

## INSTITUTO DE PROTECCIÓN Y SANIDAD AGROPECUARIA

### DIRECCIÓN DE SANIDAD VEGETAL Y SEMILLAS

#### DEPARTAMENTO DE VIGILANCIA FITOSANITARIA Y CAMPAÑAS

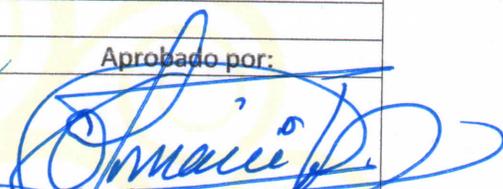
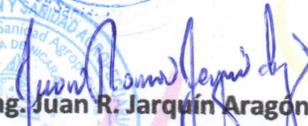
Protocolo de toma y envío de muestra de tejido vegetal en musáceas para diagnóstico del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 4 tropical (Foc R4T)



Versión - 2

Managua, Nicaragua, mes de febrero del 2024.

### CERTIFICACIÓN Y APROBACIÓN

Generalidades del documento		
Título: Protocolo de toma y envío de muestra de tejido vegetal en musáceas para diagnóstico del hongo <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i> raza 4 tropical		
Certificación y aprobación		
Elaborado por:  <b>MSc. Ing. Martin Agenor Rosales</b> Responsable del Departamento de Vigilancia Fitosanitaria y Campañas	Revisado por:  <b>Ing. Alejandro Maradiaga Parriles</b> Director Sanidad Vegetal y Semillas	Aprobado por:  <b>Ing. Ricardo Somarriba Reyes</b> Director Ejecutivo IPSA
Firma y sello  <b>MSc. Ing. Luis Arnoldo Hernández</b> Responsable de la Sección de Vigilancia Fitosanitaria		
 <b>Ing. Juan R. Jarquín Aragón</b> Responsable de la Sección de Campañas Fitosanitarias		
 <b>MSc. Ing. Carlos Leonel Mairena Vásquez</b> Responsable de la Sección de Áreas Libres de Plagas		
 <b>MSc. Ing. Ricardo Medrano</b> Consultor		

## I. Introducción.

La marchitez por fusarium de las musáceas o Foc R4T, es para el cultivo del banano la enfermedad más perjudicial, y además se encuentra entre las diez plagas más importante en la agricultura a nivel mundial. La enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical (Foc R4T), es una de las más nocivas que atacan a las musáceas del grupo Cavendish. Se desarrolla favorablemente en las regiones tropicales. Por lo general, la enfermedad es más intensa durante los meses más cálidos y húmedos del año.

El establecimiento y la dispersión de Foc R4T en el continente americano, puede llegar ocasionar una gran afectación en la producción de banano de exportación y en los plátanos, con cuantiosas pérdidas económicas y un impacto social muy grande. En Nicaragua, la producción de banano como monocultivo para exportación se concentra en el departamento de Chinandega con un área de 1,626.0 ha. Con respecto al plátano, el área establecida es de 27,612.0 ha, de las cuales, el 46% se encuentra en la región del pacifico sur (Rivas 29.6%; Granada 7.9%; Masaya 6.5%; y Carazo 2%), la zona del caribe representa el 20.2% del área (RACCN 11.4% y RACCS 8.8%), y la zona de occidente con 17.7% (Chinandega 13.9% y León 3.8%) (MAG, consultado febrero de 2023).

En este mismo sentido, se encuentran 103,362.5 ha de banano, mayormente de la variedad Gros Michel (AAA), en asocio con café en la zona norte de Jinotega y Matagalpa (FUNIDES, 2018). A esto hay que agregar la importancia que representan las áreas de traspato en la economía familiar y para la seguridad alimentaria.

En el continente americano, a la fecha se ha reportado la presencia de la marchitez por fusarium de las musáceas en tres países:

- a. En agosto de 2019, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) confirmó la presencia de Foc R4T en el departamento colombiano de La Guajira (IPPC, 2019; García-Bastidas *et al.*, 2020; Martínez-Solórzano *et al.*, 2020).
- b. En abril de 2021, se informó que el Foc R4T estaba presente en el norte de Perú en el departamento de Piura (SENASA, 2021; IPPC, 2021).
- c. En enero 2023 el Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral (INSAI) informa de la presencia de la plaga Foc R4T en los estados de Aragua (Municipios Zamora y José Angel Lamas), Carabobo (Municipio San Joaquín) y Cojedes (Municipio Anzoátegui, parroquia Cojedes). (INSAI. Comunicación Oficial. Enero 2023; IPPC, 2023).

Ante los reportes de la marchitez por fusarium de las musáceas en los países antes mencionados, se están implementando medidas fitosanitarias que abarcan las inspecciones, colecta de muestras, diagnóstico, y ampliación de las rutas de vigilancia en las plantaciones comerciales y de traspato; así como también, inspección al comercio internacional en los puntos de entrada del país.

## II. Justificación.

Las musáceas como cultivo es uno de los frutales más importantes a nivel mundial en términos de producción y comercio, y de manera global se encuentra entre los diez alimentos básicos (SENASICA, 2022).

Debido a que el hongo Foc R4T es considerado como uno de los más destructivos de las musáceas (plátano y banano), su ingreso, establecimiento y dispersión en áreas de producción representa un peligro inminente para la industria bananera en América Latina y el Caribe. El hongo habita en el suelo, principal razón por la cual su erradicación constituye un reto; ya que su infección inicial es a través de raíces secundarias e invade el sistema vascular, lo que induce marchites y eventual muerte de la planta (SENASICA, 2022).

Si el hongo se introduce y establece en el territorio nacional, pone en peligro principalmente, la seguridad alimentaria de la población nicaragüense, así como también la producción de plátano y banano, lo cual tiene una importancia en la economía interna del país, y para la captación de ingresos por medio de sus exportaciones.

El presente protocolo se elabora para mejorar la vigilancia y detección oportuna del Foc R4T por parte del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA), a través del Departamento de Vigilancia Fitosanitaria y Campañas, de la Dirección de Sanidad Vegetal y Semillas. El personal oficial del IPSA, son los que implementaran este protocolo en las actividades de vigilancia fitosanitaria.

## III. Antecedentes.

La primera detección y confirmación de una nueva variante del “Mal de Panamá”, determinada más tardíamente como “Fusariosis de las musáceas” fue confirmada en Taiwán, en donde síntomas de marchitamiento por Fusarium en cultivares Cavendish se observaron por primera vez en 1967. En 1972, los primeros resultados de las pruebas de patogenicidad sugirieron que los aislamientos pertenecían a la raza 1 (Stover y Malo, 1972), siendo descartados y nuevamente caracterizados como raza 4 en 1977 (Su *et al.*, 1986; OIRSA, 2019).

La vulnerabilidad de los cultivares Cavendish a lo que se conocería como Foc R4T fue internacionalmente aceptado a principios de la década de 1990, cuando el marchitamiento por Fusarium diezmó las plantaciones recién establecidas de bananos Cavendish en Malasia e Indonesia. (OIRSA, 2019).

A finales de la década de 2000, se había confirmado Foc R4T en Taiwán, Malasia, Indonesia, Papúa Nueva Guinea, China continental, Filipina y Australia. Desde entonces, el número de primeros registros ha aumentado exponencialmente (OIRSA, 2019).

Al mes de enero del 2023, en el continente americano, se ha confirmado la presencia de Foc R4T en tres países: Colombia, Perú y Venezuela.

#### IV. Situación de la plaga en el país.

En correspondencia a la NIMF No.8. “Determinación de la condición de una plaga en un área”, el hongo (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical) se considera una plaga cuarentenaria ausente: No hay registros.

#### V. Ámbito de aplicación del protocolo.

El protocolo es implementado por el personal oficial del Departamento de Vigilancia Fitosanitaria y Campañas, de la Dirección de Sanidad Vegetal y Semillas del IPSA. Es implementado en plantaciones comerciales de musáceas y traspatio, en el territorio nacional. El protocolo no se implementará cuando existan condiciones de lluvia o este lloviendo.

#### VI. Definiciones.

Las definiciones implementadas en el protocolo son las siguientes:

**cm:** Centímetro.

**DVFC:** Departamento de Vigilancia Fitosanitaria y Campañas.

**Foc R4T:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical.

**GPS:** Sistema de Posicionamiento Global (siglas en inglés).

**Ha:** Hectárea (ha).

**IPPC:** International Plant Protection Convention (Convención Internacional de Protección Fitosanitaria-CIPF).

**IPSA:** Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria.

**m:** Metro.

**NIMF:** Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias.

**Pseudotallo:** La parte de la planta (musácea) que se asemeja a un tronco es, en realidad, un falso tallo denominado pseudotallo, y está formado por un conjunto apretado de vainas foliares superpuestas. Aunque el pseudotallo es muy carnoso y está formado principalmente por agua, es bastante fuerte y puede soportar un racimo de 50 kg o más.

**OIRSA:** Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria.

**QR:** Son un tipo de códigos de barras bidimensionales.

**SIVIFI:** Sistema de Vigilancia Fitosanitaria.

## VII. Procedimiento.

El procedimiento se establece por actividades y se realiza una descripción de las mismas. Para realizar este procedimiento, se debe efectuar la desinfección (alcohol mínimo 70%, amonio cuaternario V generación o glutaraldehído más amonio) de instrumentos y materiales a utilizar. La descripción del procedimiento es la siguiente:

No.	Actividad	Descripción
1	Identificación de planta sospechosa.	<p>La identificación de la planta que se sospecha puede estar infectada por Foc R4T se realiza por dos situaciones:</p> <p>a) Identificación por parte del propietario de la finca;</p> <p>b) Identificación por parte del personal oficial del IPSA.</p> <p>En el primer caso – El productor, el encargado o trabajador de la finca deberán realizar los siguientes:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 - No debe de acercarse a menos de 10 metros de la planta sospechosa.</li> <li>2 - No debe de realizar ningún corte o herida en la planta.</li> <li>3 - Ubicar exactamente dónde está la planta sospechosa. La ubicación se podrá hacer con uso de GPS o la descripción donde se encuentra en la finca (lote, cuadrante, surco).</li> <li>4 - Anotar la variedad y síntomas.</li> <li>5 - Tomar, de ser posible, fotografías a la planta que muestra los síntomas.</li> <li>6 - Aislar la planta a una distancia de 10 metros hacia cada punto cardinal. El encerramiento puede ser con cintas, mecate o manilas.</li> <li>7 - Suspender labores en el lote.</li> <li>8 - Dar aviso INMEDIATO al IPSA. Se procede a notificar sobre la sospecha de plantas a la delegación departamental del IPSA más cercana. Para ello, deberán completar el Formato DFVC-14 "Notificación de denuncia fitosanitaria". El propietario de finca esperará la visita del personal oficial del IPSA a su propiedad para verificar los síntomas relacionados a Foc R4T y proceder, si lo amerita, a la toma de muestra.</li> </ol> <p>En el segundo caso, que la identificación de la planta sospechosa sea realizada por un personal oficial del IPSA, este procede a la revisión de los síntomas y signos de la planta, tomando en consideración medidas de bioseguridad.</p>
2	Revisión de síntomas y signos asociados a Foc R4T.	<p>El personal oficial del IPSA, ingresa al área donde se encuentra la planta sospechosa considerando una única vía de entrada y salida. Procede a revisar en la planta los siguientes síntomas y signos asociados:</p>

No.	Actividad	Descripción
		<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Amarillamiento de hojas desde el borde hacia la nervadura central. Este amarillamiento generalmente progresa desde las hojas más viejas, hacia las más jóvenes (Foto 1.1).</li> <li>2. Acortamiento de la hoja emergente (Foto 1.2).</li> <li>3. Quiebre de las hojas en la base del pecíolo (Foto 1.3).</li> <li>4. Síntomas tempranos de resquebrajamiento o rajadura del pseudotallo a partir de la base de la planta (Foto 1.4). Ver anexo No. 1.</li> <li>5. Procede a tomar una o dos fotos de la planta sospechosa con expresión de síntomas y signos.</li> </ol>
3	Toma de tejido en planta sospechosa.	<p>Una vez identificado los síntomas y signos asociados, procede a realizar la toma de muestra de la planta implementando medidas de bioseguridad. Primeramente, se procede a usar el equipo de bioseguridad para realizar la toma de muestra:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Viste el traje de protección (desechable).</li> <li>2. Procede a cubrir el calzado con cubrebotas (polipropileno o plástico) y posteriormente se coloca los guantes.</li> <li>3. Coloca un plástico negro de dimensiones de 1.0-1.5 m por 1.0-1.5 m, cerca de la planta sospechosa (Foto 2.1).</li> <li>4. Efectúa revisión de la lista de instrumentos y materiales necesarios para la colecta de muestras utilizando la lista de chequeo, antes de efectuar la toma de muestra (Foto 2.2). Ver anexos No. 2 y 8.</li> <li>5. Evite tomar muestras de áreas donde exista descomposición avanzada de los tejidos. La muestra tomada se dividirá en dos partes.</li> <li>6. Realiza el corte longitudinal en el pseudotallo a una altura de 20 cm - 40 cm de la base de la planta (Foto 3.1. y 3.2), con un cuchillo o navaja. Ver anexo 3.</li> <li>7. Las capas superficiales del pseudotallo que se cortan inicialmente, se colocan sobre el plástico negro y servirán posteriormente, para sellar el corte realizado (Foto 3.3).</li> <li>8. Con ayuda de un cuchillo o navaja se extrae el fragmento del pseudotallo de aproximadamente 13-15 cm de alto por 8-10 cm de ancho por 3-5 cm de profundidad (Foto 3.4). Ver anexo 3.</li> <li>9. El corte se coloca sobre una hoja de papel toalla absorbente que se encuentra sobre una tabla plástica. El objeto de la utilización del papel toalla es para disminuir el exceso de humedad. (Foto 4.1). Ver anexo 4.</li> <li>10. Una vez extraída la humedad del fragmento del pseudotallo, se divide en dos partes de tamaño similar (Foto 4.2 y 4.3), para realizar los análisis de biotecnología</li> </ol>

No.	Actividad	Descripción
		<p>y micología; y con ayuda de la pinza, se coloca dentro de una bolsa de papel kraft (Foto 4.4; 4.5 y 4.6).</p> <p>11. El papel toalla utilizado se deposita en una bolsa plástica para su posterior destrucción junto con los guantes utilizados. (Foto 4.7). Ver anexo 4.</p> <p>12. Para depositar las bolsas de papel kraft en el interior de las bolsas plásticas de cierre zip, se utiliza nuevos guantes y procede a depositarlas. (Foto 4.8). Tomar foto del interior del corte realizado para verificar síntomas internos.</p>
4	Codificación de toma de muestra de tejido.	<p>Para codificar la muestra tomada, se procede de la siguiente forma:</p> <p>1. La bolsa plástica de cierre zip o con cremallera que contiene la muestra tomada (cada muestra), se adhiere un código QR para identificarla (Foto 5.1).</p> <p>2. Mediante el uso de la aplicación móvil SIVIFI-Muestra, se completa la información que requieren los diferentes campos de la aplicación móvil (Datos generales, detalle de la muestra, tipo de muestra y órgano afectado, síntomas generales y órgano afectado) (Ver anexo 9). En el apartado de observaciones de la aplicación móvil, se deberá digitar la siguiente información: <b>“Realizar diagnóstico para Fusarium oxysporum / Foc R4T”</b>. Esta información va dirigida al Laboratorio Nacional de Diagnóstico Fitosanitario (Foto 5.2).</p> <p>3. Una vez digitada la información de la muestra en la aplicación móvil (SIVIFI-Muestra), la bolsa se etiqueta con una calcomanía que tiene la información “IPSA – Muestra Oficial”. (Foto 5.3 y 5.4).</p> <p>4. Una vez etiquetada la muestra se procede a introducirla a un termo que contiene gel congelante (Foto 5.5 y 5.6).</p> <p>5. Posteriormente se procede a sellar la tapa del termo con cinta adhesiva (Fotos 5.7. y 5.8). Ver anexo 5.</p>
5	Sellado del área de corte en la planta sospechosa.	<p>Para realizar el sellado de la planta se procede de la siguiente forma:</p> <p>1. Las capas superficiales e internas del pseudotallo (incluye residuos de haces vasculares) que fueron retiradas durante el proceso de la toma de muestra y puestas en el plástico negro, son colocadas en su posición original (Fotos 6.1 y 6.2).</p> <p>2. Una vez colocadas las capas superficiales e internas se cubre el área con cinta adhesiva para ductos, resistente a la humedad (Foto 6.3).</p> <p>3. Se procede a desinfectar el área circundante al sellado. Esta operación busca no dejar expuestos tejidos de las plantas muestreadas para evitar la esporulación y</p>

No.	Actividad	Descripción
		<p>diseminación del patógeno por insectos u otros animales, así como por la lluvia y el viento.</p> <p>4. Se procede a marcar la planta con ayuda de un atomizador de pintura fluorescente (Foto 6.4). Ver anexo 6.</p>
6	Medidas de bioseguridad después de la toma de muestra.	<p>Se procede a desinfectar los instrumentos y materiales utilizados en la toma de muestra. Deposita el segundo par de guantes en la bolsa plástica, que contiene el primer par utilizado y realiza lo siguiente:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Procede a usar nuevos guantes para realizar la desinfección.</li> <li>2. Realiza la desinfección de los instrumentos y materiales utilizados (Fotos 7.1. y 7.2).</li> <li>3. Todo el material desinfectado es colocado en bolsas plásticas.</li> <li>4. Si se han utilizado instrumentos descartables, estos se colocan en la misma bolsa plástica que se han colocado los guantes y el papel toalla utilizado, para su posterior destrucción.</li> <li>5. Aislar la planta a una distancia de 10 metros hacia cada punto cardinal. El encerramiento se realiza con uso de cinta color amarillo (Foto 7.3).</li> <li>6. Procede a quitar cubrebotas, el traje de protección y guantes, los cuales se depositan en la bolsa plástica junto a los guantes anteriores e instrumentos descartables.</li> <li>7. Procede a destruir (incinerar) la bolsa plástica con los instrumentos y materiales descartables, guantes y traje de protección utilizados, en una fosa de 0.3 m por 0.3 m por 0.3 m.</li> <li>8. Orientar al propietario o encargado de la finca suspender las labores en el lote.</li> </ol>
7	Remisión de toma de muestra al laboratorio.	<p>Una vez que las dos muestras han sido colectadas, codificadas y depositadas en el termo, son trasladadas a la delegación departamental del IPSA y el Delegado Departamental las remite, al Laboratorio Nacional de Diagnóstico Fitosanitario para que una muestra se le realice análisis de biotecnología y la otra para análisis de micología.</p> <p>La muestra colectada debe ser entregada en las instalaciones del laboratorio en un máximo de 24 horas.</p>

### VIII. Punto de control (PC).

En el proceso de implementación del protocolo se identifican los siguientes puntos de control a los que se les debe prestar atención por parte del personal oficial son los siguientes:

1. Al momento de realizar la identificación de la planta que se sospecha, puede estar infectada por Foc R4T, se debe cerciorar los síntomas y signos que presenta la planta.
2. Al momento de extraer parte del pseudotallo y depositarlo en la bolsa plástica de cierre zip o con cremallera, la muestra debe ser etiquetada inmediatamente y se digita el código de QR, en el sistema SIVIFI – Muestra.

### IX. Problemas potenciales identificados.

1. La toma de muestra no deber ser realizada si esta llovizando o existe peligro de una precipitación en el área.
2. La toma de muestra no pudiera llegar al laboratorio antes de las 24 horas después de haber sido tomada, debido a la lejanía e inaccesibilidad de la propiedad.
3. La eliminación correcta de los instrumentos y materiales descartables utilizado para realizar la toma de muestra. Deben ser incinerados en un lugar que reúna las condiciones para tal fin.

### X. Referencias bibliográficas.

1. Betancourt Vásquez, M. 2022. Procedimientos para la toma, manejo, envío y procesamiento de muestras para el diagnóstico de Foc R4T. Diapositivas de PowerPoint.
2. Comunidad Andina. Secretaria General. 2020. Guía andina para el diagnóstico fusarium raza 4 tropical (R4T). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (syn. *Fusarium odoratissimum*) agente causal de la marchitez por Fusarium en musáceas (plátanos y bananos). Secretaría General de la CAN. Primera edición, junio de 2020. Obtenido de: [https://www.researchgate.net/publication/342657461\\_Guia\\_Andina\\_Para\\_el\\_Diagnostico\\_de\\_Fusarium\\_Raza\\_4\\_Tropical\\_RT4\\_Fusarium\\_oxysporum\\_fsp\\_cubense\\_syn\\_Fusarium\\_odoratissimum\\_Agente\\_Causal\\_de\\_la\\_Marchitez\\_por\\_Fusarium\\_en\\_Musaceas\\_platanos\\_y\\_bananos](https://www.researchgate.net/publication/342657461_Guia_Andina_Para_el_Diagnostico_de_Fusarium_Raza_4_Tropical_RT4_Fusarium_oxysporum_fsp_cubense_syn_Fusarium_odoratissimum_Agente_Causal_de_la_Marchitez_por_Fusarium_en_Musaceas_platanos_y_bananos)
3. Fundación Nicaragüense para el Desarrollo Económico y Social (FUNIDES). 2018. Caracterización de fincas de café en la zona norte de Nicaragua. Obtenido de: [https://assets.rikolto.org/caracterizacion\\_de\\_fincas\\_nicafes.pdf](https://assets.rikolto.org/caracterizacion_de_fincas_nicafes.pdf)
4. International Plant Protection Convention. (IPPC). Obtenido de: <https://www.ippc.int/es/countries/colombia/pestreports/2019/08/primera-deteccion-de-marchitez-por-fusarium-oxysporum-fsp-cubense-raza-4-tropical-foc-r4t-recientemente-clasificado-como-fusarium-odoratissimum-maryani-lombard-kema-crous-2019/>. Consultado el 7 de febrero de 2023.
5. International Plant Protection Convention. (IPPC). Obtenido de: <https://www.ippc.int/es/countries/peru/pestreports/>. Consultado el 7 de febrero de 2023.

6. International Plant Protection Convention. (IPPC). Obtenido de: <https://www.ippc.int/es/countries/venezuela-bolivarian-republic-of/pestreports/>. Consultado el 7 de febrero de 2023.
7. IPSA – Dirección de Cuarentena. 2019. Protocolo de bioseguridad para la prevención de introducción del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical.
8. IPSA – Dirección de Sanidad Vegetal y Semillas. 2021. Plan de acción en caso de detección de plantas afectadas por marchitez por fusarium de las musáceas (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical) (syn. *Fusarium odoratissimum*) en Nicaragua.
9. Magdama, Freddy. 2019. Fusariosis del banano raza 4 tropical. Guía de campo para reconocimientos de síntomas. Guayaquil – Ecuador. Obtenido de: <http://www.bananotecnia.com/articulos/guia-de-campo-para-el-reconocimiento-de-sintomas-de-fusariosis-del-banano-raza-4-tropical/>
10. MAG (Ministerio Agropecuario). Mapa interactivo de la producción por rubro. Obtenido de: <https://www.mag.gov.ni/index.php/mapas-interactivos/mapa-interactivo-de-la-produccion-por-rubro>. Consultado el 6 de febrero de 2023.
11. OIRSA. 2019. Análisis de riesgo. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical (Foc r4t). Plaga cuarentenaria. Obtenido de: <https://visar.maga.gov.gt/visar/22/sv/ARP-Fus.pdf>
12. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural. Pesca y alimentación - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2018. Manual de toma, manejo y envío de muestra. Tecamác, México. Obtenido de: <http://sinavef.senasica.gob.mx/CNRF/AreaDiagnostico/DocumentosReferencia/Documentos/ManualesGuias/Manuales/Manual%20de%20Toma,%20Manejo%20y%20Env%3%ADo%20de%20Muestras.pdf>
13. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2022. Protocolo de Diagnóstico: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Marchitez por fusarium). Versión 2. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Obtenido de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/765366/Protocolo\\_Diagnostico0310\\_A\\_1.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/765366/Protocolo_Diagnostico0310_A_1.pdf)
14. Resolución Ejecutiva No. 005 – 2023. Declaratoria de alerta fitosanitaria y aplicación de medidas fitosanitarias para la prevención de la introducción del hongo que provoca la marchitez por fusarium, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical (Foc R4T).
15. ProMusa. Morfología de la planta del banano. Obtenido de: [https://www.promusa.org/Morfolog%3%ADa+de+la+planta+del+banano#:~:text=Seudotallo,%3%A1gina%20principal%20sobre&text=Se%20puede%20observar%20el%20tallo,foliares%20superpuestas%20\(ver%20abajo\)](https://www.promusa.org/Morfolog%3%ADa+de+la+planta+del+banano#:~:text=Seudotallo,%3%A1gina%20principal%20sobre&text=Se%20puede%20observar%20el%20tallo,foliares%20superpuestas%20(ver%20abajo))

**Anexo 1**  
**Síntomas y signos asociados a Foc R4T**



1.1. Amarillamiento desde el borde hacia nervadura central.  
Cortesía: Ana Noguera



1.2. Acortamiento de la hoja emergente  
Fotografía: M. Dita



1.3. Quiebre de las hojas en la base del pecíolo



1.4. Resquebrajamiento del pseudotallo  
Fotografía: M. Dita

## Anexo 2

### Instrumentos y materiales necesarios para la colecta de muestras



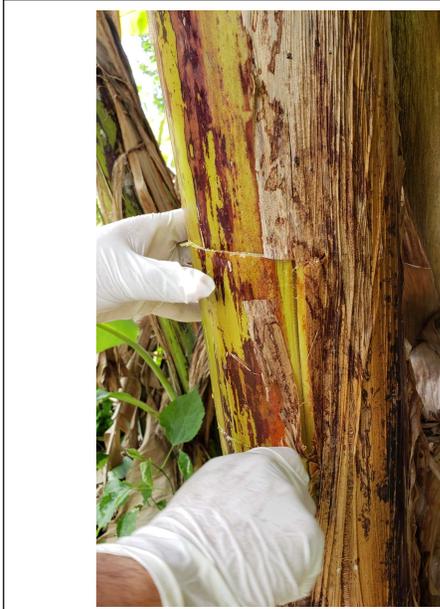
2.1. Coloca plástico negro en el suelo.  
Fotografía: IPSA



2.2. Revisión de lista de materiales.  
Fotografía: IPSA

*Vamos  
Adelante!*  
CON AMOR,  
ESPERANZA  
Y ALEGRÍA!

**Anexo 3**  
**Corte longitudinal en el pseudotallo**



3.1. Corte longitudinal en el pseudotallo.  
Fotografía: IPSA



3.2. Corte longitudinal en el pseudotallo.  
Fotografía: IPSA



3.3. Capas del pseudotallo sobre el plástico  
negro.  
Fotografía: IPSA



3.4. Extracción de fragmento del pseudotallo.  
Fotografía: IPSA

#### Anexo 4

#### Corte del pseudotallo para envío de muestras



4.1. Pseudotallo sobre tabla plástica con papel toalla para absorber humedad.  
Fotografía: IPSA



4.2. Corte del pseudotallo.  
Fotografía: IPSA

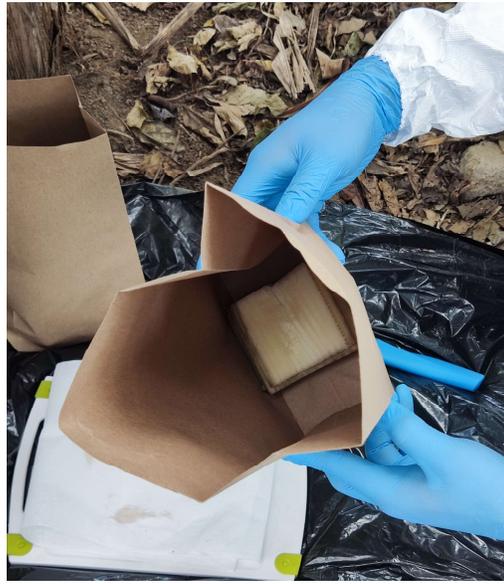


4.3. División del pseudotallo en partes similares.  
Fotografía: IPSA



4.4. Uso de pinzas para poner pseudotallo en bolsa kraft.  
Fotografía: IPSA

Anexo 4



4.5. Pseudotallo en el interior de bolsa de papel kraft.  
Fotografía: IPSA



4.6. Pseudotallo dividido y colocado en bolsas de papel kraft independientes.  
Fotografía: IPSA



4.7. Papel toalla y guantes depositados en bolsa plástica.  
Fotografía: IPSA



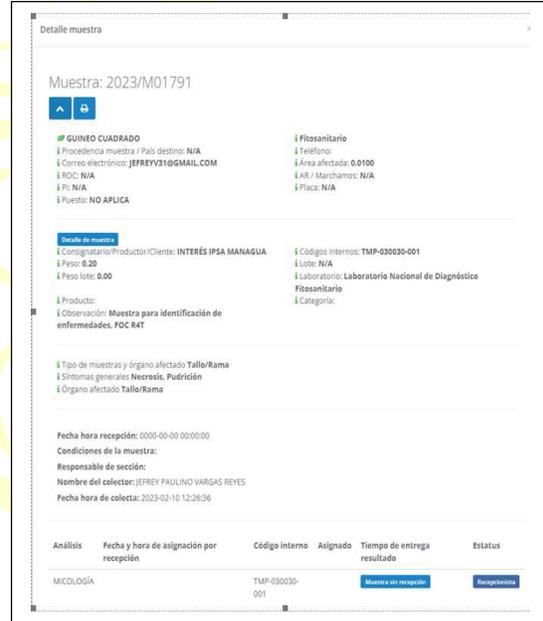
4.8. Bolsas kraft con muestras colocadas en bolsas plásticas tipo zip.  
Fotografía: IPSA

**Anexo 5**

**Codificación de muestra y embalaje para enviarse a laboratorio de análisis fitosanitarios**



**5.1. Adhesión de código QR a bolsas plásticas.**  
Fotografía: IPSA



**5.2. Uso de aplicación móvil SIVIFI.**  
Fotografía: IPSA



**5.3. Etiqueta de muestra oficial en bolsa tipo zip.**  
Fotografía: IPSA



**5.4. Etiqueta de ambas bolsas de plástico tipo zip.**  
Fotografía: IPSA

Anexo 5



5.5. Termo con gel congelante.  
Fotografía: IPSA



5.6. Muestra tomada colocada en el termo.  
Fotografía: IPSA



5.7. Sello de tapa del termo que contiene  
muestra.  
Fotografía: IPSA



5.8. Sello de tapa del termo que contiene  
muestra.  
Fotografía: IPSA

## Anexo 6

### Sellado del corte en la planta de musácea



6.1. Capas del pseudotallo colocadas en su posición original.  
Fotografía: IPSA



6.2. Capas del pseudotallo colocadas en su posición original.  
Fotografía: IPSA



6.3. Cubrimiento del área de incisión con cinta adhesiva.  
Fotografía: IPSA



6.4. Se marca la planta con atomizador de pintura fluorescente.  
Fotografía: IPSA

## Anexo 7

### Desinfección de instrumentos y medidas de bioseguridad



7.1. Desinfección de instrumentos.  
Fotografía: IPSA



7.2. Desinfección de materiales.  
Fotografía: IPSA



7.3. Aislamiento de planta.  
Fotografía: IPSA

### Anexo 8

#### Lista de chequeo de instrumentos y materiales a utilizar en la toma de muestra

Material	Cantidad	Casilla de chequeo
Traje de protección (desechable)	1	
Par de botas de hule	1	
Cubrebotas (polipropileno o plástico) desechables	2	
Guantes quirúrgicos (látex)	6	
Plástico negro (1.0-1.5 m por 1.0-1.5 m)	1	
Bolsas de plástico para la recolección y descarte de material	1	
Bolsa de plástico para la recolección de instrumentos y material desinfectado	1	
Bolsas plásticas de cierre zip o con cremallera para la colecta de muestras	1	
Bolsas de papel kraft	1	
Tabla de plástico para corte de haces vasculares	1	
Hojas de papel toalla absorbente	5	
Etiquetas con QR	1	
Etiquetas adhesivas (muestra oficial)	1	
Cuchillo o navaja	1	
Bisturí con escalpelo	1	
Pinzas	1	
Machete	1	
Palín	1	
Lupa	1	
Dispositivo móvil con cámara y GPS	1	
Cinta para ducto (resistente al agua)	1	
Cinta amarilla para delimitar área de la planta sospechosa	1	
Atomizador manual (1 litro)	1	
Desinfectantes (1 litro)	1	
Encendedor o cerillos	1	
Atomizador de pintura fluorescente	1	
Termo	1	
Geles refrigerantes	2	

**Anexo 9**  
**Información requerida en la aplicación móvil SIVIFI-MUESTRA**



The screenshots show the following data entry steps:

- Screen 1: DATOS GENERALES**
  - DEPARTAMENTO: Managua
  - MUNICIPIO: Managua
  - ALTITUD: 76
  - COMUNIDAD: SECTOR NORTE CIUDAD INDUSTRIAL
  - FINCA/ESTABLECIMIENTO:
  - ÁREA TOTAL:
  - FECHA DE RECOLECCIÓN: 03/03/2023
- Screen 2: DETALLE DE LA MUESTRA**
  - CONSIGNATARIO/PRODUCTOR/CLIENTE:
  - CULTIVO (NOMBRE CIENTÍFICO):
  - VARIEDAD:
  - PESO DE LA MUESTRA (Kg):
  - PRODUCTO:
  - CATEGORÍA:
- Screen 3: TIPO MUESTRA Y ÓRGANO AFEC...**
  - NÚMERO DE LOTE/ESTIBA:
  - PESO DEL LOTE (Kg):
  - OBSERVACIÓN:
  - TIPO MUESTRA Y ÓRGANO AFEC...: Cormo
  - SÍNTOMAS GENERALES: Necrosis
  - ÓRGANO AFECTADO: Planta
  - Buttons: GUARDAR, CANCELAR

*Vamos Adelante!*  
**CON AMOR, ESPERANZA Y ALEGRÍA!**

## XI. Control de cambios del protocolo.

Segunda versión – Febrero del año 2024.

En el mes de noviembre del año 2023, se realizó la revisión del protocolo aprobado en el mes de marzo del 2023. Los cambios que se realizaron son los siguientes:

- a) En el ámbito de aplicación se agregó lo siguiente: El protocolo no se implementará cuando existan condiciones de lluvia o este lloviendo.
- b) Se agregó al inicio del punto VII Procedimiento, la desinfección de instrumentos y materiales a utilizar que antes estaba mencionada en la actividad 3, “Toma de tejido en planta sospechosa”, específicamente en el punto 5 referente a la desinfección de instrumentos. También se elimina el punto 7, referente a la desinfección de la superficie de corte en el pseudotallo.
- c) En la actividad 3 “Toma de tejido en planta sospechosa”, en el punto 5, se agrega que la muestra tomada se dividirá en dos partes, para análisis de biotecnología y micología.
- d) En la actividad 3 “Toma de tejido en planta sospechosa”, en el punto 8, se modifica que el corte longitudinal en el pseudotallo se realizará a una altura de 20 cm - 40 cm de la base de la planta. Antes se mencionaba la altura de 50 cm – 100 cm.
- e) En la actividad 3 “Toma de tejido en planta sospechosa”, se elimina la redacción del punto 12 y se sustituye por la introducción de la muestra en las bolsas plásticas tipo zip.
- f) En la actividad 3 “Toma de tejido en planta sospechosa”, se modifica la redacción del punto 11 y se ajusta a la eliminación del papel toalla y cambio de guantes descartables.
- g) En la actividad 4 “Codificación de toma de muestra de tejido”, se modificó la redacción del punto 1 y 3.
- h) En punto VIII, inciso 2, se modificó la redacción eliminando el uso del vial.
- i) Anexo 8 - Lista de chequeo de instrumentos y materiales a utilizar en la toma de muestra, se elimina la utilización de viales.
- j) Se eliminaron las fotos: 4.1; 4.2; 4.3; 4.4; 4.5; 5.1; 5.3 y 5.4. Estas fueron sustituidas por nuevas fotos acordes a los cambios realizados al protocolo.
- k) Se agregaron las fotos 4.7 y 4.8.