro oficial de las ONPF de cada país.
4. Tener puntos de lavado y desinfección del calzado distribuidos estratégicamente en las fincas, tomando en cuenta el tránsito de personas y las áreas de trabajo.
5. Monitorear la concentración de la solución desinfectante para hacer reposiciones o recambios de productos de manera oportuna.
6. Lavar y desinfectar herramientas que provengan de lotes con focos de *Foc R4T* e incluso otras enfermedades y restringir su movimiento a otras áreas de la finca.
7. Desinfectar vehículos en los puestos de control.



Referencias

- Acuña, R., Rouard, M., Leiva, A. M., Marques, C., Olortegui, A., Ureta, C., Cabrero Pintado, R. M., Rojas, J. C., López Álvarez, D., Cenci, A., Cuéllar, W. J., & Dita, M. (2021). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 causing *Fusarium* wilt in Cavendish bananas in Peru. *Plant disease*, 106(8). <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-1951-PDN>
- Bennett, R. S., Neill, W. O., Smith, L., & Hutmacher, R. B. (2011). Plant pathology and nematology: Activity of commercial detergents against conidia and chlamydozoospores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Journal of Cotton Science*, 15(2), 162-169.
- Bentley, S., Pegg, K. G., Moore, N. Y., Davis, R. D., & Buddenhagen, I. W. (1998). Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting. *Phytopathology*, 88(12), 1283-1293. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.12.1283>
- Bergkessel M, & Guthrie C. (2013). Colony PCR. *Methods Enzymology*, 529, 299-309. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418687-3.00025-2>
- Chandler-Bostock, R., & Mellits, K. H. (2015). Efficacy of disinfectants against porcine rotavirus in the presence and absence of organic matter. *Letters in Applied Microbiology*, 61(6), 538-543. <https://doi.org/10.1111/lam.12502>
- Costa, S. N., Braganca, C. A. D., Ribeiro, L. R., Amorim, E. P., Oliveira, S. A. S., Dita, M. A., Laranjeira, M. M., & Haddad, F. (2014). Genetic structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in different regions from Brazil. *Plant Pathology*, 64(1):1-11. <https://doi.org/10.1111/ppa.12242>
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S. G., & Staver, C. P. (2018). *Fusarium* wilt of banana: Current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Frontiers in Plant Science*, 871, 1-21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01468>
- Dita, M. Á., Echegoyén Ramos, P. E., & Pérez Vicente, 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). <https://www.oirsa.org/contenido/biblioteca/PlandecontingenciacontraFocR4TOIRSA.pdf>
- Dita, M. Á., Waalwijk, C., Buddenhagen, I. W., Souza Jr., M. T., & Kema, G. H. J. (2010). A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathology*, 59(2), 348-357. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02221.x>



- Feng, X. Z., Xiao, Z., Zhang, L., Liao, S., Chen, S., Luo, H., He, L., Fan, G., & Wang, Z. (2020). Antifungal activity of β -pinene-based hydronopyl quaternary ammonium salts against phytopathogenic fungi. *Natural Product Communications*, 15(8), <https://doi.org/10.1177/1934578X20948365>
- García-Bastidas, F. A., Quintero-Vargas, J. C., Ayala-Vásquez, M., Seidl, M. F., Schermer, T., Santos-Paiva, M., Noguera, A. M., Aguilera-Gálvez, C., Wittenberg, A., Hofstede, R., Sorensen, A., & Kema, G. H. J. (2019). First report of *Fusarium* wilt Tropical Race 4 in Cavendish bananas caused by *Fusarium odoratissimum* in Colombia. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1922-PDN>
- Gerba, C. P. (2015). Quaternary ammonium biocides: Efficacy in application. *Applied and environmental microbiology*, 81(2), 464-469. <https://doi.org/10.1128/AEM.02633-14>
- Gottardi, W. (2001). Iodine and iodine compounds. In *Disinfection, sterilization, and preservation*, pp. 152-166.
- Guillén Sánchez C., Tixier P., Tapia Fernández A., Conejo Barboza, A. M., Sandoval Fernández, J. A., & De Lapeyre de Bellaire, L. (2021). Can the banana weevil *Cosmopolites sordidus* be a vector of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 1? Unravelling the internal and external acquisition of effective inoculum. *Pest Management Science*, 77(6), 3002-3012. <https://doi.org/10.1002/ps.6339>
- Iñiguez-Moreno, M., Ávila-Novoa, M. G., & Gutiérrez-Lomelí, M. (2018). Resistance of pathogenic and spoilage microorganisms to disinfectants in the presence of organic matter and their residual effect on stainless steel and polypropylene. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, 197-201. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.04.010>
- Izquierdo-García, L. F., Carmona, S. L., Zuluaga, P., Rodríguez, G., Dita, M., Betancourt, M., & Soto-Suárez, M. (2021). Efficacy of disinfectants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tropical Race 4 isolated from La Guajira, Colombia. *Journal of Fungi*, 7(4), 297. <https://doi.org/10.3390/jof7040297>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual* (1st edit). Blackwell.
- Lindsay, S. J. (2018). *Fusarium Wilt Tropical Race 4-biosecurity and sustainable solutions: Project report*. Hort Innovation. <https://www.horticulture.com.au/globalassets/laserfi-che/assets/project-reports/ba14013/ba14013---final-report-complete.pdf>
- Magdama, F., Monserrate-Maggi, L., Serrano, L., Sosa, D., Geiser, D. M., & Jiménez-Gasco, M. D. M. (2019). Comparative analysis uncovers the limitations of current molecular detection methods for *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 4 strains. *PLoS One*, 14(9), e0222727. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222727>

- Meldrum, R. A., Daly, A. M., Tran-Nguyen, L. T. T., & Aitken, E. A. B. (2013a). Are banana weevil borers a vector in spreading *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in banana plantations? *Australasian Plant Pathology*, 42, 543-549. <https://doi.org/10.1007/s13313-013-0214-2>
- Meldrum, R. A., Daly, A. M., Tran-Nguyen, L. T. T., & Aitken, E.A.B. (2013b). The effect of surface sterilants on spore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4. *Crop Prot.*, 54, 194-198. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.08.014>
- Morell Planes, F., & Hernández Jiménez, A. (2008). Degradación de las propiedades agrobiológicas de los suelos ferralíticos rojos lixiviados por la influencia antrópica y su respuesta agroproductiva al mejoramiento. *Agronomía Tropical*, 58(4), 33-343. http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0002-192X2008000400002&script=sci_abstract
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Viljoen, A. (2007). Evaluation of fungicides and sterilant for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. *Crop Protection*, 26(4), 697-705. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.06.008>
- Nguyen, T. V, Tran-Nguyen, L. T. T., Wright, C. L., Trevorrow, P., & Grice, K. (2019). Evaluation of the efficacy of commercial disinfectants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Race 1 and Tropical Race 4 propagules. *Plant Disease*, 103, 721-728. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0453-RE>
- Ordóñez González, G. A., Toaza Mora, A. J., Tánéz Altuna, J. M., Granda Moreno, E. I., & Marcial Coba, M. S. (2021). Evaluación de la eficacia de cinco desinfectantes comerciales, aplicables en la cadena productiva de musáceas, contra cinco cepas de *Fusarium* spp. *REMCB*, 42(1). <https://doi.org/10.26807/remcb.v42i1.884>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2013). *Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias: normas internacionales para manejo fitosanitario*. <https://www.fao.org/publications/card/es/c/0c5bced3-93b9-4840-b4d1-18ce991f8a76/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2014). *Production-crops-area harvested/Production quantity-tomatoes-2014*. Base de datos estadísticas corporativas de la FAO (Faostat).
- Pegg, K. G., Coates, L. M., O'Neill, W. T., & Turner, D. W. (2019). The epidemiology of *Fusarium* wilt of banana. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1395. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01395>



- Pérez-Vicente, L. (2010). *Marchitez por Fusarium o mal de Panamá: una enfermedad reemergente de las musáceas que amenaza la sostenibilidad alimentaria*. Congreso Científico del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), XVII, San José de las Lajas, Cuba.
- Ploetz, R. C. (2006). *Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. *Phytopathology*, 96(6), 653-656. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0653>
- Ploetz, R. C. (2015). *Fusarium wilt of banana*. *Phytopathology*, 105(12), 1512-1521. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-15-0101-RVW>
- Quintero, C., Delgado, L., & Arévalo, E. (2018). *Conozca los procedimientos de bioseguridad en las áreas de producción de banano, plátano y heliconia* [Boletín técnico]. Instituto Colombiano Agropecuario [ICA].
- Sánchez-Saldaña, L., & Sáenz-Anduaga, E. (2005). Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana*, 15(2), 82-103. https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf
- Stover, R. H., Hildreth, R. C., & Thornton, N. C. (1961). Studies on *Fusarium* wilt of bananas: VII. Field control. *Canadian Journal of Botany*, 39(1), 197-206. <https://doi.org/10.1139/b61-015>
- Takenaka, S., Tonoki, T., Taira, K., Murakami, S., & Aoki, K. (2007). Adaptation of *Pseudomonas* sp. strain 7-6 to quaternary ammonium compounds and their degradation via dual pathways. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1797-1802. <https://doi.org/10.1128/AEM.02426-06>
- Tezel, U., & Pavlostathis, S. G. (2015). Quaternary ammonium disinfectants: Microbial adaptation, degradation and ecology. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 296-304. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.03.018>
- Wessels, S., & Ingmer, H. (2013). Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 67(3), 456-467. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.09.006>
- Wild, S. (2017). A quick guide to disinfectants. *Veterinary Nursing Journal*, 32(12), 375-378. <https://doi.org/10.1080/17415349.2017.1385433>



Impresión y encuadernación.
DGP Impresores S.A.S.
Terminó de imprimirse en septiembre de 2022,
en Bogotá D.C., Colombia

Uso y control de calidad de desinfectantes en esquemas de bioseguridad, para la prevención y contención de la marchitez por Fusarium Raza 4 Tropical resume el trabajo desarrollado por el ICA, AGROSAVIA y los gremios desde la llegada del marchitamiento por *Foc R4T* a plantaciones de banano en Colombia, con relación al uso correcto de desinfectantes, tanto en los esquemas de bioseguridad de las fincas afectadas y libres de la enfermedad, como en los puestos de control y lavado instalados por la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria y los gremios. Se describen los principios de la dispersión del patógeno y las estrategias para mitigarlos; asimismo, se presenta un análisis de la evaluación microbiológica del funcionamiento de los esquemas de bioseguridad en el país. Además, se recoge de forma didáctica la información acerca de los métodos de evaluación de desinfectantes comerciales y los resultados validados para diferentes productos comerciales en Colombia. Los datos que contiene el manual se pueden usar en países de América Latina y El Caribe para el establecimiento de sus estrategias de bioseguridad, así como de los centros de investigación para las metodologías de evaluación de desinfectantes. Este documento se adapta a un público objetivo amplio: productores, asistentes técnicos, profesionales del agro y tomadores de decisiones, los cuales están involucrados con el sector bananero o platanicultor y orientados a la implementación de estrategias de bioseguridad en estos sistemas productivos.

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria