



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

12.^a reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias

Incheon (República de Corea)

5-11 de abril de 2017

Secretaría de la CIPF

ÍNDICE

1.	Apertura de la reunión.....	6
1.1	Declaración de apertura de la FAO.....	6
1.2	Declaración de apertura de la República de Corea.....	6
2.	Discurso principal: Sanidad vegetal y facilitación del comercio.....	6
3.	Aprobación del programa.....	6
3.1	Declaración de competencias presentada por la Unión Europea.....	7
4.	Elección del Relator.....	7
5.	Establecimiento del Comité de Credenciales.....	7
6.	Informe de la Presidenta de la Comisión de Medidas Fitosanitarias.....	7
7.	Informe de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria.....	7
8.	Gobernanza.....	7
8.1	Resumen del informe del Grupo sobre planificación estratégica.....	7
8.2	Marco estratégico para 2020-2030.....	8
8.3	Financiación sostenible.....	8
8.4	Cuestiones incipientes.....	9
8.5	Asociaciones estratégicas.....	10
8.6	Contenedores marítimos: Plan de acción complementario.....	11
8.7	Recomendaciones de la Comisión de Medidas Fitosanitarias.....	12
8.8	Ajustes en las funciones y atribuciones de la Consulta técnica entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria.....	12
8.9	Marco para las normas y la aplicación.....	13
8.10	Propuesta de establecimiento de un nuevo órgano de supervisión de la aplicación..	13
9.	Establecimiento de normas.....	14
9.1	Informe sobre las actividades del Comité de Normas.....	14
9.2	Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias.....	15
9.3	Temas de las normas de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria: nuevos temas y ajustes en la <i>Lista de temas de las normas de la CIPF</i>	19
9.4	Ajustes realizados en las traducciones de las normas internacionales para medidas fitosanitarias aprobadas en la 11.ª reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias.....	19
9.5	Ajuste en el proceso de revisión lingüística.....	20
10.	Facilitación de la aplicación.....	21
10.1	Informe sobre las actividades de la Unidad de Facilitación de la Aplicación.....	21
10.2	Aplicación piloto del proyecto relativo a la vigilancia.....	21
10.3	Sistema de examen y apoyo de la aplicación.....	22
10.4	Informe sobre las obligaciones nacionales de presentación de información.....	22
10.5	Situación respecto del registro de la marca prevista en la Norma internacional para medidas fitosanitarias (NIMF) 15.....	23
10.6	Informe sobre ePhyto.....	23
11.	Comunicación y promoción.....	24
11.1	Principales actividades en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016.....	24

11.2	Plan de trabajo en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2017	25
12.	Informes sobre la red de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria.....	25
12.1	Informe sobre los talleres regionales de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016.....	25
12.2	Informe de la 28. ^a Consulta técnica entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria.....	26
13.	Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020 (AISV 2020).....	26
14.	Cooperación internacional	27
14.1	Informes orales de algunas organizaciones internacionales.....	27
14.2	Informes escritos de organizaciones internacionales pertinentes.....	28
15.	Informe financiero y presupuesto	28
15.1	Informe financiero de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria correspondiente a 2016.....	28
15.2	Plan de trabajo y presupuesto de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria para 2017	29
15.3	Movilización de recursos por parte de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016	30
16.	Dificultades conceptuales en la elaboración de normas con respecto a la aplicación	30
17.	Éxitos y dificultades con respecto a la aplicación de la Convención	30
18.	Sesión sobre temas especiales: comercio electrónico.....	31
19.	Confirmación de la composición de los órganos auxiliares de la Comisión de Medidas Fitosanitarias y posibles sustituciones en los mismos	31
19.1	Miembros de la Mesa de la Comisión de Medidas Fitosanitarias y posibles sustitutos de los miembros	31
19.2	Miembros del Comité de Normas y posibles sustitutos de los miembros.....	31
19.3	Miembros del Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias y posibles sustitutos de los miembros	32
20.	Otros asuntos	32
21.	Fecha y lugar de la siguiente reunión	32
22.	Aprobación del informe.....	32

APÉNDICES

Apéndice 01:	Agenda.....	33
Apéndice 02:	Lista de documentos	36
Apéndice 03:	Lista de participantes	42
Apéndice 04:	Informe de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria correspondiente a 2016.....	71
Apéndice 05:	Plan de acción complementario para evaluar y gestionar las amenazas de plagas asociadas a los contenedores marítimos	74
Apéndice 06:	Medidas prioritarias para aplicar el Plan de acción complementario para los contenedores marítimos	76

Apéndice 07: Establecimiento y funcionamiento del Grupo de acción sobre contenedores marítimos	78
Apéndice 08: Criterios propuestos con respecto a las recomendaciones de la CMF	80
Apéndice 9: Funciones y atribuciones de las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) en su relación con la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF)	81
Apéndice 10: Mandato del Comité de Aplicación y Desarrollo de la Capacidad (CADC) de la CIPF, un órgano auxiliar de la CMF.....	83
Apéndice 11: Agradecimientos relativos a las actividades de elaboración de normas.....	88
Apéndice 12: Procedimiento de los grupos de revisión lingüística.....	100
Apéndice 13: “Realizaciones” y “logros del Año Internacional de la Sanidad Vegetal” propuestos.....	101
Apéndice 14: Contribuciones al Fondo fiduciario de la CIPF de donantes múltiples frente a los gastos (en USD) correspondientes a 2016	103
Apéndice 15: Nuevos miembros y posibles sustitutos confirmados de la Mesa de la CMF y el Comité de Normas y miembros actuales del Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias.....	104
Apéndice 16: Plan de trabajo y presupuesto de la Secretaría de la CIPF para 2017	111
Apéndice 17: Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias	117
Se adjuntan al presente informe las traducciones, de estar disponibles.	
<ul style="list-style-type: none"> • NIMF 38: <i>Movimiento internacional de semillas</i> (2009-003) • Anexo 1, <i>Acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador</i> (2005-003), de la NIMF 20 (<i>Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones</i>) • NIMF 39: <i>Movimiento internacional de madera</i> (2006-029) • NIMF 40: <i>Movimiento internacional de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar</i> (2005-004) • NIMF 41: <i>Movimiento internacional de vehículos, maquinaria y equipos usados</i> (2006-004) • TF 22: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra insectos en madera descortezada (2007-101A) • TF 23: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra nematodos e insectos en madera descortezada (2007-101B) • TF 24: Tratamiento de frío contra <i>Ceratitidis capitata</i> en <i>Citrus sinensis</i> (2007-206A) • TF 25: Tratamiento de frío contra <i>Ceratitidis capitata</i> en <i>Citrus reticulata x C. sinensis</i> (2007-206B) • TF 26: Tratamiento de frío contra <i>Ceratitidis capitata</i> en <i>Citrus limon</i> (2007-206C) • TF 27: Tratamiento de frío contra <i>Ceratitidis capitata</i> en <i>Citrus paradisi</i> (2007-210) • TF 28: Tratamiento de frío contra <i>Ceratitidis capitata</i> en <i>Citrus reticulata</i> (2007-212) • TF 29: Tratamiento de frío contra <i>Ceratitidis capitata</i> en <i>Citrus clementina</i> (2010-102) • TF 30: Tratamiento térmico mediante vapor contra <i>Ceratitidis capitata</i> en <i>Mangifera indica</i> (2010-106) • TF 31: Tratamiento térmico mediante vapor contra <i>Bactrocera tryoni</i> en <i>Mangifera indica</i> (2010-107) • PD 13: <i>Erwinia amylovora</i>; • PD 14: <i>Xanthomonas fragariae</i>; • PD 15: <i>Virus de la tristeza de los cítricos</i>; 	

- PD 16: *Género Liriomyza* Mik;
- PD 17: *Aphelenchoides besseyi*, *A. ritzemabosi* y *A. fragariae*;
- PD 18: *Anguina* spp. (2013-003);
- PD 19: *Sorghum halepense* (2006-027);
- PD 20: *Dendroctonus ponderosae* (2006-019);
- PD 21: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (2013-001);
- PD 22: *Fusarium circinatum* (2006-021).

1. Apertura de la reunión

1.1 Declaración de apertura de la FAO

- [1] El Subdirector General de la FAO y la Representante Regional para Asia y el Pacífico, Sra. Kundhavi Kadiresan, dieron la bienvenida a los delegados a la 12.^a reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) y manifestaron su agradecimiento al Gobierno de la República de Corea por haber hospedado dicha reunión, observando que esta se celebraba por primera vez fuera de la Sede de la FAO. La Sra. Kundhavi Kadiresan señaló la repercusión que tenía el desplazamiento de contenedores marítimos en la propagación de plagas y la necesidad de adoptar medidas de prevención y respuesta antes tales catástrofes, haciendo hincapié en la innovación y colaboración constantes entre los Miembros y la FAO en este ámbito. Reiteró asimismo la importancia de la labor de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) y su contribución a los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas.

1.2 Declaración de apertura de la República de Corea

- [2] El Ministro de Agricultura de la República de Corea dio la bienvenida a los participantes al país y a la 12.^a reunión de la CMF y felicitó a la CIPF por el 65.^o aniversario de su establecimiento. El Ministro prometió apoyar las peticiones para que se aumenten los esfuerzos en materia de protección fitosanitaria en un comercio agrícola en constante aumento, que provocará un mayor riesgo de plagas migratorias. Reconoció la contribución de la CIPF en la elaboración y aplicación de normas internacionales dirigidas a facilitar el comercio y proteger las plantas y reiteró el compromiso de la República de Corea de apoyar la labor de la CIPF.
- [3] El alcalde de la ciudad metropolitana de Incheon también dio la bienvenida a los miembros y a los participantes en la reunión de la CMF.

2. Discurso principal: Sanidad vegetal y facilitación del comercio

- [4] El Dr. Kunio Mikuriya, Secretario General de la Organización Mundial de Aduanas (OMA), pronunció el discurso principal sobre sanidad vegetal y facilitación del comercio, en el que se destacaba el papel de las aduanas en la facilitación del comercio mundial y se invitaba a los miembros de la CIPF a trabajar con los miembros de la OMA para buscar sinergias con miras a la colaboración en los puntos de entrada nacionales, con la posibilidad de asistencia para prestar apoyo a los servicios fitosanitarios, según las necesidades.

3. Aprobación del programa

Programa

- [5] La Sra. Lois Ransom (Australia), Presidenta de la CMF, dio las gracias especialmente al Gobierno de la República de Corea por hospedar la primera reunión de la Comisión celebrada fuera de Roma (Italia). Manifestó su reconocimiento por el duro trabajo que se había realizado en preparación para la CMF y, en particular, por los esfuerzos del Organismo de Cuarentena Animal y Vegetal y de su personal.
- [6] La Presidenta detalló los cambios en el programa provisional¹ y el orden en el que se abordarían los temas. La lista de los participantes se presenta en el Apéndice 3.
- [7] La CMF:
- 1) *aprobó* el programa sin cambios y tomó nota de la lista de documentos (véanse los apéndices 1 y 2).

¹ CPM 2017/02/Rev_01

3.1 Declaración de competencias presentada por la Unión Europea

[8] La CMF:

- 1) *tomó nota* de la Declaración de competencias y derechos de voto presentada por la Unión Europea (UE) y sus 28 Estados miembros².

4. Elección del Relator

[9] La CMF:

- 1) *eligió* relatora a la Sra. Jane Chard (Reino Unido).

5. Establecimiento del Comité de Credenciales

[10] La CMF:

- 1) *designó* un Comité de Credenciales integrado por siete miembros, uno por cada región de la FAO y un miembro de la Mesa de la CMF, de conformidad con las normas de la FAO.
- 2) *eligió* a la Sra. Reem Barakat (Canadá) como Presidenta. El Comité de Credenciales aprobó una lista de 113 credenciales válidas y fijó en 92 participantes el quórum de la Comisión.

6. Informe de la Presidenta de la Comisión de Medidas Fitosanitarias

[11] La CMF tomó nota del informe presentado por la Presidenta³ y observó la necesidad de que la CMF adopte decisiones que permitan y respalden el ejercicio de las funciones básicas de la CIPF y las actividades previstas que se describen en el informe. La CMF observó además que los temas anuales de la Secretaría de la CIPF habían aumentado notablemente la visibilidad de la CIPF y la sensibilización sobre esta a nivel mundial. La Comisión tomó nota del agradecimiento de la Presidenta a la Secretaría de la CIPF por su compromiso y dedicación durante todo el año y observó el número sin precedentes de normas presentadas a la CMF para su adopción.

7. Informe de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección

Fitosanitaria

[12] La CMF tomó nota del informe anual de 2016 de la Secretaría de la CIPF, presentado por el Secretario, Sr. Jingyuan Xia⁴, en el que se esbozaban los 10 principales logros obtenidos por la Secretaría en el último año y los desafíos y metas de cara al futuro (Apéndice 4). La CMF tomó nota del agradecimiento a los órganos rectores de la CIPF, incluidas las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) y las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF), así como a todos los asociados y colaboradores a nivel mundial por su apoyo y colaboración.

8. Gobernanza

8.1 Resumen del informe del Grupo sobre planificación estratégica

[13] La CMF tomó nota del informe⁵ presentado por el Presidente del Grupo sobre planificación estratégica (GPE), Sr. Javier Trujillo (México), en el que se destacaba que la reunión había constituido la puesta en marcha oficial de la elaboración del Marco estratégico de la CIPF para 2020-2030 y que en dicha reunión se habían adoptado importantes medidas para dar impulso a la propuesta relativa a la celebración del Año Internacional de la Sanidad Vegetal (AISV) en 2020. Se había hecho hincapié en el apoyo al fomento de fuertes vínculos entre los programas de la CIPF y los temas relacionados con la misma. Señaló además que se habían determinado cinco iniciativas prioritarias como parte de sus objetivos

² CPM 2017/INF/17.

³ CPM2017/40

⁴ CPM 2017/33.

⁵ CPM 2017/39.

estratégicos y que había varias cuestiones importantes, incluida la necesidad de crear un mecanismo de financiación sostenible para la Secretaría de la CIPF a fin de abordar las emergencias relacionadas con la sanidad vegetal.

[14] La CMF:

- 1) *tomó nota* del informe.

8.2 Marco estratégico para 2020-2030

[15] El proyecto de Marco estratégico para 2020-2030, redactado por el Sr. Peter Thompson (Nueva Zelanda) y el Sr. Ralf Lopian (Finlandia), fue presentado por uno de los autores⁶. La CMF sometió a debate el documento durante la reunión y acordó concederse algo más de tiempo para examinar este tema y celebrar una reunión vespertina que permitiera un intercambio más detallado de opiniones sobre las diversas partes del Marco estratégico.

[16] Durante la reunión vespertina, se acordó en general que los objetivos del Marco estratégico debían estar estrechamente vinculados con los ODS de las Naciones Unidas. En particular se plantearon cuestiones en relación con el alcance (un marco para la comunidad fitosanitaria internacional), tomando en cuenta que el entorno operacional sería diferente en 2030, y con la necesidad de abarcar de forma más explícita asuntos como el cambio climático. Entre los demás aspectos que se consideraron necesarios para perfeccionar el Marco estratégico cabe mencionar la misión y la visión, el público destinatario, la manera de definir y determinar el éxito y la rendición de cuentas sobre la aplicación del plan.

[17] Se hizo hincapié en que el Marco estratégico debía tener tres niveles de información: un resumen de una página para el público general; una sección más detallada; y un plan operativo.

[18] Se elaborará un nuevo borrador para su examen y posterior presentación en la próxima reunión del GPE, en octubre de 2017, y en la CMF-13.

[19] La Presidenta alentó a las partes contratantes a seguir presentando observaciones a los autores, particularmente en lo que respecta a la Agenda de desarrollo.

[20] La CMF:

- 1) *formuló* observaciones sobre los contenidos estructurales de alto nivel del Marco estratégico para 2020-2030, prestando especial atención a la visión, la misión y los objetivos estratégicos;
- 2) *formuló* observaciones sobre la Agenda de desarrollo de la CIPF para 2020-2030 propuesta, como parte integrante del Marco estratégico.

8.3 Financiación sostenible

[21] La Secretaría presentó el documento relativo a la financiación sostenible⁷. Con respecto a la propuesta de financiación, en octubre de 2016 el GPE manifestó su apoyo a dos opciones de financiación sostenible de la Secretaría de la CIPF y sus actividades básicas: un sistema de cuotas voluntarias mediante acuerdo y un sistema de pago paulatino.

[22] Algunas partes contratantes manifestaron su preocupación por el hecho de que esto les supusiera un costo adicional, que se añadiría a los recursos ya proporcionados a través de las asignaciones nacionales al Programa ordinario de la FAO.

⁶ CPM 2017/24

⁷ CPM 2017/26.

- [23] Otras partes contratantes solicitaron a la Mesa de la CMF y a su Comité Financiero, así como al GPE, que llevaran a cabo un análisis más a fondo de estas opciones y que elaboraran disposiciones detalladas y favorecieran la comprensión de la CMF sobre los mecanismos y la forma en que estos podían aplicarse.
- [24] Otras partes contratantes estimaron que los recursos no eran suficientes para apoyar las funciones complementarias que se había pedido a la Secretaría que asumiera en los últimos años además de las actividades habituales de elaboración de normas, y señalaron que la aplicación de la Convención había obtenido mayor prioridad, mientras que los recursos disponibles para esas actividades se habían recibido principalmente pugnando por la financiación de proyectos.
- [25] Las partes contratantes se mostraron en general de acuerdo en que la financiación sostenible y “predecible” a largo plazo constituía una necesidad importante para el programa de trabajo de la CIPF y acogieron con beneplácito las iniciativas adoptadas para asegurarla.
- [26] La CMF:
- 1) *convino* en que desarrollándose un mecanismo para obtener financiación sostenible, incluido un posible sistema de cuotas voluntarias acordadas y un sistema de pago paulatino como componentes de una propuesta sobre financiación sostenible que se presentaría en la CMF-15 en 2020;
 - 2) *solicitó* a la Mesa de la CMF y su Comité Financiero, así como al GPE, que elaborasen disposiciones detalladas para dicha propuesta de financiación sostenible durante 2017;
 - 3) *pidió* que en la CMF-13 (2018) se presentara un informe sobre la marcha de los trabajos relacionados con la propuesta de financiación sostenible;
 - 4) *alentó* mientras tanto a las partes contratantes a consignar recursos extrapresupuestarios al programa de trabajo de la CIPF.

8.4 Cuestiones incipientes

- [27] La Secretaría presentó el documento⁸ relativo a las cuestiones incipientes y señaló que se recibían periódicamente solicitudes de asesoramiento sobre brotes de plagas. La CMF observó la importancia de responder prontamente a tales solicitudes mediante mecanismos que pudieran proporcionar información pertinente en apoyo inmediato de la realización de actividades de emergencia. La CMF observó además que debería establecer mecanismos para abordar las cuestiones incipientes a corto plazo, si bien la decisión principal sobre este asunto debería recaer dentro del ámbito del Marco estratégico para 2020-2030 y la reunión ministerial de la CMF prevista para 2020. A corto plazo, la Secretaría de la CIPF contribuiría a la adopción de medidas sobre las cuestiones incipientes potenciando la recopilación y el intercambio de información para ayudar a las partes contratantes a planificar y aplicar medidas y a presentar informes sobre las medidas y los resultados obtenidos en relación con otras cuestiones además de la vigilancia.
- [28] Las partes contratantes indicaron a la CMF que debían establecerse modelos de financiación extrapresupuestaria. Señalaron que las ORPF desempeñaban una función respecto de las cuestiones de políticas y la coordinación de tales actividades. Las partes contratantes destacaron asimismo la necesidad de asegurarse de que no hubiera duplicaciones con otros programas y actividades de la FAO. La CMF tomó nota asimismo de la propuesta de que el GPE abordara el asunto basándose en los debates mantenidos por la Mesa.
- [29] La CMF:
- 1) *respaldó* el enfoque a corto plazo propuesto;
 - 2) *solicitó* a la Mesa que dedicase una parte adecuada de la reunión de junio al establecimiento del orden de prioridades, así como de los criterios o reglas para ello, en el presupuesto y el plan de trabajo de la Secretaría.

⁸ CPM 2017/35

8.5 Asociaciones estratégicas

- [30] La Secretaría presentó el documento relativo a las asociaciones estratégicas⁹ y señaló que los representantes del sector privado con un gran interés en las cuestiones fitosanitarias, especialmente en la protección de los recursos fitogenéticos mundiales contra las plagas, podían ser un recurso potencialmente importante que no se había explotado hasta ahora. En el documento se esbozaban las posibilidades de trabajar con representantes del sector privado que se ajustaban a los objetivos de la CIPF establecidos en el Marco estratégico, con sujeción a determinados criterios. En el documento se exponía además que el desarrollo de asociaciones público-privadas entre la CIPF y las partes interesadas pertinentes con miras a apoyar los esfuerzos en el ámbito de la sanidad vegetal guardaba conformidad con las deliberaciones mantenidas el año pasado en las reuniones tanto de la Mesa como del GPE, y se contemplaba en el Plan estratégico de la CIPF para 2020-2030. En este sentido, se propuso la celebración de un taller para las partes interesadas en 2020. Uno de los objetivos del taller propuesto sería ofrecer a los representantes del sector privado la oportunidad de debatir y evaluar la creación de un grupo asesor de partes interesadas en la CIPF.
- [31] El grupo asesor propuesto se sumaría a la participación y colaboración ya existentes del sector privado en iniciativas tales como ePhyto o las relativas a los contenedores marítimos y la norma para granos, en las que se han buscado la experiencia y los conocimientos especializados de la industria para garantizar que los resultados sean compatibles con los sistemas de comercio mundiales. El grupo asesor sería independiente de la CIPF en todos sus aspectos, incluida la financiación.
- [32] Algunas partes contratantes observaron que la participación del sector privado en cuestiones que les afectaban de forma directa o indirecta era útil e importante, sobre todo teniendo en cuenta las ventajas señaladas por el Secretario General de la OMA en su discurso de apertura en la CMF-12 y el posible valor de la colaboración y la interacción.
- [33] Otras partes contratantes pidieron que se elaborasen directrices sobre la interacción con representantes del sector privado para las ONPF y que se facilitasen a los miembros tales directrices, así como una descripción del impacto y los resultados que la CIPF desea y prevé alcanzar en su colaboración con el sector privado.
- [34] Algunas partes contratantes señalaron que en el grupo de las partes interesadas deberían figurar organizaciones no gubernamentales (ONG) competentes y otras entidades pertinentes, y que la CMF debería ser clara respecto de lo que quiere conseguir por conducto de este grupo de partes interesadas.
- [35] La CMF señaló que algunas ORPF colaboraban ya con representantes del sector privado y partes interesadas pertinentes.
- [36] La CMF:
- 1) *acordó* continuar ampliando y mejorando la colaboración entre la CIPF y las partes interesadas pertinentes;
 - 2) *aprobó* la organización de un taller para las partes interesadas en 2020;
 - 3) *alentó* a las partes interesadas pertinentes de ámbito mundial y regional a que estudiaran la posibilidad de formar un grupo asesor de partes interesadas en la CIPF para ampliar su colaboración y contribución con miras a la protección de los recursos vegetales del mundo contra las plagas;
 - 4) *solicitó* que la Mesa de la CMF y el GPE, en consulta con las partes interesadas pertinentes, prepararan proyectos de mandato y reglamento para ese órgano asesor de partes interesadas en la CIPF, si procedía, con miras a alcanzar un acuerdo al respecto en el taller de la CIPF y las partes interesadas en 2020, o incluso antes.

⁹ CPM 2017/37

8.6 Contenedores marítimos: Plan de acción complementario

- [37] La CMF tomó nota del documento que presentó la Secretaría¹⁰. Durante la 11.ª reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF-11) (2006) se celebró una sesión sobre temas especiales acerca de la cuestión de los contenedores marítimos. En las presentaciones realizadas por las ONPF, las organizaciones internacionales pertinentes y las partes interesadas competentes que intervienen en el movimiento de contenedores marítimos, se puso de relieve la complejidad de la logística del desplazamiento de dichos contenedores y los posibles riesgos de dispersión de plagas. La CMF reconoció el riesgo que entrañan las plagas y los artículos reglamentados, distintos de los que constituyen la carga, que pueden desplazarse en contenedores marítimos y la complejidad de gestionar estos riesgos. La CMF pidió a la Mesa que considerase la elaboración de un “conjunto de medidas complementarias” que, combinadas, pudieran ser de utilidad para evaluar y gestionar los riesgos de plagas asociados a los contenedores marítimos, y que propusiera un posible programa de medidas complementarias en la CMF-12, en 2017. Siguieron manteniéndose debates tanto en el seno del GPE como en el Comité de Desarrollo de la Capacidad.
- [38] La Mesa propuso varias medidas, las cuales estarán sujetas a la disponibilidad de recursos extrapresupuestarios aportados por las partes contratantes o el sector privado. Estas medidas cuantificarán las repercusiones del Código de prácticas para la arrumazón de las unidades de transporte de la OMI, la OIT y la CEPE durante los siguientes cinco años y aumentarán la sensibilización acerca de los riesgos de plagas de los contenedores marítimos y de la información necesaria para ayudar a las ONPF a gestionar mejor estos riesgos, así como para establecer mecanismos de supervisión y gobernanza para su aplicación. Además, la Mesa recomendó que la supervisión de estas medidas recayera en el Comité de Aplicación y Desarrollo de la Capacidad (CADC).
- [39] Las partes contratantes apoyaron en principio esta iniciativa, incluida la creación de un Grupo de acción sobre contenedores marítimos. Algunas partes contratantes brindaron asistencia mediante la provisión de expertos a la Secretaría a este respecto.
- [40] Algunas partes contratantes expresaron su preocupación en cuanto a la financiación de esta iniciativa y manifestaron la importancia de utilizar fondos extrapresupuestarios.
- [41] Algunas partes contratantes opinaban que el Grupo de acción sobre contenedores marítimos no debía constituir una estructura permanente y a ser posible debía disolverse para 2020, ya que debía tener una duración limitada.
- [42] Una parte contratante expresó que esperaba que las Directrices conjuntas del sector para la limpieza de contenedores¹¹ presentadas por el World Shipping Council y la Container Owners Association fueran distribuidas a los expedidores y terminales de transporte marítimo de las partes contratantes por los grupos del sector, de manera que la inspección y limpieza de los contenedores redujera efectivamente los riesgos planteados por ue suponían las plagas.
- [43] La Presidenta, y las partes contratantes, agradecieron al World Shipping Council y la Container Owners Association que hubieran proporcionados sus directrices para el sector, que las ONPF podrían utilizar para la manipulación de contenedores marítimos.
- [44] La CMF:
- 1) *respaldó* un Plan de acción complementario para los contenedores marítimos (Apéndice 5);
 - 2) *tomó nota* de las medidas prioritarias indicadas por el CDC en el Apéndice 6;
 - 3) *pidió* que en 2017 se estableciera el Grupo de acción sobre los contenedores marítimos, de acuerdo con un proyecto y plan de financiación acordados por la Mesa de la CMF para un período quinquenal;

¹⁰ CPM 2017/34/Rev_01

¹¹ CPM 2017/INF/05.

- 4) *pidió* que la Mesa invitara a las partes contratantes, el CN y las ONPF a presentar candidaturas que respondiesen a la composición indicada en el documento titulado "Establecimiento y funcionamiento del Grupo de acción sobre contenedores marítimos" (Apéndice 7).
- 5) *pidió* al CDC, al CADC y al Grupo de acción sobre los contenedores marítimos que redactasen el Reglamento y el mandato para poder aplicar de forma eficiente el Plan de acción complementario;
- 6) *alentó* a las partes contratantes a que proporcionasen recursos extrapresupuestarios para apoyar al Grupo de acción y dar inicio a las actividades de aplicación, incluida toda contribución en especie importante (con arreglo al modelo de gestión de proyectos ePhyto) para gestionar las actividades de aplicación;
- 7) *alentó* a las ONPF a compartir información durante las reuniones de la CMF y en el Portal fitosanitario internacional (PFI) acerca de las medidas adoptadas en sus países en apoyo de la Recomendación de la CMF sobre contenedores marítimos;
- 8) *pidió* a las ONPF que se pusieran en contacto con sus representantes nacionales ante la Organización Marítima Internacional (OMI) y les instaran a apoyar la adopción de las *Joint Industry Guidelines for Cleaning of Containers* (Directrices Conjuntas del Sector para la Limpieza de Contenedores) del Comité de Seguridad Marítima en 2017.

8.7 Recomendaciones de la Comisión de Medidas Fitosanitarias

[45] La Secretaría presentó su documento sobre las recomendaciones de la CMF¹², en el que se indicaba que la Secretaría de la CIPF había examinado y revisado las recomendaciones de la CMF con vistas a actualizarlas para asegurar su coherencia y claridad, y señaló asimismo que algunas recomendaciones de la CMF habían sido sustituidas. Durante el examen, la Secretaría estimó que las modificaciones propuestas a las recomendaciones de la CMF podían considerarse enmiendas a tinta. Los principales cambios que se aplicarán en todas las recomendaciones de la CMF han sido acordados por la Mesa de la CMF y se publicarán de conformidad con las normas de la FAO y la CIPF.

[46] Algunas partes contratantes sugirieron ligeras modificaciones a los criterios propuestos.

[47] La CMF:

- 1) *revocó* las recomendaciones de la CMF relativas a 1) el intercambio de información y 2) la función de los puntos de contacto de la CIPF, que han sido sustituidas por decisiones adoptadas en la CMF-10 (2015);
- 2) *pidió* a la Secretaría de la CIPF que incorporase las enmiendas a tinta aprobadas en las recomendaciones de la Comisión, publicase dichas recomendaciones en todos los idiomas en el PFI y revocase las versiones anteriores de las mismas.
- 3) *respaldó* el modelo revisado de presentación de recomendaciones de la CMF y *pidió* a la Secretaría de la CIPF que lo publicase en el PFI y revocase la versión anterior;
- 4) *acordó* los criterios relativos a las recomendaciones de la CMF descritos en el Apéndice 8 y *pidió* a la Secretaría de la CIPF que los adjuntase al procedimiento relativo a las recomendaciones de la CMF y los publicase en el PFI.

8.8 Ajustes en las funciones y atribuciones de la Consulta técnica entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria

[48] La Secretaría presentó el Reglamento actualizado y señaló la relación y las esferas de cooperación entre la Secretaría de la CIPF y las ORPF¹³.

¹² CPM 2017/15/Rev_01

¹³ CPM 2017/11/Rev_01

- [49] Varias partes contratantes agradecieron a la Secretaría los ajustes, que ponen de relieve la importante función de las ORPF en la familia de la CIPF.
- [50] Las partes contratantes del Caribe agradecieron a la Secretaría de la CIPF, a la Oficina Jurídica de la FAO y a otras ORPF las recomendaciones y la orientación que les habían brindado sobre el camino a seguir.
- [51] La CMF:
- 1) *pidió* a la Secretaría de la CIPF, el GPE, el Comité de Desarrollo de la Capacidad (CDC) y los órganos auxiliares de la CMF que siguieran colaborando con las ORPF como se contempla en esta versión actualizada de las funciones y atribuciones de dichas organizaciones;
 - 2) *instó* a las ORPF a que siguieran colaborando y fortaleciendo las asociaciones entre ellas y con la Secretaría de la CIPF tal como se contempla en esta versión actualizada de las funciones y atribuciones de las ORPF y en la evaluación de la mejora de la Secretaría de la CIPF de 2015;
 - 3) *alentó* a que la Consulta Técnica entre ORPF desempeñara un papel activo como mecanismo para facilitar esta colaboración y ofrecer aportaciones estratégicas a la Mesa de la CMF y a la Comisión;
 - 4) *reconoció* que nada de lo que se indicaba en estas funciones y atribuciones de las ORPF limitaba o reemplazaba los derechos u obligaciones de las partes contratantes en el marco de la CIPF;
 - 5) *reconoció* que nada de lo que se indicaba en estas funciones y atribuciones de las ORPF afectaba a la función de estas o limitaba las actividades que pudiesen llevar a cabo;
 - 6) *adoptó* la versión revisada de las funciones y atribuciones de las ORPF en relación con la Comisión de Medidas Fitosanitarias (Apéndice 9).

8.9 Marco para las normas y la aplicación

- [52] La Secretaría presentó su documento sobre el Marco para las normas y la aplicación¹⁴. Basándose en la decisión de la CMF-11 que respaldaba la utilización del Marco para las normas y la aplicación¹⁵ a fin de aportar información sobre las normas y otros mecanismos de aplicación que favorecieran y permitieran la aplicación de la Convención y las normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF) con el objetivo de facilitar la armonización, el CN se había reunido en mayo de 2016 y el Comité de Desarrollo de la Capacidad (CDC) en junio del mismo año con el propósito de examinar y actualizar el Marco para las normas y la aplicación. El GPE, durante su reunión de octubre de 2016, examinó el Marco para las normas y la aplicación actualizado y no introdujo cambios ni formuló observaciones al respecto.
- [53] Una parte contratante dio las gracias al CN, el CDC y la Secretaría de la CIPF y manifestó su deseo de que otras partes contratantes se refirieran al Marco al considerar nuevos temas o instrumentos.

[54] La CMF:

- 1) *aprobó* el Marco para las normas y la aplicación.

8.10 Propuesta de establecimiento de un nuevo órgano de supervisión de la aplicación

- [55] La Secretaría presentó un documento¹⁶ acerca de la propuesta de establecimiento de un nuevo órgano de supervisión basada en las conclusiones de un grupo especializado que se había reunido en julio de 2016 así como en la consideración del GPE y de la Mesa. Sobre la base de las conclusiones de estos debates, se pidió a la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) que examinara la propuesta de

¹⁴ CPM 2017/36.

¹⁵

https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2016/05/FrameworkForStandardsAndImplementation_2016-04-08.pdf.

¹⁶ CPM 2017/08.

denominar al nuevo comité “Comité de Aplicación y Desarrollo de la Capacidad (CADC) de la CIPF”. Ello refleja los dos elementos clave de la finalidad del comité: i) la aplicación de la CIPF, con inclusión de las NIMF y ii) el refuerzo de la capacidad fitosanitaria de las partes contratantes.

[56] Algunos miembros propusieron enmiendas, que se presentaron¹⁷ ante la Secretaría de la CIPF. Se celebró una reunión en busca de una solución, y se elaboró una propuesta revisada al respecto¹⁸. La Presidenta de la reunión subrayó que las principales cuestiones planteadas y acordadas eran las siguientes: elevar el número de miembros del órgano de 11 a 12; que haya un representante del CN y uno de las ORPF; selección de los miembros; garantizar un buen equilibrio en función de los conocimientos especializados sobre desarrollo de la capacidad o aplicación; representación regional. La responsabilidad de garantizar que hubiera un buen equilibrio se dejó en manos de la Mesa de la CMF. La renovación de la composición del órgano no sería automática, sino que la decisión se dejaría en manos de la Mesa transcurridos tres años.

[57] En relación con el aplazamiento de la convocatoria de presentación de temas, la CMF acordó que el Comité de Normas y el CADC deberían elaborar los criterios para su convocatoria conjunta de presentación de temas y cuestiones durante 2017 y presentarlos para su aprobación en la CFM-13 (2018). La celebración de la convocatoria conjunta sería entonces posible en 2018.

[58] Tras los debates, la CMF:

- 1) *consideró* el informe y las recomendaciones del Grupo especializado sobre aplicación;
- 2) *convino* en que se estableciera el Comité de Aplicación y Desarrollo de la Capacidad con arreglo al mandato y Reglamento aprobados (Apéndice 10);
- 3) *acordó* que la abreviación habitual del nombre del Comité fuera “CADC”;
- 4) *acordó* que el CADC debería entrar en funcionamiento en el segundo semestre de 2017;
- 5) *convino* en que el Grupo asesor sobre las obligaciones de presentación de informes nacionales, el Grupo encargado del examen trienal (TRG) y el Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias (OASD) se disolvieran al mismo tiempo que se establecía el CADC y en que las funciones y procedimientos de estos comités se transfirieran al CADC;
- 6) *acordó* que la convocatoria de presentación de temas se pospusiera para que el Comité de Normas y el CADC pudieran cursar conjuntamente una solicitud de temas para normas y cuestiones para la aplicación;
- 7) *acordó* que una tarea prioritaria del CADC sería elaborar criterios para la convocatoria conjunta del Comité de Normas y el CADC de presentación de temas y cuestiones, en colaboración con el Comité de Normas;
- 8) *convino* en que, hasta su disolución, el CDC comenzase a trabajar en estas tareas prioritarias del CADC;
- 9) *convino* en que el Comité de Desarrollo de la Capacidad (CDC) también trabajase para completar su programa en la medida de lo posible, a fin de garantizar que la transición al nuevo Comité fuera fluida.

9. Establecimiento de normas

9.1 Informe sobre las actividades del Comité de Normas

[59] Dado que el puesto de Presidente del Comité de Normas había quedado vacante, la Vicepresidenta, Sra. Shaza Omar (Egipto), presentó el informe¹⁹. La Sra. Omar destacó que el Comité de Normas (CN) nunca había tenido tanta actividad como en 2016, año en el que se aprobaron 12 NIMF y se recomendó la aprobación de otras 28. El CN ha trabajado de forma constante para lograr cumplir con su mandato

¹⁷ CPM 2017/INF/10 y CPM 2017/INF/12.

¹⁸ CPM 2017/CRP/08.

¹⁹ CPM 2017/22/Rev_01

básico de garantizar que las NIMF sean sólidas desde el punto de vista técnico y de la mayor calidad posible. Se reconoció la ayuda prestada por las partes contratantes a los miembros del CN para facilitar su participación y se señaló que en 2017 se preveía una gran cantidad de normas.

- [60] La Sra. Omar agradeció al anterior Presidente del CN, Sr. Jan Bart Rossel (Australia), su abnegado servicio.
- [61] Una parte contratante observó los recortes de fondos propuestos para la reunión del CN de mayo de 2017 y agradeció al Canadá que aportara recursos adicionales, además de destacar que no deberían contemplarse recortes para las reuniones del CN en el futuro.
- [62] Otra parte contratante subrayó la necesidad de fortalecer la capacidad ante el aumento del número de normas que se estaban elaborando.
- [63] La CMF:
- 1) *tomó nota* del informe sobre las actividades del Comité de Normas en 2016.

9.2 Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias

- [64] La Secretaría presentó la lista completa de documentos²⁰ correspondientes a este tema del programa. En ellos se presentaban las normas para su aprobación así como los protocolos de diagnóstico que el CN había aprobado en nombre de la CMF. La Secretaría informó a la CMF de que se habían recibido dos objeciones tres semanas antes de la 12.ª reunión de la CMF (2017).
- [65] La Secretaría señaló que la CIPF, a través de la FAO, tiene actualmente ocho acuerdos de coedición, con Alemania, el Brasil, el Japón, la República de Corea, Tailandia, Turquía, Viet Nam y, más recientemente, con la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas. La Secretaría indicó que estos acuerdos también podían realizarse para otros documentos.
- [66] Se resolvió una objeción de algunas partes contratantes sobre el movimiento internacional de vehículos, maquinaria y equipos usados (2006-004) modificando ligeramente el proyecto de norma,²¹ para aclarar que solo se aplicaba a vehículos, maquinaria y equipos usados. Si bien no estaban comprendidos en la norma, se incluyó en la sección de antecedentes una nota sobre el riesgo de contaminación de los vehículos nuevos. La Presidenta de la CMF aclaró que ello no constituía una reformulación del texto sino una clarificación del concepto, que exigía cambios menores, y no sentaba un precedente de reformulación de las normas en la CMF.
- [67] Una parte contratante formuló asimismo una objeción acerca del tratamiento térmico de la madera mediante calentamiento dieléctrico (2007-114), señalando que disponía de nuevas investigaciones que cuestionaban la eficacia del tratamiento, y acordó proporcionar sus conclusiones a la Secretaría dos semanas antes de la reunión de mayo del CN.
- [68] Algunas partes contratantes manifestaron preocupación acerca del movimiento de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar que son objeto de comercio internacional (2005-004), dado que los medios de crecimiento que se mueven en asociación con plantas para plantar y los medios de crecimiento que son objeto de comercio internacional no estaban claramente diferenciados y ello podría provocar problemas para la aplicación.
- [69] Se observó que el CN alentaba a las partes contratantes a intercambiar experiencias en relación con acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador (2005-003).

²⁰ CPM 2017/03 (documentos adjuntos 01-16), CPM 2017 INF/10, INF/12, INF/19 e INF/20 y CRP 01.

²¹ CPM 2017/CRP/09.

- [70] Algunas partes contratantes propusieron cambios técnicos menores en algunos proyectos de normas, que no se discutieron. La Secretaría señaló, no obstante, que se tomaría nota de estas sugerencias y se considerarían cuando se revisara la norma.
- [71] Algunas partes contratantes observaron diferencias en el asesoramiento ofrecido para la aplicación de tratamientos con fluoruro de sulfurilo en los proyectos de NIMF 15 y NIMF 28 y recomendaron que se uniformaran en el futuro.
- [72] Una parte contratante mostró su preocupación por el hecho de que algunos de los tratamientos propuestos tuviesen múltiples plazos y consideró que esto generaba confusión para la aplicación.
- [73] Una parte contratante manifestó su preocupación acerca del uso únicamente de resultados de laboratorio como base para la adopción de decisiones en tratamientos fitosanitarios (TF) y, además, pidió que se elaborasen manuales técnicos para los tratamientos técnicos y alentó a otras partes contratantes a que compartieran sus manuales.
- [74] La Presidenta recordó a la CMF que actualmente estaba abierta una solicitud de TF e instó a las partes contratantes y ORPF a responder a esta solicitud.
- [75] Una parte contratante expresó su preocupación sobre el acceso limitado a los documentos que los grupos técnicos utilizaban como base para las normas y las recomendaciones técnicas. La Presidenta tomó nota de esta preocupación e informó a la CMF que la Mesa examinaría este asunto en su reunión de junio de 2017.
- [76] La CMF:
- 1) aprobó la NIMF 38 sobre *Movimiento internacional de semillas* (2009-003), que figura en el Apéndice 17;
 - 2) aprobó el Anexo 1, *Acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador* (2005-003), de la NIMF 20 (*Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones*), que figura en el Apéndice 17;
 - 3) aprobó la NIMF 39 sobre *Movimiento internacional de madera* (2006-029), que figura en el documento CPM 2017/03_04;
 - 4) aprobó la NIMF 40 sobre *Movimiento de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar que son objeto de comercio internacional* (2005-004), que figura en el Apéndice 17;
 - 5) aprobó la NIMF 41 sobre *Movimiento internacional de vehículos, maquinaria y equipos usados* (2006-004), que figura en el Apéndice 17;
 - 6) aprobó como Anexo 22 de la NIMF 28 el TF 22, Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra insectos en madera descortezada (2007-101A), que figura en el Apéndice 17;
 - 7) aprobó como Anexo 23 de la NIMF 28 el TF 23, Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra nematodos e insectos en madera descortezada (2007-101B), que figura en el Apéndice 17;
 - 8) aprobó como Anexo 24 de la NIMF 28 el TF 24, Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus sinensis* (2007-206A), que figura en el Apéndice 17;
 - 9) aprobó como Anexo 25 de la NIMF 28 el TF 25, Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata x C. sinensis* (2007-206B), que figura en el Apéndice 17;
 - 10) aprobó como Anexo 26 de la NIMF 28 el TF 26, Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus limon* (2007-206C), que figura en el Apéndice 17;
 - 11) aprobó como Anexo 27 de la NIMF 28 el TF 27, Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata* (2007-210), que figura en el Apéndice 17;
 - 12) aprobó como Anexo 28 de la NIMF 28 el TF 28, Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus paradisi* (2007-212), que figura en el Apéndice 17;

- 13) aprobó como Anexo 29 de la NIMF 28 el TF 29, Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus clementina* (2010-102), que figura en el Apéndice 17;
- 14) aprobó como Anexo 30 de la NIMF 28 el TF 30, Tratamiento térmico mediante vapor contra *Ceratitis capitata* en *Mangifera indica* (2010-106), que figura en el Apéndice 17;
- 15) aprobó como Anexo 31 de la NIMF 28 el TF 31, Tratamiento térmico mediante vapor contra *Bactrocera tryoni* en *Mangifera indica* (2010-107), que figura en el Apéndice 17;
- 16) tomó nota de que el CN había aprobado en nombre de la CMF los siguientes diez protocolos de diagnóstico (PD) como anexos de la NIMF 27:
 - 1) PD 13: *Erwinia amylovora*;
 - 2) PD 14: *Xanthomonas fragariae*;
 - 3) PD 15: *Virus de la tristeza de los cítricos*;
 - 4) PD 16: Género *Liriomyza* Mik;
 - 5) PD 17: *Aphelenchoides besseyi*, *A. ritzemabosi* y *A. fragariae*;
 - 6) PD 18: *Anguina* spp. (2013-003);
 - 7) PD 19: *Sorghum halepense* (2006-027);
 - 8) PD 20: *Dendroctonus ponderosae* (2006-019);
 - 9) PD 21: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (2013-001);
 - 10) PD 22: *Fusarium circinatum* (2006-021);
- 17) agradeció las contribuciones de las partes contratantes, ORPF y organizaciones que habían acogido o ayudado a a organizar reuniones de elaboración de normas en 2016: Australia (Grupo de trabajo de expertos sobre el grano), Canadá (Grupo técnico sobre cuarentena forestal [GTCF]), Japón (GTTF), Jamaica (Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico) y la División Mixta FAO/OIEA (Grupo técnico sobre áreas libres de plagas y enfoques de sistemas para las moscas de la fruta);
- 18) agradeció las contribuciones de los miembros del Comité de Normas, en particular los que habían dejado dicho comité en 2016:
 - Argelia, Sra. Nadia HADJERES
 - Canadá, Sra. Marie-Claude FOREST
 - Costa Rica, Sr. Guillermo SIBAJA CHINCHILLA
 - Ghana, Sra. Ruth WOODE
 - Irán, Sra. Maryam Jalili MOGHADAM
 - Nueva Zelanda, Sr. John HEDLEY
 - Noruega, Sra. Hilde Kristin PAULSEN
 - Papúa Nueva Guinea, Sr. Pere KOKOA
 - Polonia, Sr. Piotr WLODARCZYK
 - Sudán, Sr. Kamaleldin Abdelm Mahmoud Amein BAKR
 - Yemen (República del), Sr. Gamil Anwar Mohammed RAMADHAN;

- 19) *agradeció* las contribuciones de los miembros del GTCF indicados, que habían dejado dicho grupo en 2016:
- Alemania, Sr. Thomas SCHRÖDER
 - Brasil, Sr. Edson Tadeu IEDE
 - Chile, Marcos Beéche CISTERNAS
 - Noruega, Sr. Sven Christer MAGNUSSON;
- 20) *agradeció* las contribuciones aportadas por los expertos a título individual, en particular los esfuerzos (se indican las funciones específicas) que estos habían dedicado a la elaboración de las NIMF que aprobadas en la CMF-12 (2017), según figura en el Apéndice 11.

[77] La Presidenta presentó el documento²² elativo a la reorganización, la armonización y las actualizaciones menores de carácter técnico de las NIMF sobre la mosca de la fruta. Se señaló que no se había conseguido alcanzar un acuerdo sobre la reorganización propuesta. El COSAVE se ofreció a dirigir un grupo virtual de trabajo integrado además por Australia, Europa y el Japón encargado de examinar los documentos de la CMF. Este grupo de trabajo debería presentar una propuesta revisada a la Secretaría de la CIPF para el 30 de septiembre de 2017 con vistas a que el CN la debatiera y examinara en su reunión de noviembre de 2017, con el propósito de someter una propuesta revisada al examen de la CMF en su 13.^a reunión. De ser necesario que la propuesta sea examinada por el Grupo técnico sobre áreas libres de plagas y enfoques de sistemas para las moscas de la fruta, se requerirán recursos extrapresupuestarios.

[78] La Secretaría de la CIPF presentó su documento²³ sobre enmiendas a tinta a NIMF aprobadas.

[79] La CMF:

- 1) tomó nota de las enmiendas a tinta a la NIMF 3 (*Directrices para la exportación, el envío, la importación y liberación de agentes de control biológico y otros organismos benéficos*), la NIMF 4 (*Requisitos para el establecimiento de áreas libres de plagas*), la NIMF 8 (*Determinación de la situación de una plaga en un área*), la NIMF 9 (*Directrices para los programas de erradicación de plagas*), la NIMF 11 (*Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias*), la NIMF 14 (*Aplicación de medidas integradas en un enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas*), la NIMF 15 (*Reglamentación del embalaje de madera utilizado en el comercio internacional*), la NIMF 17 (*Notificación de plagas*), la NIMF 24 (*Directrices para la determinación y el reconocimiento de la equivalencia de las medidas fitosanitarias*), la NIMF 29 (*Aplicación de medidas integradas en un enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas*) y la NIMF 30 (*Establecimiento de áreas de baja prevalencia de plagas para moscas de la fruta [Tephritidae]*).
- 2) *tomó nota* de que las enmiendas a tinta, traducidas a los idiomas oficiales de la FAO, se aplicarían en las versiones lingüísticas de las normas pertinentes según lo permitan los recursos;
- 3) *acordó* que, una vez que la Secretaría de la CIPF hubiera aplicado las enmiendas a tinta, las versiones anteriores de las NIMF en cuestión se revocaran y sustituyeran por las nuevas versiones.

²² CPM 2017/19.

²³ CPM 2017/20.

9.3 Temas de las normas de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria: nuevos temas y ajustes en la *Lista de temas de las normas de la CIPF*

- [80] La Secretaría presentó un documento²⁴ en el que se resumían las propuestas de ajustes a la *Lista de temas de las normas de la CIPF*²⁵ aprobada por la CMF, que se puede consultar en el Portal fitosanitario internacional (PFI).
- [81] Algunas partes contratantes no estuvieron de acuerdo en añadir el tema *Medidas fitosanitarias para productos* indicado en su documento²⁶. Se mantuvieron debates, en particular sobre la relación de este tema con las NIMF 32 y 11, la categorización de productos y el ámbito de aplicación y contenido de las normas específicas sobre productos. No se alcanzó un consenso para añadir este tema. La parte contratante que presentó el tema continuará los debates con vistas a su revisión a fin de presentarlo nuevamente en ocasión de la próxima solicitud de temas.
- [82] Una parte contratante propuso que los temas relacionados con los riesgos de plagas que presentaban los pasajeros y la circulación de bienes y paquetes, a través de servicios de correo o similares, deberían ser temas de elevada prioridad. La Presidenta señaló que ello podría constituir una propuesta para la próxima convocatoria de presentación de temas.
- [83] Algunas partes contratantes sugirieron que el tema propuesto, *Utilización de enfoques de sistemas para gestionar riesgos asociados al movimiento de productos de madera* (2005-004), era demasiado amplio, por lo que era preciso incluir requisitos específicos. Las partes contratantes interesadas se reunieron al margen de la CMF y determinaron que estas cuestiones podrían abordarse durante la elaboración de la especificación.
- [84] Algunas partes contratantes expresaron su desilusión por el enfoque contradictorio adoptado por el Comité de Normas en su reunión de noviembre de 2016 a la hora de examinar las propuestas de tres normas sobre productos y propusieron que el Comité de Normas, en colaboración con el CADC, examinara los criterios para los temas antes de la próxima convocatoria para la presentación de temas e instrumentos.
- [85] La CMF:
- 1) *añadió* a la *Lista de temas de las normas de la CIPF* el tema siguiente, con la prioridad y los objetivos estratégicos de la CIPF que se indican:
- 2015-004: *Utilización de enfoques de sistemas para gestionar riesgos asociados al movimiento de productos de madera* (prioridad 3, objetivos estratégicos B y C)
 - 2) *aprobó* la *Lista de temas de las normas de la CIPF* con el ajuste mencionado;
 - 3) *solicitó* a la Secretaría que incorporase el cambio mencionado en la *Lista de temas de las normas de la CIPF* y que publicase esta nueva versión de la misma en el PFI.

9.4 Ajustes realizados en las traducciones de las normas internacionales para medidas fitosanitarias aprobadas en la 11.ª reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias

- [86] En su quinta reunión, celebrada en 2010, la CMF aprobó un procedimiento, basado en la creación de grupos de revisión en los distintos idiomas, para corregir errores de tipo editorial en las traducciones de las NIMF aprobadas. La Secretaría recibió las NIMF aprobadas en la CMF-11 (2016) con las propuestas de modificación de las versiones en árabe, chino, español y francés formuladas por los respectivos grupos de revisión lingüística. La Secretaría remitió dichas propuestas a los servicios de traducción de

²⁴ CPM 2017/17.

²⁵ *Lista de temas de las normas de la CIPF*: <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/list-topics-ippc-standards/>.

²⁶ CPM 2017/INF/10.

la FAO, que examinaron las propuestas de cambios. Las modificaciones propuestas se incorporaron en las NIMF revisadas y se presentaron con marcas de revisión en la CMF-12 (2017).

[87] La Secretaría informó a la CMF de que recientemente se había nombrado a un nuevo coordinador del grupo de revisión lingüística para el ruso.

[88] Se invita a la CMF a:

- 1) *tomar nota* de que los grupos de revisión en árabe, chino y español y los servicios de traducción de la FAO han revisado los siguientes textos:
 - 11) Enmiendas a la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*)
 - 12) NIMF 37 (*Determinación de la condición de una fruta como hospedante de moscas de la fruta [Tephritidae]*);
 - 13) TF 20 (*Tratamiento de irradiación contra Ostrinia nubilalis*) como anexo de la NIMF 28 (*Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas*);
 - 14) TF 21 (*Tratamiento térmico con vapor contra Bactrocera melanotus y Bactrocera xanthodes en Carica papaya*) como anexo de la NIMF 28;
 - 15) PD 7 (*Viroide del tubérculo fusiforme de la papa*) como anexo de la NIMF 27 (*Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas*);
 - 16) PD 8 (*Ditylenchus dipsaci y Ditylenchus destructor*) como anexo de la NIMF 27;
 - 17) PD 9 (*Género Anastrepha Schiner*) como anexo de la NIMF 27.
- 2) *acordar* que, una vez que la Secretaría haya aplicado los cambios señalados con marcas de revisión en los documentos adjuntos 1 a 7 (incluidos en las versiones del presente documento en los idiomas respectivos), la versión anterior de las NIMF en cuestión sea revocada y sustituida por la nueva versión;
- 3) *agradecer* los esfuerzos y el duro trabajo de las partes contratantes y ORPF que participaron en los grupos de revisión en los distintos idiomas, así como de los servicios de traducción de la FAO, con miras a mejorar las versiones de las NIMF en los distintos idiomas.

9.5 Ajuste en el proceso de revisión lingüística

[89] La Secretaría presentó los documentos referentes a los ajustes en el proceso de revisión lingüística²⁷. Señaló que era la primera vez que la CMF debatía sobre esta cuestión. Asimismo se observó que las normas que habían sido revisadas por los grupos en los distintos idiomas interesaban únicamente a las partes contratantes que usaban esos idiomas específicos. Esto significa que, a diferencia de lo que sucede con otros temas del programa de la CMF —en los que todas las partes contratantes contribuyen con sus aportaciones— las cuestiones relacionadas con el ajuste de las traducciones no son pertinentes para las partes contratantes que no usen ese idioma. La Secretaría de la CIPF sugirió que se modificase el proceso de revisión lingüística con objeto de reducir la onerosa labor que supone presentar las normas para que se tome nota de ellas, y permitir que la CMF se centre en las cuestiones en que participan todas las partes contratantes. Las traducciones modificadas ya no se presentarán a la CMF para que tome nota de ellas sino que, en lugar de ello, una vez que se hayan publicado las normas modificadas por los grupos de revisión esto se notificará por correo electrónico a todas las partes contratantes. La CMF seguirá tomando nota de que los grupos han aportado ajustes a la traducción de normas específicas, pero las traducciones propiamente dichas dejarán de adjuntarse al documento de la CMF.

[90] La CMF:

²⁷ CPM 2017/23, CPM 2017/INF/12.

- 1) *aprobó* la modificación del proceso de revisión lingüística (Apéndice 12) y convino en que el proceso modificado entrase en vigor con carácter inmediato.

10. Facilitación de la aplicación

10.1 Informe sobre las actividades de la Unidad de Facilitación de la Aplicación

[91] La Secretaría presentó el informe sobre las actividades de la Unidad de Facilitación de la Aplicación durante 2016²⁸. La Secretaría destacó que la reducción de las contribuciones de donantes al Fondo fiduciario especial de donantes múltiples de la CIPF en 2016 había afectado gravemente al funcionamiento de la Unidad. No obstante, esta había facilitado dos reuniones del CDC, organizado siete reuniones paralelas durante la CMF-11 (2016), facilitado siete talleres regionales de la CIPF y gestionado diversos proyectos. Asimismo, la Unidad de Facilitación de la Aplicación había convocado un grupo especializado que elaboró una propuesta de un nuevo órgano auxiliar sobre aplicación y desarrollo de la capacidad. La Secretaría había organizado cinco talleres de dos semanas de duración cada uno con el fin de formar a un grupo de promotores de la evaluación de la capacidad fitosanitaria, de los cuales 10 asistían a la reunión de la CMF.

[92] Las partes contratantes felicitaron a la Unidad de Facilitación de la Aplicación porque 2016 había sido un año muy productivo e insistieron en la necesidad de disponer de recursos extrapresupuestarios.

[93] La CMF:

- 1) *tomó nota* del informe de la Unidad de Facilitación de la Aplicación relativo 2016.

10.2 Aplicación piloto del proyecto relativo a la vigilancia

[94] La Secretaría de la CIPF presentó su informe²⁹ relativo al proyecto piloto sobre vigilancia indicando que este tenía como objetivo congrega directores de proyectos sobre vigilancia de plagas y expertos en la materia a fin de intercambiar experiencias, debatir sobre retos, exponer buenas prácticas y coordinar la elaboración de productos sobre vigilancia de plagas que revisteran interés y fueran valiosos a escala mundial. La Secretaría informó de los progresos realizados durante 2016, incluida una iniciativa propuesta en la 11.ª reunión de la CMF (2016) con tres ejemplos de plagas sobre los cuales se compilaría información a través de una solicitud de recursos técnicos. Los tres ejemplos de plagas eran los siguientes:

- 18) *Xylella fastidiosa*
- 19) Complejo *Bactrocera dorsalis*
- 20) Hormigas invasoras

[95] Posteriormente, un grupo de trabajo oficioso, con el apoyo de la Comisión de Protección Vegetal para Asia y el Pacífico (APPPC) y la República de Corea, se había reunido los días 11 y 12 de junio de 2016 en Bangkok (Tailandia) con el objetivo de trabajar sobre las tres plagas seleccionadas. La Secretaría informó de que los recursos técnicos reunidos para las tres plagas estaban siendo examinados por el CDC y que se disponía de un resumen analítico sobre la *Xylella fastidiosa* que se había distribuido a la CMF. El proyecto piloto sobre vigilancia tenía como finalidad aprovechar los recursos existentes y los actos relativos a la vigilancia, y trabajar en colaboración con ONPF, ORPF e instituciones asociadas.

[96] La Secretaría informó de que los resultados de las encuestas de 2015 sobre actividades de vigilancia en los países se habían presentado durante los talleres regionales de la CIPF de 2016.

²⁸ CPM 2017/06.

²⁹ CPM 2017/05

[97] Las partes contratantes expresaron su satisfacción con la labor realizada e instaron a contribuir con más recursos para seguir creando capacidad fitosanitaria. La Secretaría atendió a la petición formulada por una parte contratante para que se expusiera con mayor claridad el funcionamiento del proyecto piloto.

[98] La CMF:

- 1) *tomó nota* de los progresos realizados en cuanto al proyecto piloto de aplicación sobre vigilancia;
- 2) *tomó nota* de las hojas informativas sobre los tres ejemplos de plagas y *convino* en divulgar estos documentos así como las nuevas páginas web, en el sitio www.phytosanitary.info;
- 3) *alentó* a las partes contratantes a aportar recursos financieros al proyecto piloto de aplicación sobre vigilancia.

10.3 Sistema de examen y apoyo de la aplicación

[99] La Secretaría presentó el informe del Sistema de examen y apoyo de la aplicación (IRSS)³⁰, en el que se describían las actividades tanto del proyecto piloto de aplicación sobre vigilancia como del programa de trabajo de la Secretaría de la CIPF.

[100] La Secretaría destacó los logros de 2016 y aconsejó que todas las actividades y productos previstos se completasen a tiempo para el final del segundo ciclo del proyecto, el 31 de marzo de 2017. La Secretaría confirmó que tenía la intención de comenzar un tercer ciclo del proyecto en 2017 por un período adicional de tres años y que solicitaría contribuciones de los que hasta ahora habían sido sus donantes así como de otras partes contratantes y organizaciones para continuar el proyecto.

[101] Algunas partes contratantes agradecieron a la Secretaría el informe y solicitaron a las otras partes contratantes que realizaran contribuciones.

[102] La CMF:

- 1) *tomó nota* de las actividades del IRSS en 2016 que contribuirían al éxito del programa de trabajo de la CIPF y el proyecto piloto de aplicación sobre vigilancia;
- 2) *tomó nota* de la intención de la Secretaría de la CIPF de proseguir con la labor del IRSS y de buscar financiación para llevar a cabo un tercer ciclo del proyecto;
- 3) *instó* a las partes contratantes a aportar recursos, y a motivar a otros interesados a que los aportasen, para asegurar la continuación del proyecto del IRSS.

10.4 Informe sobre las obligaciones nacionales de presentación de información

[103] La Secretaría de la CIPF presentó su informe sobre obligaciones nacionales de presentación de información (ONPI)³¹, la descripción general del programa de ONPI³² y un resumen de datos estadísticos desde 2005 hasta 2016³³.

[104] La Secretaría informó de que el Programa de ONPI había contribuido a aumentar el número de los nuevos informes de ONPI publicados por los países en el Portal fitosanitario internacional (PFI) en 2015 y 2016. Las actividades realizadas en 2016 incluían: la publicación de las series de materiales de promoción y sensibilización; la puesta en marcha del sistema de recordatorios de las ONPI en el PFI; la elaboración de programas para cinco módulos de formación en línea sobre las ONPI y la organización de un taller sobre ONPI para países de la región de Asia.

³⁰

https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2017/02/07_CPM_April_Implementation_Review_and_Support_System_IRSS-2017-02-06.pdf.

³¹ CPM 2017/04.

³² CPM 2017/INF/09.

³³ CPM 2017/INF/06.

[105] Además, 2016 había sido el Año de la Notificación de Plagas, y la Secretaría de la CIPF había enviado una carta a todos los puntos oficiales de contacto en la que se les recordaba la importancia de la notificación de plagas. Este año (2017) era el Año de la Legislación Fitosanitaria.

[106] Varias partes contratantes expresaron su reconocimiento y apoyo a las actividades realizadas por la Secretaría. Asimismo consideraban que el sistema de recordatorios, la información actualizada sobre las ONPI y el aprendizaje electrónico previsto eran útiles y les ayudaban a fortalecer su capacidad para elaborar informes.

[107] La CMF:

- 1) *tomó nota* de la información actualizada sobre las actividades relacionadas con las ONPI.

10.5 Situación respecto del registro de la marca prevista en la Norma internacional para medidas fitosanitarias (NIMF) 15

[108] La Secretaría proporcionó un informe³⁴ sobre la situación respecto del registro de la marca prevista en la NIMF 15. En 2016 la Secretaría de la CIPF había iniciado nuevos registros para 17 países. Además la Secretaría señaló que el plan de trabajo para 2017 incluía una cuarta ronda de registros, que, una vez completada, dará por finalizado el plan de trabajo y presupuesto de 350 000 USD acordados para el quinquenio.

[109] Una parte contratante indicó que el registro de la NIMF 15 le permitía armonizar los tratamientos del material para embalajes de madera, por lo que deseaba que la Secretaría de la CIPF continuase con el registro de la marca prevista en la NIMF 15. No obstante, las partes contratantes indicaron que estaban experimentando problemas en relación con la aplicación del registro, destacando que las marcas se estaban utilizando sin reservas y que existían pruebas de marcas falsificadas.

[110] La CMF:

- 1) *tomó nota* de los progresos realizados en 2016 y del plan de trabajo para 2017 con respecto al registro de la marca prevista en la NIMF 15;
- 2) *alentó* a las partes contratantes a apoyar de forma continua el proceso de registro de la marca prevista en la NIMF 15, con inclusión de las renovaciones de los registros que estuviesen a punto de vencer;
- 3) *alentó* a las partes contratantes a reembolsar a la Secretaría de la CIPF los costos del registro y de la renovación de registro tan pronto como les fuera posible.

10.6 Informe sobre ePhyto

[111] La Secretaría informó³⁵ de que había comenzado la labor relativa al proyecto ePhyto gracias a las generosas contribuciones de la República de Corea y los Estados Unidos de América, además de los recursos humanos y financieros facilitados por Canadá. Estos recursos se habían utilizado para establecer un acuerdo de colaboración con el Centro Internacional de Cálculos Electrónicos (CICE) con objeto de comenzar a elaborar las especificaciones técnicas para el nodo y el sistema nacional genérico. Además la Secretaría informó de que se había recibido financiación suficiente (incluida la financiación para el proyecto del Fondo para la aplicación de normas y el fomento del comercio [FANFC]) para crear y experimentar la solución ePhyto y completar el proyecto piloto. Un componente significativo del proyecto era la elaboración de un modelo operativo válido y sólido que respaldase el funcionamiento a largo plazo de la solución. Se preveía que el establecimiento final del modelo destinado a respaldar el funcionamiento tendría lugar después del vencimiento de la financiación del proyecto, lo que

³⁴ CPM 2017/28.

³⁵ CPM 2017/32.

ocasionaría un déficit de financiación en el funcionamiento del sistema. La Presidenta alentó a las partes contratantes a proporcionar recursos para colmar ese déficit.

[112] Una parte contratante informó de que tenía la intención de realizar una contribución al proyecto en 2017, mientras que otras indicaron que era necesaria una mayor armonización y que deseaban aumentar su participación. Varias partes contratantes solicitaron ayuda para aplicar ePhyto. La Presidenta observó que el proyecto contenía elementos de fortalecimiento de la capacidad pero no incluía financiación para el desarrollo de infraestructura por las partes contratantes. Hizo notar asimismo que había varias organizaciones interesadas en ePhyto, por lo que era importante que las partes contratantes recurrieran a ellas para obtener recursos en respaldo del desarrollo de infraestructura. La Secretaría de la CIPF no estaría en condiciones de ayudar a aplicar el proyecto.

[113] Varias partes contratantes expresaron su decepción por la falta de progresos respecto de la elaboración de la solución y alentaron a tratar de cumplir en mayor medida los plazos para el logro de los objetivos del proyecto.

[114] La CMF:

- 1) *tomó nota* de la labor de la Secretaría de la CIPF y el Grupo directivo de ePhyto en la promoción del desarrollo de ePhyto;
- 2) *respaldó* la continuación de la labor de la Secretaría y el Grupo directivo de ePhyto bajo la supervisión de la Mesa de la CMF;
- 3) *reconoció* el apoyo brindado por el Canadá, los Estados Unidos de América y otros Estados miembros del Grupo directivo de ePhyto (Argentina, Australia, Kenya, Países Bajos y República Popular de China) que han realizado contribuciones significativas en la promoción de la solución ePhyto aportando financiación y apoyo técnico;
- 4) *agradeció* las contribuciones de los países propuestos para la participación en el proyecto piloto, ya que este requeriría la aportación de recursos en apoyo de la elaboración, ejecución y evaluación de dicho proyecto;
- 5) *apoyó* la continuación del avance en la ejecución del proyecto ePhyto y, en particular, instó a los países a brindar apoyo financiero al proyecto mediante donaciones destinadas al funcionamiento del nodo y del sistema genérico después del proyecto piloto;
- 6) *solicitó* a la Secretaría que informase en la 13.^a reunión de la CMF sobre los progresos realizados en la ejecución del proyecto de ePhyto.

11. Comunicación y promoción

11.1 Principales actividades en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016

[115] La Secretaría presentó información actualizada sobre sus actividades en materia de comunicación y promoción en 2016³⁶. La creación del Grupo de acción sobre comunicaciones y promoción había contribuido a los esfuerzos de la Secretaría en materia de comunicación, promoción y gestión de información. La labor del Grupo de acción había sido fundamental para lograr una coordinación eficaz y obtener resultados positivos que contribuyeron al tema anual de la CIPF para 2016, a saber, “Sanidad vegetal y seguridad alimentaria”, incluidos un discurso de apertura para la CMF-11, un seminario de la CIPF y un acto paralelo durante el 43.º período de sesiones del CSA, así como la organización de otros dos seminarios de la CIPF, la ayuda brindada al Comité Directivo del Año Internacional de la Sanidad Vegetal (AISV) y un acto paralelo sobre el AISV. Además se habían elaborado 177 noticias y 23 anuncios.

[116] La CMF:

³⁶ CPM 2017/12.

- 1) *tomó nota* del informe de las actividades sobre comunicación y promoción de la Secretaría de la CIPF en 2016.

11.2 Plan de trabajo en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2017

[117] La Secretaría presentó su informe³⁷ sobre las actividades de comunicación y promoción previstas para 2017, señalando que el Grupo de acción sobre comunicaciones y promoción seguiría coordinando las iniciativas internas y externas de comunicación, promoción y gestión de la información. La Secretaría indicó que el año 2017 coincidía con el 65.º aniversario de la CIPF, y que la ratificación de la Convención se celebraría con una serie de actividades de comunicación. Asimismo se señaló que en 2017 se daría prioridad a la contribución para el tema anual (“Sanidad vegetal y facilitación del comercio”), el apoyo continuo al Comité Directivo de la CIPF responsable del Año Internacional de la Sanidad Vegetal (AISV), y la producción puntual de titulares y anuncios.

[118] Las partes contratantes expresaron su agradecimiento por los esfuerzos de la Secretaría en lo que atañe a la comunicación y la promoción, que consideraron útiles y pertinentes.

[119] Las partes contratantes sugirieron posibles mejoras que podrían conseguirse de cara al futuro, por ejemplo, aprovechando las enseñanzas adquiridas de cada año temático (para contribuir a la planificación del AISV); enfocando las actividades de medios sociales al público general, y estableciendo contactos con departamentos de comunicación de otras organizaciones, en particular ORPF, para garantizar mensajes comunes.

[120] La CMF:

- 1) *tomó nota* de las actividades de comunicación y promoción previstas por la Secretaría de la CIPF para 2017;
- 2) *convino en estudiar* formas para apoyar de forma eficaz los esfuerzos de comunicación y promoción de la Secretaría de la CIPF, también con miras a lograr una mayor participación en las actividades propuestas relativas al AISV.

12. Informes sobre la red de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria

12.1 Informe sobre los talleres regionales de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016

[121] La Secretaría informó de que en 2016 se habían celebrado siete talleres regionales de la CIPF³⁸. Un total de 212 personas de 114 países se habían beneficiado de estos talleres. Los participantes recomendaron mejoras, que se habían tenido en cuenta en los diversos talleres celebrados en 2017. Los talleres regionales de la CIPF se habían reestructurado para potenciar la colaboración entre las partes contratantes, las ORPF, las oficinas regionales de la FAO, las instituciones de cooperación y la Secretaría de la CIPF. La Secretaría hizo hincapié en la grave situación financiera para la organización de los talleres regionales de la CIPF de 2017.

[122] Las partes contratantes manifestaron un decidido apoyo a los talleres regionales de la CIPF y exhortaron a que se continuasen organizando estas actividades, recalcando su gran valor informativo y práctico así como su importancia para la creación de capacidad.

[123] La CMF:

- 1) *Tomó nota* de la organización de los talleres regionales de la CIPF celebrados en 2016 y las novedades relacionados con estos.

³⁷ CPM 2017/29.

³⁸ CPM 2017/09.

- 2) *Tomó nota* de las mejoras sugeridas para la organización de los talleres regionales de la CIPF de 2017.
- 3) *Alentó* a las partes contratantes a participar activamente en los talleres regionales de la CIPF de 2017.
- 4) *Alentó* a las partes contratantes y otras instituciones a proporcionar recursos financieros para aumentar la asistencia a los talleres regionales de la CIPF en 2017.

12.2 Informe de la 28.^a Consulta técnica entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria

[124] En su calidad de organizador de la reunión de 2016, el Director Ejecutivo de la Organización de Protección de las Plantas del Cercano Oriente presentó ante la CMF el informe³⁹ de la Consulta técnica entre ORPF.

[125] La Secretaría indicó que era la primera vez que se reunían todas las ORPF junto con las posibles ORPF de la región del Caribe que podrían colaborar en el futuro.

[126] La próxima Consulta técnica se celebraría durante entre el 27 de octubre y el 3 de noviembre de 2017 en París (Francia).

[127] La CMF:

- 1) *tomó nota* del informe.

13. Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020 (AISV 2020)

[128] Se presentó un informe del Comité Directivo para el Año Internacional de la Sanidad Vegetal de la CIPF ante la CMF⁴⁰. Además, se informó a la CMF sobre los grandes hitos de esta iniciativa. Se habían celebrado dos reuniones importantes con los órganos de la FAO para presentar la iniciativa sobre el Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020, con miras a su aprobación. En su 25.º período de sesiones, celebrado en septiembre de 2016, el Comité de Agricultura de la FAO había aprobado la propuesta del Gobierno de Finlandia de establecer el Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020 en el sistema de las Naciones Unidas, y hecho suyo el proyecto de resolución de la Conferencia propuesto por el Comité de Agricultura. La primera reunión del Comité Directivo para el Año Internacional de la Sanidad Vegetal se celebró del 9 al 11 de noviembre de 2016.

[129] Hubo apoyo generalizado de las partes contratantes y las ORPF, que elogiaron la labor realizada por la Secretaría de la CIPF y el Comité Directivo hasta la fecha así como los avances logrados al respecto.

[130] Algunas partes contratantes recordaron a la CMF que la definición del Año Internacional de la Sanidad Vegetal se había aprobado en la CMF-11 y que era importante tenerla en cuenta a la hora de formular programas y organizar actos. Asimismo propusieron que la Secretaría de la CIPF crease un equipo de tareas dedicado a los preparativos del Año Internacional de la Sanidad Vegetal, que entre otras cosas determinaría las necesidades de personal para el año.

[131] Una parte contratante alentó a las demás a que desempeñaran funciones de enlace con sus gobiernos para respaldar el Año Internacional de la Sanidad Vegetal, con el fin de que pudieran iniciarse los preparativos a nivel nacional. La parte contratante destacó asimismo la importancia de elaborar materiales de comunicación en una fase temprana a fin de permitir a las autoridades pertinentes promover sus intereses a nivel interno.

[132] Las partes contratantes y las ORPF formularon diversas propuestas sobre el modo de movilizar recursos y promover la iniciativa, especialmente mediante la sensibilización pública.

³⁹ CPM 2017/INF/02.

⁴⁰ CPM 2017/31.

[133] La Presidenta reiteró que los miembros regionales del Comité Directivo actuaban de coordinadores para que las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) realizaran aportaciones y sugerencias sobre los eventos del programa del Año Internacional de la Sanidad Vegetal en sus países y regiones.

[134] La CMF:

- 1) *tomó nota* del informe de la primera reunión del Comité Directivo para el Año Internacional de la Sanidad Vegetal;
- 2) *aprobó* las realizaciones y los logros previstos para el Año Internacional de la Sanidad Vegetal que figuran en el Apéndice 13;
- 3) *alentó* a las partes contratantes a que hicieran contribuciones extrapresupuestarias para poder realizar actividades de promoción en apoyo del proceso de proclamación del Año Internacional de la Sanidad Vegetal;
- 4) *consideró* la forma en que la Secretaría de la CIPF debería dotarse de recursos de personal que le permitieran prestar asistencia a la planificación y ejecución del Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020;
- 5) *instó* a las partes contratantes a que respaldasen la propuesta de proclamar un Año Internacional de la Sanidad Vegetal para 2020 en el próximo 40.º período de sesiones de la Conferencia de la FAO (3-8 de julio de 2017);
- 6) *invitó* a las partes contratantes a proponer posibles actos y actividades del programa del Año Internacional de la Sanidad Vegetal a sus representantes regionales en el Comité Directivo para el Año Internacional de la Sanidad Vegetal.

14. Cooperación internacional

[135] La Secretaría de la CIPF presentó su informe⁴¹ sobre los aspectos destacados de las actividades y la cooperación con varias organizaciones internacionales, entre ellas, el Codex y otras organizaciones que figuran en el documento.

[136] La CMF expresó su agradecimiento por la cooperación con dichas organizaciones.

14.1 Informes orales de algunas organizaciones internacionales

[137] Las organizaciones internacionales y regionales siguientes presentaron informes orales, a saber:

- la Organización Mundial del Comercio (OMC)⁴². La OMC sigue fomentando la capacidad de las partes contratantes para aplicar la Convención y las NIMF. Se señaló asimismo que el Acuerdo sobre Facilitación del Comercio había entrado en vigor en febrero de 2017 y que contribuiría en gran medida a la facilitación del comercio;
- el Fondo para la Aplicación de Normas y el Fomento del Comercio (FANFC)⁴³. El FANFC sigue colaborando con la Secretaría de la CIPF en cuanto miembro del Grupo de trabajo del FANFC.
- el Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB)⁴⁴. El CDB informó de los resultados de la Conferencia de las Naciones Unidas que había organizado (celebrada en diciembre de 2016), señalando las decisiones sobre las especies exóticas invasivas así como los vínculos y sinergias con la CIPF en tanto convención relacionada con la biodiversidad. La Secretaría de la CIPF instó a las partes contratantes a ponerse en contacto con sus puntos de contacto del CDB y el FMAM a fin de potenciar aún más la aplicación de medidas fitosanitarias relacionadas con la

⁴¹ CPM 2017/30.

⁴² CPM 2017/INF/15.

⁴³ CPM 2017/INF/14.

⁴⁴ CPM 2017/CRP/03.

biodiversidad a nivel nacional. Se observó asimismo que se habían presentado varias peticiones a los miembros del Grupo de Enlace de los Convenios relacionados con la Diversidad Biológica, del que formaba parte la CIPF. Algunas partes interesadas solicitaron información sobre la repercusión que tendría la decisión 13/24 de la Conferencia de las Partes en el CBD sobre los recursos de la Secretaría de la CIPF, y preguntaron si se requeriría una decisión de la CMF al respecto. La Presidenta señaló que esta cuestión iba a examinarse en la reunión de la Mesa que se celebraría en junio.

- el informe de la División Mixta FAO/OIEA de Técnicas Nucleares en la Alimentación y la Agricultura⁴⁵. La FAO y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) seguían respaldando la aplicación de normas, en particular las relativas a las moscas de las frutas, y prestarían apoyo en la reunión del Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios (GTTF) de 2017.

[138] La CMF:

- 1) *tomó nota* de los informes.

14.2 Informes escritos de organizaciones internacionales pertinentes

[139] Las organizaciones internacionales y regionales siguientes presentaron informes o declaraciones por escrito, a saber:

- la Federación Internacional de Semillas⁴⁶, que acogió con beneplácito la aprobación de la norma, ofreció ayuda para la elaboración de material de capacitación para fomentar su aplicación e informó a la CMF de que organizaría un taller para sus miembros;
- el Grupo Internacional de Investigaciones sobre Cuarentena Forestal⁴⁷, que seguía realizando y coordinando la elaboración de normas relacionadas con las actividades forestales. Algunas partes contratantes alentaron al Grupo a asegurar su carácter inclusivo en el plano regional, y señalaron que se proponían participar más en los trabajos del propio Grupo;
- el Grupo de investigación sobre medidas fitosanitarias⁴⁸, que coordina y realiza investigaciones en apoyo de la elaboración de tratamientos fitosanitarios. Se alienta a las partes contratantes a participar en los esfuerzos del Grupo para garantizar la aprobación de los tratamientos fitosanitarios apropiados.

[140] La CMF:

- 1) *tomó nota* de los informes presentados por escrito.

15. Informe financiero y presupuesto

15.1 Informe financiero de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria correspondiente a 2016

[141] La Secretaría presentó el informe, que contenía los estados financieros de los recursos disponibles en 2016 procedentes del presupuesto del Programa ordinario de la FAO y las fuentes de fondos fiduciarios extrapresupuestarios que administró la Secretaría de la CIPF durante el período considerado⁴⁹.

⁴⁵ CPM 2017/INF/07_Rev_01

⁴⁶ CPM 2017/INF/08.

⁴⁷ CPM 2017/CRP/04.

⁴⁸ CPM 2017/CRP/05.

⁴⁹ CPM 2017/27.

- [142] Las partes contratantes expresaron su agradecimiento por la mejora de la presentación de los informes financieros, en particular respecto de la transparencia del Comité de Finanzas, y la Presidenta del Comité destacó que procuraría mejorar su planificación y presentación de informes.
- [143] La CMF agradeció las contribuciones de Australia, Francia, Nueva Zelanda, Irlanda, la República de Corea y los Estados Unidos y la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO) al Fondo fiduciario de la CIPF de donantes múltiples en 2016. La CMF agradeció las contribuciones a los proyectos de la CIPF aportadas por la Unión Europea, el FANFC y China.
- [144] La CMF alentó a otras partes contratantes a establecer una financiación sostenible para la CIPF en sus respectivos países.
- [145] Dos partes contratantes señalaron que los datos sobre sus contribuciones estaban incompletos.
- [146] La CMF agradeció la contribución de 150 000 USD de la República de Corea, con cargo al presupuesto ordinario del Estado, a favor del Fondo fiduciario de donantes múltiples para 2017, que permitía proporcionar una financiación sostenible a la Secretaría de la CIPF. El Canadá también informó a la CMF de que en 2017 estaba aportando una contribución de 202 000 USD al Fondo fiduciario de donantes múltiples.

[147] La CMF:

- 1) *tomó nota* del informe financiero de la Secretaría de la CIPF correspondiente a 2016;
- 2) *aprobó* el informe financiero de 2016 del Fondo fiduciario de la CIPF de donantes múltiples (Fondo fiduciario especial de la CIPF) (Apéndice 14);
- 3) *alentó* a las partes contratantes a aportar contribuciones al Fondo fiduciario de la CIPF de donantes múltiples (Fondo fiduciario especial de la CIPF) y a los proyectos de la Convención, preferentemente de forma continua;
- 4) *dio las gracias* a las partes contratantes que contribuyeron al programa de trabajo de la Secretaría de la CIPF en 2016.

15.2 Plan de trabajo y presupuesto de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria para 2017

- [148] La Secretaría presentó el plan de trabajo y presupuesto⁵⁰.
- [149] La CMF alentó a las partes contratantes a pedir a sus representantes ante la FAO que subrayaran la importancia de la CIPF y de su labor en la Conferencia de la FAO y a solicitar más apoyo financiero.
- [150] La CMF subrayó la importancia de una financiación sostenible para su planificación a largo plazo y para su labor.
- [151] La CMF:
- 1) *aprobó* el plan de trabajo de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) y el presupuesto del Fondo fiduciario de donantes múltiples de la Convención para 2017 (Apéndice 16);
 - 2) *tomó nota* del presupuesto del programa ordinario de la Secretaría de la CIPF para 2017 (Apéndice 16).

⁵⁰ CPM 2017/38.

15.3 Movilización de recursos por parte de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016

[152] La Secretaría presentó el informe⁵¹ sobre movilización de recursos. Entre otras cosas, la Secretaría observó que, a raíz de un análisis exhaustivo de la situación sobre las dificultades de financiación y movilización de recursos, la Secretaría de la CIPF necesitaba urgentemente apoyo financiero a corto y largo plazo para poder llevar a cabo las tareas encomendadas por la CMF. Respecto a la financiación sostenible, 2016 fue un año importante, en que se realizaron progresos sobre los mecanismos y modalidades de financiación a largo plazo propuestos.

[153] La CMF:

- 1) *tomó nota* de la labor sobre movilización de recursos que había llevado a cabo la Secretaría de la CIPF en 2016 y que tenía previsto realizar en 2017;
- 2) *acordó* proseguir el debate estratégico sobre financiación sostenible mediante, por ejemplo, contribuciones continuadas, contribuciones procedentes de la industria y contribuciones generadas mediante la articulación del "valor añadido" de la CIPF en las reuniones del GPE y de la Mesa, e informar al respecto en la CMF-13, en 2018.

16. Dificultades conceptuales en la elaboración de normas con respecto a la aplicación

[154] La Secretaría observó que el había examinado el concepto de sistemas de certificación de cumplimiento y la utilización de un certificado de cumplimiento por parte de las ONPF, así como situaciones en las que se podría aplicar tal concepto, por ejemplo como alternativa a un certificado fitosanitario⁵².

[155] Se formó un pequeño grupo para debatir la cuestión, en cuyo informe se indicó luego que algunas partes contratantes temían que la introducción de un sistema de certificación adicional pudiera crear confusión y problemas en el comercio⁵³. Además, un nuevo sistema de certificación podría añadir complejidad a los sistemas nacionales elaborados recientemente y causar dificultades para ePhyto.

[156] La Presidenta indicó que, aunque la CMF no consideraba que este sistema de certificación debiera elaborarse en la actualidad, podría considerarse apropiado más adelante y usarse cuando así se acordara bilateralmente.

[157] La CMF:

- 1) *decidió* no aprobar nuevos trabajos sobre el concepto de la utilización de los certificados de cumplimiento de las NIMF.

17. Éxitos y dificultades con respecto a la aplicación de la Convención

[158] Se invitó a las partes contratantes a compartir sus éxitos y dificultades con respecto a la aplicación de la CIPF y las NIMF⁵⁴.

[159] Realizaron exposiciones China, el Japón, la Unión Europea, el Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur (COSAVE) y Nueva Zelanda⁵⁵.

[160] Antes de la apertura de la sesión sobre temas especiales, la Presidenta reflexionó sobre el fallecimiento de miembros de la comunidad fitosanitaria y guardó un minuto de silencio en memoria de esas personas.

⁵¹ CPM 2017/25.

⁵² CPM 2017/18.

⁵³ CPM 2017/INF/10.

⁵⁴ CPM 2017/16.

⁵⁵ CPM 2017/INF/16.

18. Sesión sobre temas especiales: comercio electrónico

[161] Se celebró una sesión sobre temas especiales acerca de la cuestión del comercio electrónico. Realizaron presentaciones⁵⁶ representantes de las ONPF, las organizaciones internacionales pertinentes y las partes interesadas que intervenían en el comercio electrónico. Entre ellas se incluían: Marième Fall (OMC); Michele Medina (OMA); Junko Shimura (CDB); Sarah Brunel (Secretaría de la CIPF); Carlos Grau Tanner (Global Express Association); Mike Carlson (eBay Regulatory Policy Group); Kim Ritman (Australia); y Hong-Sook Park (República de Corea). Tras los debates, se presentaron varias propuestas formuladas por organizaciones internacionales, ONPF y empresas de transporte rápido. Dichas propuestas tenían que ver con medidas relativas al comercio electrónico de empresa a consumidor final y de empresa a gobierno, además de medidas de sensibilización.

[162] La CMF:

- 1) *pidió* a la Mesa que determinase el camino a seguir en la reunión de junio de 2017, con inclusión de consideraciones sobre los recursos.

19. Confirmación de la composición de los órganos auxiliares de la Comisión de Medidas Fitosanitarias y posibles sustituciones en los mismos

19.1 Miembros de la Mesa de la Comisión de Medidas Fitosanitarias y posibles sustitutos de los miembros

[163] La Secretaría presentó a la CMF la lista de miembros de la Mesa y sus posibles sustitutos⁵⁷ con los ajustes realizados durante la reunión de la Comisión⁵⁸.

[164] Un representante del Sudán pidió a la CMF que hiciera constar su objeción al nombramiento del actual Representante del Cercano Oriente en la Mesa.

[165] La CMF:

- 1) *tomó nota* de la composición de la Mesa en ese momento y los posibles sustitutos de los miembros (Apéndice 15)
- 2) *eligió* a un sustituto del miembro de la Mesa de la CMF procedente de la región de Europa.

19.2 Miembros del Comité de Normas y posibles sustitutos de los miembros

[166] La Secretaría presentó a la CMF la lista de miembros del CN y sus posibles sustitutos⁵⁹ con los ajustes realizados durante la reunión de la Comisión⁶⁰.

[167] La CMF:

- 1) *tomó nota* de la composición del Comité de Normas en ese momento y de las posibles sustituciones en dicho Comité;
- 2) *confirmó* a los nuevos miembros y posibles sustitutos(15)
- 3) *confirmó* el orden en el que se irían incorporando los posibles sustitutos de cada región.

⁵⁶ CPM 2017/10.

⁵⁷ CPM 2017/14.

⁵⁸ CPM 2017/CRP/10.

⁵⁹ CPM 2017/13.

⁶⁰ CPM 2017/CRP/10.

19.3 Miembros del Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias y posibles sustitutos de los miembros

[168] La Secretaría presentó a la CMF la lista de miembros del CN y sus posibles sustitutos⁶¹ con los ajustes realizados durante la reunión de la Comisión⁶².

[169] La CMF:

- 1) *tomó nota* de la composición que en ese momento tenía el Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias⁶³ (Apéndice 15);
- 2) *confirmó* a los nuevos miembros y posibles sustitutos,.

20. Otros asuntos

[170] La CMF agradeció a la República de Corea la cálida acogida y la excelente organización de su 12.^a reunión. Asimismo expresó su gran aprecio por la enorme contribución financiera que la República de Corea había aportado para esta reunión.

[171] Numerosos miembros hicieron uso de la palabra para agradecer a la República de Corea el haber patrocinado la CMF-12 y logrado que fuera exitosa y fructífera, así como su aporte a la sensibilización sobre la función y el papel que desempeñaba la CMF. Una parte contratante pidió que la Secretaría de la CIPF investigara las modalidades para que otras partes contratantes hospedaran reuniones de la CMF.

21. Fecha y lugar de la siguiente reunión

[172] Se estableció que la 13.^a reunión de la CMF (2018) tendría lugar del 16 al 20 de abril de 2018 en la Sede de la FAO en Roma (Italia).

22. Aprobación del informe

[173] Se aprobó el informe de la reunión.

⁶¹ CPM 2017/13.

⁶² CPM 2017/CRP/10.

⁶³ CPM 2017/13.

Apéndice 01: Agenda

- 1. Apertura de la reunión**
 - 1.1 Declaración de apertura de la FAO
 - 1.2 Declaración de apertura de la República de Corea
- 2. Discurso principal: Sanidad vegetal y facilitación del comercio**
- 3. Aprobación del programa**
 - 3.1 Declaración de competencias presentada por la Unión Europea
- 4. Elección del Relator**
- 5. Establecimiento del Comité de Credenciales**
- 6. Informe del Presidente de la Comisión de Medidas Fitosanitarias**
- 7. Informe de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria**
- 8. Gobernanza**
 - 8.1 Resumen del informe del Grupo sobre planificación estratégica
 - 8.2 Marco estratégico para 2020-2030
 - 8.3 Financiación sostenible
 - 8.4 Cuestiones incipientes
 - 8.5 Asociaciones estratégicas
 - 8.6 Contenedores marítimos: Plan de acción complementario
 - 8.7 Enmiendas a tinta en recomendaciones de la Comisión de Medidas Fitosanitarias
 - 8.8 Ajustes en el Reglamento de la Consulta técnica entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria
 - 8.9 Marco para las normas y la aplicación
 - 8.10 Propuesta de establecimiento de un nuevo órgano de supervisión de la aplicación
- 9. Establecimiento de normas**
 - 9.1 Informe sobre las actividades del Comité de Normas
 - 9.2 Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias
 - 9.3 Temas de las normas de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria: nuevos temas y ajustes en la *Lista de temas de las normas de la CIPF*
 - 9.4 Ajustes realizados en las traducciones de las normas internacionales para medidas fitosanitarias aprobadas en la 11.^a reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias
 - 9.5 Ajuste en el proceso de revisión lingüística

- 10. Facilitación de la aplicación**
 - 10.1 Informe sobre las actividades de la Unidad de Facilitación de la Aplicación
 - 10.2 Aplicación piloto del proyecto relativo a la vigilancia
 - 10.3 Sistema de examen y apoyo de la aplicación
 - 10.4 Informe sobre las obligaciones nacionales de presentación de información
 - 10.5 Situación respecto del registro de la marca prevista en la Norma internacional para medidas fitosanitarias (NIMF) 15
 - 10.6 Informe sobre ePhyto
- 11. Comunicación y promoción**
 - 11.1 Principales actividades en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016
 - 11.2 Plan de trabajo en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2017
- 12. Informes sobre la red de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria**
 - 12.1 Informe sobre los talleres regionales de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016
 - 12.2 Informe de la 28.^a Consulta técnica entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria
- 13. Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020 (AISV 2020)**
- 14. Cooperación internacional**
 - 14.1 Informes orales de algunas organizaciones internacionales
 - 14.2 Informes escritos de organizaciones internacionales pertinentes
- 15. Informe financiero y presupuesto**
 - 15.1 Informe financiero de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria correspondiente a 2016
 - 15.2 Plan de trabajo y presupuesto de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria para 2017
 - 15.3 Movilización de recursos por parte de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016
- 16. Dificultades conceptuales en la elaboración de normas con respecto a la aplicación**
- 17. Éxitos y dificultades con respecto a la aplicación de la Convención**
- 18. Sesión sobre temas especiales: comercio electrónico**

- 19. Confirmación de la composición de los órganos auxiliares de la Comisión de Medidas Fitosanitarias y posibles sustituciones en los mismos**
 - 19.1 Miembros de la Mesa de la Comisión de Medidas Fitosanitarias y posibles sustitutos de los miembros
 - 19.2 Miembros del Comité de Normas y posibles sustitutos de los miembros
 - 19.3 Miembros del Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias y posibles sustitutos de los miembros
- 20. Otros asuntos**
- 21. Fecha y lugar de la siguiente reunión**
- 22. Aprobación del informe**

Apéndice 02: Lista de documentos

Número del documento	Tema del programa	Título del documento	Idiomas disponibles
CPM 2017/01	03	Programa provisional	EN/FR/ES/RU/AR/
CPM 2017/02/Rev_01	03	Programa detallado	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/03	09.2	Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/04	10.4	Informe sobre las obligaciones nacionales de presentación de información	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/05	10.2	Proyecto piloto de aplicación sobre vigilancia	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/06	10.1	Informe sobre las actividades de la Unidad de Facilitación de la Aplicación	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/07	10.3	Sistema de examen y apoyo de la aplicación (IRSS)	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/08	08.10	Propuesta de establecimiento de un nuevo órgano de supervisión de la aplicación - Conclusiones del Grupo especializado y consideración del Grupo sobre planificación estratégica (GPE) y la Mesa	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/09	12.1	Informe sobre los talleres regionales de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) en 2016	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/10	18	Sesión sobre temas especiales: comercio electrónico	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/11/Rev_01	08.8	Adjustments to the TC-RPPO rules of procedure – Funciones y atribuciones de las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) en su relación con la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF)	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/12	11.1	Principales actividades en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/13	19.2; 19.3	Miembros y posibles sustitutos del Comité de Normas, así como del Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias (OASD)	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/14	19.1	Miembros de la Mesa de la CMF y posibles sustitutos de los miembros	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/15/Rev_01	08.7	Enmiendas a tinta en recomendaciones de la CMF	EN/FR/ES/RU/AR/ZH

Número del documento	Tema del programa	Título del documento	Idiomas disponibles
CPM 2017/16	17	Éxitos y dificultades con respecto a la aplicación de la Convención	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/17	09.3	Temas de las normas de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria: nuevos temas y ajustes en la <i>Lista de temas de las normas de la CIPF</i>	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/18	16	Dificultades conceptuales en la elaboración de normas con respecto a la aplicación: documento de debate sobre la utilización de un certificado de cumplimiento	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/19	09.2	Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias: reorganización, armonización y actualizaciones menores de carácter técnico de las NIMPF sobre la mosca de la fruta	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/20	09.2	Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias: enmiendas a tinta a NIMF aprobadas	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/21	09.4	Ajustes realizados en las traducciones de las normas internacionales para medidas fitosanitarias aprobadas en la 11.ª reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/22/Rev_01	09.1	Informe sobre las actividades del Comité de Normas	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/23	09.5	Ajuste en el proceso de revisión lingüística	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/24	08.2	Marco estratégico para 2020-2030	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/25	15.3	Mobilización de recursos por parte de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en 2016	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/26	08.3	Financiación sostenible: mecanismos de financiación sostenible para el programa de trabajo de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/27	15.1	Informe financiero de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria correspondiente a 2016	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/28	10.5	Situación respecto del registro de la marca prevista en la Norma internacional para medidas fitosanitarias (NIMF) 15	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/29	11.2	Plan de trabajo en materia de comunicación y promoción de la Secretaría de la CIPF en 2017	EN/FR/ES/RU/AR/ZH

Número del documento	Tema del programa	Título del documento	Idiomas disponibles
		Resumen de las actividades de comunicación y promoción previstas por la Secretaría de la CIPF para 2017	
CPM 2017/30	14	Cooperación Internacional: Cooperación de la Secretaría de la CIPF con organizaciones pertinentes	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/31	13	Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020 (AISV 2020): Informe sobre las actividades relacionadas con el Año Internacional de la Sanidad Vegetal en 2020	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/32	10.6	Informe sobre ePhyto: Información actualizada sobre ePhyto	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/33	07	Informe de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria correspondiente a 2016	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/34	08.6	Contenedores marítimos: Plan de acción complementario	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/35	08.4	Cuestiones incipientes	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/36	08.9	Marco para las normas y la aplicación Aprobación del Marco para las normas y la aplicación	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/37	08.5	Asociaciones estratégicas	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/38	15.2	Plan de trabajo y presupuesto de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria para 2017	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/39	08.1	Resumen del informe del Grupo sobre planificación estratégica	EN/FR/ES/RU/AR/ZH
CPM 2017/40	06	Informe de la Presidenta de la Comisión de Medidas Fitosanitarias	EN/FR/ES/RU/AR/ZH

Information Papers (INF)

Document number	Agenda item	Document Title	Available Languages
CPM 2017/INF/01	03	Local Information	EN only
CPM 2017/INF/02	12.2	Summary Report of the Twenty-eighth Technical Consultation among Regional Plant Protection Organizations	EN only
CPM 2017/INF/03	20	Any Other Business - Due dates for the CPM-12	EN only

Document number	Agenda item	Document Title	Available Languages
CPM 2017/INF/04	20	Any Other Business - Exhibition Prospectus	EN only
CPM 2017/INF/05	08.6	Sea containers - Complementary Action Plan - Joint Industry Container Cleanliness Guidelines	EN only
CPM 2017/INF/06	10.4	Report on National Reporting Obligations (NRO) - National Reporting Statistical Data	EN only
CPM 2017/INF/07	14.2	Written reports from international organizations - Report from the Joint Food and Agriculture Organization / International Atomic Energy Agency Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture	EN only
CPM 2017/INF/08	14.2	Written reports from relevant international organizations - Report by the International Seed Federation	EN only
CPM 2017/INF/09	10.4	Panorama general del Programa de obligaciones de presentación de informes nacionales	
CPM 2017/INF/10	08.10; 09.2; 09.3; 16	Statements from COSAVE and its member countries regarding various CPM agenda items	EN only
CPM 2017/INF/11	09.2	Adoption of ISPMs - EU written statement on reorganization, harmonization and minor technical updates of the fruit fly ISPMs	EN only
CPM 2017/INF/12	8.3; 8.5; 8.7; 8.10; 9.5	EU written statements on various agenda items	EN only
CPM 2017/INF/13	08.2	IPPC Draft Strategic Framework 2020-2030 - Aligning IPPC's Future Work to its Core Competency	EN only
CPM 2017/INF/14	14.2	Written reports from relevant international organizations - Standards and Trade Development Facility (STDF) Overview	EN only
CPM 2017/INF/15	14.2	Written reports from relevant international organizations - WTO Report 2016	EN only
CPM 2017/INF/16	17	Successes and Challenges of Implementation of the Convention	EN only
CPM 2017/INF/17	03.1	EU statement of competence	EN only

Document number	Agenda item	Document Title	Available Languages
CPM 2017/INF/18	20	Any Other Business - CPM-12 side sessions	EN only
CPM 2017/INF/19	09.2	Adoption of International Standards for Phytosanitary Measures - Objections to draft ISPMs presented for adoption by CPM-12 (2017)	EN only
CPM 2017/INF/20	09.2	Adoption of International Standards for Phytosanitary Measures - China's comments to draft ISPMs presented for adoption by CPM-12 (2017)	EN only

Conference room papers (CRP)

Document number	Agenda item	Document Title	Available Languages
CPM 2017/CRP/01	03	List of documents	EN only
CPM 2017/CRP/02	08.6	Sea containers - Complementary Action Plan - Positive Action to Address Potential Risks of the Spread of Pests Associated with Shipping Containers	EN only
CPM 2017/CRP/03	14.2	Written reports from relevant international organizations - Report from the Secretariat of the Convention on Biological Diversity	EN only
CPM 2017/CRP/04	14.2	Written reports from relevant international organizations - International Forestry Quarantine Research Group Report	EN only
CPM 2017/CRP/05	14.2	Written reports from international organizations - Report from the Phytosanitary Measures Research Group (PMRG) activities for 2016	EN only
CPM 2017/CRP/06	09.3	Topics for IPPC Standards - New topics and adjustments to the List of topics for IPPC standards - Key IPPC terms in need of TPG review and attention	EN only
CPM 2017/CRP/07	18	Special Topics Session: e-Commerce - Internet Trade (e-commerce) of plants	EN only

Document number	Agenda item	Document Title	Available Languages
CPM 2017/CRP/08	08.10	Proposal for a new implementation oversight body - Outcomes of the Focus Group and SPG and Bureau consideration	EN only
CPM 2017/CRP/09	09.2	Adoption of International Standards for Phytosanitary Measures	EN only
CPM 2017/CRP/10	19; 19.1; 19.2; 19.3	Confirmation of Membership and Potential Replacements members for CPM Subsidiary Bodies - CPM Bureau members and potential replacement members - SC members and potential replacement members - SBDS members and potential replacement members	EN only

Apéndice 03: Lista de participantes**MEMBER COUNTRIES (CONTRACTING PARTIES)****PAYS MEMBRES (PARTIES CONTRACTANTES)****PAÍSES MIEMBROS (PARTES CONTRATANTES)****AFGHANISTAN - AFGANISTÁN**

Representative

Mr Mohammad Iqbal KARIMI
Acting Director for Plant Protection
and Quarantine Directorate (PPQD)
Phone: (+93)780357291
Email: iqbal.karimi@mail.gov.af
Iqbal_karimi99@yahoo.com

ARGENTINA - ARGENTINE

Representante

Mr Ezequiel FERRO
Técnico Referente de Temas
Phone: (+54) 11 4121 5091
Email: eferro@senasa.gov.ar

Suplente(s)

Mr Diego QUIROGA
Director Nacional de Protección
Vegetal
Phone: (+54) 11 4121 5176
Email: dquiroga@senasa.gov.ar

Mr Guillermo ROSSI
Vicepresidente de Senasa
Email: grossi@senasa.gov.ar

ARMENIA - ARMÉNIE

Representative

Mr Karen BADALYAN
Head of "Zvartnots" Airport Border
Inspection Point of the Service

AUSTRALIA - AUSTRALIE

Representative

Mr Kim RITMAN
Australian Chief Plant Protection
Officer

Alternate(s)

Mr Bruce HANCOCKS
Assistant Director, Plant Health
Policy

Ms Jemma MARTIN
Australian Counsellor (Agriculture)
Republic of Korea

Ms Lois RANSOM
Assistant Secretary, Plant Import
Operations

Observers

Ms Gabrielle VIVIAN-SMITH
Chief Plant Health Officer
Phone: (+82) 392174309, 0428 699
979
Email: gabrielle.vivian-
smith@ecodev.vic.gov.au

DEMOCRATIC REPUBLIC OF THE CONGO - RÉPUBLIQUE DÉMOCRATIQUE DU CONGO - REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

Représentant

Mr Damas MAMBA MAMBA
Chef de Division de la Protection des
Végétaux
Point de Contact Officiel de la CIPV

Suppléant(s)

Mr Justin CISHUGI MURHULA
Inspecteur Semencier au SENASEM
Ministère de l'Agriculture, Pêche et
Elevage
Phone: (+243) 998264227
Email: jcishugim@gmail.com

Mr Moise MANYEBE ESANGELA
Adviser to the Cabinet of the Minister
of Agriculture
Email: moisemanyabe@gmail.com

Alternate(s)
Mr Sonam DORJI
Regulatory and Quarantine Officer
Phone: (+975) 32 5790/32 5993
Email: sdorjin@moaf.gov.bt

BANGLADESH

Representative
Mr Md. Anwar HOSSAIN KHAN
Deputy Director (Export)
Email: anwarhk60@live.com

BOTSWANA

Representative
Mr Hendrick MODIAKGOTLA
Email: hmodiakgotla@gov.bw

GAMBIA - GAMBIE

Representative
Mr Landing SONKO
Deputy Director Plant Protection
Services
Phone: (+22) 07285783 (+22)
09964003
Email: sonkokebba@gmail.com

Alternate(s)
Mr Esaiiah Chetane TJELELE
Programme Office: Crops
Development (Cereals)
Email: etjelele@sadc.int

BRAZIL - BRÉSIL - BRASIL

Representative
Mr Marcus Vinícius SEGURADO
COELHO
Phone: (+61) 32182716; (+61)
32182675

BELGIUM - BELGIQUE - BÉLGICA

Représentant
Mr Lieven VAN HERZELE
Conseiller, Federal Public Service of
Public Health
Phone: (+32) 025247323 (+32)
025247349
Email:
lieven.vanherzele@gezondheid.belgie
.be

Alternate(s)
Mr Carlos GOULART
Auditor Fiscal Federal Agropecuário
Phone: (+61) 3218-2694 (+61) 3218-
2779

BELIZE - BELICE

Representative
Mr Francisco Adrian GUTIEREZ
Phone: (+501) 6040319
Email:
francisco.gutierrez@baha.org.bz

Mr Jesulindo NERY DE SOUZA
JUNIOR
Assistente Técnico

Ms Adriana Pereira PINTO HOMEM
First Secretary
Phone: (+82) 2 738 4970 R109
Email:
adriana.pereira@itamaraty.gov.br

BHUTAN - BHOUTAN - BHUTÁN

Representative
Mr Namgay WANGCHUK
Director General/ IPPC Official
Contact Point
Phone: (+975) 2327031
Email: nwangchuk@moaf.gov.bt

BULGARIA - BULGARIE

Representative

Ms Mariya Georgieva TOMALIEVA
 Chief expert, Plant Protection &
 Quality Control of Fresh Fruits and
 Vegetables Directorate, Bulgarian
 Food Safety Agency
 Phone: +359 2 9173739
 Email: m.tomalieva@bfsa.bg;
 fsk@bfsa.bg

BURKINA FASO

Representative

Ms Mariam Damoue SOME
 Ingénieur d'Agriculture
 Chargée du Contrôle Phytosanitaire à
 la Direction Générale des Productions
 Végétales (DGPV) au Ministère de
 l'Agriculture et des Aménagements
 Hydrauliques
 Phone : (+226) 25361915, (+226)
 70278524
 Email: mariamsome@yahoo.fr

CABO VERDE

Représentant

Ms Carla Helena MARQUES
 TAVARES
 Cadre Supérieur des Services
 National de la Protection des
 Végétaux
 Email: carla.h.tavares@mdr.gov.cv

CAMBODIA - CAMBODGE - CAMBOYA

Representative

Mr Op PICH
 Deputy Director
 Department of Plant Protection
 Sanitary and Phytosanitary, General
 Directorate of Agriculture
 Phone: (+855) 12817152
 Email: oppich1970@gmail.com

CAMEROON - CAMEROUN - CAMERÚN

Représentant

M Medi MOUNGUI
 Conseiller et Représentant Permanent
 Suppléant du Cameroun auprès de la
 FAO, Ambassade du Cameroun en
 Italie

Suppléant(s)

M Edouard NYA
 Inspecteur Phytosanitaire en Service à
 la Direction de la Réglementation et
 du Contrôle de Qualité des Intrants et
 Produits Agricole
 Email: nyaedourd@yahoo.fr

CANADA - CANADÁ

Representative

Ms Darlene BLAIR
 Chief Plant Health Officer
 Director, Plant Protection Division
 Phone: (+1) 6137737116
 Email: darlene.blair@inspection.gc.ca

Alternate(s)

Ms Reem BARAKAT
 Deputy Director
 Phone: (+1) 613-773-5658
 Email:
 reem.barakat@inspection.gc.ca

Ms Marie-Claude FOREST
 Adviser / Alternative Head of
 Delegation
 National Manager and International
 Standards Adviser,
 Phone: (+1) 613-773-7235
 Email: marie-
 claudette.forest@inspection.gc.ca

Mr Dominique PELLETIER
 International Plant Standards Officer
 Phone: (+1) 6137736492
 Email:
 dominique.pelletier@inspection.gc.ca

**CENTRAL AFRICAN REPUBLIC -
RÉPUBLIQUE CENTRAFRICAINE -
REPÚBLICA CENTROAFRICANA**

Représentant

Mr Jean-Benoît MBORHOUL
Ingénieur Agronome Entomologiste
Phone: (+236) 75545298
Email: jbmborhoul@yahoo.fr

CHAD - TCHAD

Représentant

Mr Abdoulaye MOUSSA
ABDERAMAN
Directeur de la Protection des
Végétaux et du Conditionnement
Phone: (+235)
66325252/99325252/22524509
Email: charafa2009@gmail.com

CHILE - CHILI

Representante

Mr Marco MUNOZ FENZALIDA
Phone: (+56) 223451201, (+56)
993263535
Email: marco.munoz@sag.gob.cl

Suplente(s)

Mr Rodrigo ASTETE ROCHA
Phone: (+56) 223451201 (+56)
998727706
Email: rodrigo.astete@sag.gob.cl

CHINA - CHINE

Representative

Mr Youquan CHEN
Deputy Director-General
Phone: (+86) 10 59191451
Email: ippc@agri.gov.cn

Alternate(s)

Mr Xiaodong FENG
Deputy Director
Phone: (+86) 10 59194524
Email: fengxdong@agri.gov.cn

Mr Fei Lek KUOK
Director
Phone: (+853) 66506559
Email: flkuok@iacm.gov.mo

Mr Clive Siu-Ki LAU
Senior Agricultural Officer
Agriculture, Fisheries and
Conservation Department, the
Government of the Hong Kong
Special Administrative Region, P.R.
China
Phone: (+85) 2 21507039
Email: clive_sk_lau@afcd.gov.hk

Mr Minghui NING
Director
Phone: (+86) 10 59193348
Email: ippc@agri.gov.cn

Mr Jianghua SUN
Principal Investigator
Phone: (+86) 1064807121
Email: sunjh@ioz.ac.cn

Ms Shuangyan SUN
Deputy Professor
Phone: +86 10 84603965
Email: sunshyan2008@163.com

Mr Yan YAN
Deputy Consultant
Phone: (+86) 10 59193228
Email: yanyan@agri.gov.cn

Mr Chaohua ZHANG
Deputy Director General
Phone: (+86) 10 82261918
Email: anquanchu_aqsiq@126.com

COLOMBIA - COLOMBIE

Representante

Mr Luis Felipe QUINTERO
SUAREZ
Consejero Económico y Comercial
Phone: (+82) 2 72013691
Email:
luis.quintero@cancilleria.gov.co

COMOROS - COMORES - COMORAS

Représentant

Mr Ahamada DJOUBEIRE
 Technicien de l'Institut National de
 Recherche pour l'Agriculture, Pêche
 et Environnement (INRAPE)
 Phone: (+269) 3340371
 Email: djoubeireahamada@yahoo.fr

CONGO

Représentant

Ms Alphonsine LOUHOARI
 TOKOZABA
 Chef de service de la protection des
 végétaux
 Phone: (+242) 040055705, (+242)
 010465361
 Email: louhouari@yahoo.fr

**COOK ISLANDS - ÎLES COOK - ISLAS
COOK**

Mr Ngatoko TA
 Director of Biosecurity Service and
 NPPO Contact Point
 Phone: + (682) -28711
 Email: nngatoko@agriculture.gov.ck

COSTA RICA

Representante

Mr Marco Vinicio JIMENEZ SALAS
 Director Ejecutivo
 Phone: 25493563
 Email: mvjimenez@sfe.go.cr

Suplente(s)

Mr David Yifong LI FANG
 Ministro Consejero

CZECHIA - TCHÉQUIE - CHEQUIA

Representative

Mr Kvetoslav SULEK
 Czech Embassy in Korea
 Phone: (+82) 2 725 6763
 Email: kvetoslav_sulek@mzv_cz

DENMARK - DANEMARK - DINAMARCA

Representative

Mr Ebbe NORDBO
 Head of Section
 Phone: (+45) 33958000
 Email: eno@lfst.dk

Alternate(s)

Ms Lisa KJAERGAARD
 STEFFENSEN
 Head of Section

DOMINICA - DOMINIQUE

Representative

Mr Ryan ANSELM
 Technical Officer
 Head of Plant Protection and
 Quarantine Service
 Phone: (+1767) 2663814
 Email: agriculture@dominica.gov.dm

ECUADOR - ÉQUATEUR

Suplente(s)

Mr Patricio ALMEIDA
 Plant Health General Coordinator

Mr Christian ANCHALUISA
 Consul of Ecuador

Ms Mónica GALLO
 Directora de Vigilancia y Control
 Fitosanitario

Ms Ha HA SEUNG-YEON
 Interpreteur

Mr Oscar HERRERA
 Ambassador of Ecuador in the
 Republic of Korea

Mr Marcelo PAZOS
 Commercial Counselor of Ecuador in
 Korea

EGYPT - ÉGYPTÉ - EGIPTO

Representative

Shaza OMAR
Email: shaza.roshdy@gmail.com

EL SALVADOR

Representante

Mr Douglas Ernesto ESCOBAR
VÁSQUEZ
Director General del Sanidad Vegetal
Phone: (+503) 22020835
Email: douglas.escobar@mag.gob.sv

ERITREA - ÉRYTHRÉE

Representative

Mr Tekleab MESGHENA KETEMA
Director General
Phone: (+291) 11230395, (+291)
7117867
Email: tekleabketema@gmail.com

ESTONIA - ESTONIE

Representative

Ms Olga LAVRENTJEVA
Adviser
Phone: (+372) 625 6535
Email: olga.lavrentjeva@agri.ee

Alternate(s)

Ms Anette SEPP
Chief Specialist
Phone: (+372) 625 6139
Email: anette.sepp@agri.ee

ETHIOPIA - ÉTHIOPIE - ETIOPÍA

Representative

Mr Weldehawariat Assefa FESSEHA
General Director, Plant Health and
Regulatory Directorate General
Phone: +251116462417
Email: hapruassefa2@gmail.com

EUROPEAN UNION (MEMBER ORGANIZATION) - UNION EUROPÉENNE (ORGANISATION MEMBRE) - UNIÓN EUROPEA (ORGANIZACIÓN MIEMBRO)

Representative

Mr Harry ARIJS
Deputy Head of Unit
Phone: (+32) 02 2987645
Email: harry.arijs@ec.europa.eu

Alternate(s)

Mr Roman VAGNER
Plant Health Administrator
Phone: (+32) 02 2959664
Email: roman.vagner@ec.europa.eu

FIJI - FIDJI

Representative

Nitesh DATT
Chief Plant Protection Officer
Biosecurity Authority of Fiji

FINLAND - FINLANDE - FINLANDIA

Representative

Mr Ralf LOPIAN
Senior Advisor of Food Department
Phone: (+358) 295 16 2329
Email: ralf.lopian@mmm.fi

FRANCE - FRANCIA

Représentant

Mr Alain TRIDON
Sous-directeur de la qualité, de la
santé et de la protection des végétaux

Suppléant(s)

Ms Laurence BOUHOT-DELDUC
Responsable de la coordination des
activités et du suivi des affaires
internationales en santé des végétaux

Ms Clara PACHECO
Adjointe au chef du Bureau
exportation pays tiers

Ms Amelie SCHELL
Chargée d'études au Bureau
exportation pays tiers

GABON - GABÓN

Représentant

Ms Séraphine MINKO
 Chef de Service de la Législation
 Phytosanitaire
 Membre titulaire de l'Organe
 Subsidiaire chargé du Règlement des
 Différends
 Phone: (+241) 06634795
 Email: minkoseraphine@yahoo.fr

GEORGIA - GÉORGIE

Representative

Mr Zurab LIPARTIA
 Chief Phytosanitary Officer
 Deputy Head of the LEPL National
 Food Agency
 Phone: (+995) 332 2919168/3011
 Email: zurab.lipartia@nfa.gov.ge

GERMANY - ALLEMAGNE - ALEMANIA

Representative

Ms Christine HERMENING
 Phone: (+49) 228995294484
 Email: 513@bmel.bund.de

GHANA

Representative

Mr Eric Bentsil QUAYE
 Phone: 0266501158
 Email: bequaye18@yahoo.co.uk

GREECE - GRÈCE - GRECIA

Representative

Ms Stavroula IOANNIDOU
 Regulatory Expert on Plant Health,
 Department of Phytosanitary Control-
 Ministry of Rural Development &
 Food,
 Phone: (+30) 210 9287133
 Email: stioannidou@minagric.gr

Alternate(s)

Mr Christos ARAMPATZIS
 Regulatory Expert on Plant Health,
 Department of Phytosanitary Control
 - Ministry of Rural Development &
 Food
 Phone: (+30) 210 9287235
 Email: syg051@minagric.gr

GUINEA-BISSAU - GUINÉE-BISSAU

Représentant

Mr Luis Antonio TAVARES
 Head Phytosanitary Control And
 Focal Point of IPPC Guinea-Bissau
 Phone: (+245) 955547553 (+245)
 966638208
 Email: ltavares@yahoo.com

GUYANA

Representative

Mr Brian SEARS
 Chief Plant Protection Officer
 Phone: (+592) 6990479
 Email: nppogy@gmail.com

HONDURAS

Representante

Mr José Adalberto ZUNIGA REYES
 Plants Health Sub-Director

HUNGARY - HONGRIE - HUNGRÍA

Representative

Mr Lajos SZABO
 Senior Advisor
 Ministry of Agriculture
 Department of Food Chain Control
 1055 Budapest, Kossuth tér 11.
 Phone: (+36) 1 79 53 792
 Fax: (+36) 1 79 50 094
 E-mail: lajos.szabo@fm.gov.hu

INDIA - INDE

Representative

Mr A. K. SINHA
 Plant Protection Adviser
 Phone: (+91) 1292413985, (+91)
 2410056
 Email: ppa@nic.in

INDONESIA - INDONÉSIE

Representative

Mr Ummu Salamah RUSTIANI
 Phone: (+62) 251-8629639
 Email: ummurustiani@gmail.com

Alternate(s)

Antarjo DIKIN
 Email: antarjo.dikin@yahoo.com

**IRAN (ISLAMIC REPUBLIC OF) - IRAN
(RÉPUBLIQUE ISLAMIQUE D') - IRÁN
(REPÚBLICA ISLÁMICA DEL)**

Representative

Mr Mohammad Ali
 BAGHESTANIMEYBODI
 Deputy Minister
 Head of Plant Protection Organization
 of the I. R. Iran

Alternate(s)

Mr Mehdi GHAEMIAN
 Technical Deputy
 Director for Plant Health and
 Quarantine Plant Protection
 Organization of the I.R.Iran

IRELAND - IRLANDE - IRLANDA

Representative

Mr Barry DELANY
 Chief Plant Health Officer of Ireland
 Phone: (+353) 1 5058757
 Email:
 barry.delany@agriculture.gov.ie

ITALY - ITALIE - ITALIA

Representative

Mr Federico SORGONI
 Official of the Central Phytosanitary
 Office MiPAAF
 Phone: (+39) 0646654218
 Email: f.sorgoni@politicheagricole.it

JAMAICA - JAMAÏQUE

Representative

Ms Sanniel WILSON
 Chief Plant Quarantine/Produce
 Inspector
 Phone: (+1876) 977-6401/0637
 Email: sswilson@micaf.gov.jm

JAPAN - JAPON - JAPÓN

Representative

Mr Kazuhiko SHIMADA

Alternate(s)

Mr Masahiro AOKI
 Section Chief

Mr Akihito FURUTA
 Counsellor

Mr Yuji KITAHARA
 Section Chief

Ms Hiroko MATSUO

Ms Masumi YAMAMOTO
 Section Chief

Mr Hirochi YOKOCHI

Mr Yukio YOKOI
 Director
 Email: yokoiy@pps.maff.go.jp

JORDAN - JORDANIE - JORDANIA

Representative

Mr Emad JROUGH ALAWAD
 Chief of Phytosanitary Measures
 Division
 Phone: (+96) 6265686151, (+96)
 2795363297
 Email: alawademad@yahoo.com

KENYA

Representative

Ms Esther Wandia Njoya KIMANI
 Managing Director, KEPHIS
 Phone: (+722) 226239

Alternate(s)

Ms Hellen LANGAT
 Senior Inspector and Technical
 Personal Assistant

**KYRGYZSTAN - KIRGHIZISTAN -
KIRGUISTÁN**

Representative

Mr Adyl NURBAEV
 Head of Division of Plant Quarantine
 of the Ministry of Agriculture, Food
 Industry and Melioration of the
 Kyrgyz Republic

**LAO PEOPLE'S DEMOCRATIC
REPUBLIC - RÉPUBLIQUE
DÉMOCRATIQUE POPULAIRE LAO -
REPÚBLICA DEMOCRÁTICA POPULAR
LAO**

Representative

Mr Khanxay SOMCHINDA
 Deputy Director of Plant Protection
 Centre

Alternate(s)

Mr Siriphonh PHITHAKSOUN
 Director of Plant Protection Centre,
 DOA, MAF, Lao PDR
 Phone: (+856) 21812164
 Email: syriphonh@gmail.com

Mr Sittiphone PHOMMASAK
 Head of Administration and
 Technical Cooperation

LATVIA - LETTONIE - LETONIA

Representative

Mr Peter VAIVARS
 Ambassador Extraordinary and
 Plenipotentiary of the Republic of
 Latvia to the Republic of Korea

LEBANON - LIBAN - LÍBANO

Representative

Sylvana GERGES
 Head of Plant Protection Service
 Phone: (+961) 3 810377
 Email: sgerges@agriculture.gov.lb

Alternate(s)

Rania HAYEK
 Head of Plant Protection Service
 Ministry of Agriculture

LESOTHO

Representative

Mr Solomon Motlatsi MOLATELA
 Senior Research Officer (Plant
 Protection)
 Phone: (+266) 22 312395
 Email: mmolatela@yahoo.co.uk

Alternate(s)

Ms Mantheusi Alrina MATEKANE
 Third Secretary/Alternate Permanent
 Representative to the Rome base
 United Nations Organizations

Ms Lineo Irene MOLISE-
 MABUSELA

Ambassador/Permanent
 Representative to the Rome based
 United Nations Organizations

LIBERIA - LIBÉRIA

Representative

Mr Augustus B. G. FAHNBULLEH
 Director Plant and Animal Quarantine
 Service, IPPC/IPP Contact,
 WTO/SPS-NEP
 Phone: (+231) 886439982, (+231)
 777439982, (+231) 775630223
 Email:
 augustusfahnbulleh@ymail.com

LIBYA - LIBYE - LIBIA

Representative

Mr Ali Amin KAFU
 Advisor in Phytosanitary Control
 Phone: (+218) 925022980, (+218)
 913243112
 Email: benkafu@yahoo.com

Alternate(s)

Mr Esam Omar BENZITUN
 Advisor to the Department of
 International Organizations
 Phone: (+218) 925158027

MADAGASCAR

Représentant

Ms Nomenjanahary Saholy
 RAMILIARIJAONA
 Directeur de la Protection des
 Végétaux de Madagascar
 Phone: (+261) 340561225, (+261)
 348109909
 Email: lyhosa@gmail.com

MALAWI

Representative

Mr David KAMANGIRA
 Senior Deputy Director of
 Agricultural Research Services
 (TM&ARS)
 Phone: (+265) 888 342 712, (+265)
 999 122 199
 Email: davidkamangira1@gmail.com

MALAYSIA - MALAISIE - MALASIA

Representative

Dato' Ahmad ZAKARIA
 MOHAMAD SIDEK
 Director General of Agriculture
 Phone: (+603) 88703001
 Email: zakaria@doa.gov.my

Alternate(s)

Mr Haji GHAZALI BIN ZAKARIA
 Deputy Director of Plant Biosecurity
 Division
 Phone: (+603) 2030 1417
 Email: ghazali_cpt@yahoo.com

MALI - MALÍ

Représentant

Mr Halidou MOHOMODOU
 Chef Division Surveillance, Alerte et
 Intervention de l'Office de Protection
 des Végétaux, Editeur du Portail
 Phytosanitaire de la Convention
 Internationale pour la Protection des
 Végétaux
 Phone: (+223) 20222404
 Email: halidou_maiga@yahoo.fr

MALTA - MALTE

Representative

Ms Marica GATT
 Director General (VPRD)
 Veterinary and Phytosanitary
 Regulation Department
 Office of the Director
 General/Administration
 Phone: (+356) 22925222
 Email: marica.gatt@gov.mt

Alternate(s)

Mr Sharlo CAMILLERI
 Director
 Veterinary and Phytosanitary
 Regulation Department
 Plant Health Directorate
 Phone: (+356) 22926501
 Email: sharlo.camilleri@gov.mt

Mr Guido SALA CHIRI
 Political Administrator
 JL 40 50 DH 33
 Rue de la Loi 175 - 1048 Brussels
 Phone: (+32) 2 281 5734
 Email:
 guido.salachiri@consilium.europa.eu

Ms Josephine SCHEMBRI
 Policy Officer
 Phone: (+32) 22957852 (+32)
 22382752
 Email: josephine.b.schembri@gov.mt

MEXICO - MEXIQUE - MÉXICO

Representante

Mr Francisco Javier TRUJILLO
ARRIAGA
Director General de Sanidad Vegetal
Phone: (+55) 59 05 10 00 Ext. 51319
Email: trujillo@senasica.gob.mx

MONGOLIA - MONGOLIE

Representative

Ms Gunchinjav ERDENETSETSEG
Senior Officer of Crop Production
Policy Implementation and
Coordination Department
Phone: (+976) 51263408, (+976)
94098448
Email: erdenetsetseg@mofa.gov.mn,
gtsetseg_0912@yahoo.com

Alternate(s)

Ms Byambasuren MIJIDSUREN
Director of the Plant Protection
Research Institute

MOROCCO - MAROC - MARRUECOS

Représentant

Kouider HARRACHI
Head of Division of Plant Protection
in Morocco (DPPAV/ONSSA)
Phone: (+212) 673997851, (+212)
537779873
Email: harrachi.k@gmail.com

Suppléant(s)

Mr Lhoucine RHAZOUÏ
Ministre plénipotentiaire près
l'Ambassade du Royaume du Maroc à
Seoul

MOZAMBIQUE

Representative

Ms Antonia VAZ TOMBOLANE
Phone: (+258) 846988646
Email: avaz5099@gmail.com

MYANMAR

Representative

Mr Aung HLA MYINT
Deputy Director General
Department of Agriculture
Ministry of Agriculture, Livestock
and Irrigation
Phone: (+95) 967410568
Email: dydg.technology@gmail.com

NEPAL - NÉPAL

Representative

Mr Dilli Ram SHARMA
Program Director/ National
Coordinator of National IPM
Programme
Head NPPO
Contact point of IPPC
Phone: (+977) 9841369615
Email: sharmadilli.2018@gmail.com

**NETHERLANDS - PAYS-BAS - PAÍSES
BAJOS**

Representative

Mr Corné VAN ALPHEN
Policy Coordinator
Phytosanitary Affairs
Phone: (+31) 618596867
Email: c.a.m.vanalphen@minez.nl

Alternate(s)

Mr Philip DE JONG
Chief Phytosanitary Officer
Phone: (+31) 655438598
Email: p.j.m.dejong@minez.nl

Mr Nico HORN
Senior Officer Plant Health
Phone: (+31) 651998151
Email: n.m.horn@nvwa.nl

Mr Anthony SNELLEN
Agricultural Counsellor
Email: Anthony.Snellen@minbuza.nl

Mr Henk STIGTER
Senior Policy Officer Plant Health
Phone: (+31) 651255804
Email: h.stigter@nvwa.nl

**NEW ZEALAND - NOUVELLE-ZÉLANDE
- NUEVA ZELANDIA**

Alternate(s)

Mr John HEDLEY
Principal Adviser, International
Policy
Phone: (+64) 48940428
Email: john.hedley@mpi.govt.nz

NICARAGUA

Representante

Mr Jorge Isaac Chavarria
CHAVARRIA
Director de Sanidad Vegetal y
Semillas del Instituto de Protección y
Sanidad Agropecuaria
Email: jorge.chavarria@ipsa.gob.ni

NIGER - NÍGER

Représentant

Ms Abdou Alimatou DOUKI
Ingénieur agronome, Directrice de la
Règlementation Phytosanitaire et du
Suivi Environnemental à la Direction
Générale de la Protection des
Végétaux de Niamey
Phone: (+227) 20742556, (+227)
96979501
Email: douki_a@yahoo.fr

NIGERIA - NIGÉRIA

Representative

Mr Vincent ISEGBE
Coordinating Director
Phone: (+234) 8093540849
Email: visegbe@gmail.com

Alternate(s)

Mr John Abah OBAJE
Head of Plant Quarantine Department
of NAQS
Phone: (+234) 8035059047
Email:
edwardsonobj2009@yahoo.com
Yaya Olaitan OLANIRAN
Permanent Representative to FAO,
IFAD, WFP
Phone: (+39)066875803
Email: nigeriapermrep@email.com

PAKISTAN - PAKISTÁN

Representative

Mr Muhammad Tariq KHAN
Deputy Director (Quarantine)
Phone: (+92) 2199248119
Email: tariqpak007@gmail.com

PANAMA - PANAMÁ

Representante

Mr Luis Manuel BENAVIDES
GONZALEZ
Director Nacional de Normas
Phone: (+507) 5220003
Email: lbenavides@aupsa.gob.pa

Suplente(s)

Mr Yuri John HUERTA VASQUEZ
Administrador General de la
Autoridad
Phone: (+507) 5220005
Email: yheurta@aupsa.gob.pa

PARAGUAY

Representante

Mr Raul SILVERO
Ambassador to Korea

Suplente(s)

Mr Fabian YBARRA FERNANDEZ
Segundo Secretario
Phone: (+82) 27928335
Email: fybarra@mre.gov.py

PERU - PÉROU - PERÚ

Representative

Mr Orlando Antonio DOLORES
SALAS
Plant Quarantine Section
Email: odolores@senasa.gob.pe

Ms Hongsook PARK
Assistant Director for Department of
Plant Quarantine
Email: hspark101@korea.kr

Ms Kuy-Ock YIM
Senior Researcher for Department of
Plant Quarantine
Email: koyim@korea.kr

PHILIPPINES - FILIPINAS

Representative

Mr Vivencio MAMARIL
Phone: (+920) 3775 525 7392
Email: choymamaril@yahoo.com

Alternate(s)

Mr Ariel J. BAYOT
Phone: (+83) 22982 404 0409
Email: ajbayot@yahoo.com

Ms Maria Alilia MAGHIRANG
Agriculture Analyst in Seoul

Ms Laarni Mary SOLIMAN ROXAS
Head of Sanitary and Phytosanitary
Section
Email: lmsoliman1981@yahoo.com

POLAND - POLOGNE - POLONIA

Representative

Ms Mirosława KONICKA
Director of the Central Laboratory
Phone: (+48) 56 623 56 49
Email: m.konicka@piorin.gov.pl

REPUBLIC OF KOREA - RÉPUBLIQUE DE CORÉE - REPÚBLICA DE COREA

Representative

Mr Suhyon RHO
Director General for Department of
Plant Quarantine

Alternate(s)

Mr Joo Seok MIN
Director for Department of Plant
Quarantine

**REPUBLIC OF MOLDOVA -
REPUBLICQUE DE MOLDOVA -
REPÚBLICA DE MOLDOVA**

Representative

Ms Svetlana LUNGU
Head of the Department of Plant
Health Protection of the National
Food Safety Agency of the Republic
of Moldova
Phone: (+373) 22264674
Email: svetlana.lungu@ansa.gov.md

**RUSSIAN FEDERATION - FÉDÉRATION
DE RUSSIE - FEDERACIÓN DE RUSIA**

Representative

Ms Irina ANDREEVSKAYA
Head of Phytosanitary Surveillance
and Seed Control
Phone: (+7) 499 975 49 42,
Email: i.andreevskaya@yandex.ru

Alternate(s)

Ms Snezhana USACHEVA
Interpreter, Department of
Phytosanitary Risks and International
Cooperation with International
Organizations
Phone: (+7) 499 707 22 27
Email: office@vniikr.ru

SAMOA

Representative

Ms Anoano SEUMALII-VAAI
Senior Quarantine Officer
Phone: (+685) 20924
Email: anoseumalii@gmail.com

SAO TOME AND PRINCIPE - SAO TOMÉ-ET-PRINCIPE - SANTO TOMÉ Y PRÍNCIPE

Représentant

Ms Idalina Jorge PAQUETE DE SOUSA
 Chefe de Serviço de Entomologia
 Phone: (+239) 9913413
 Email: idaquete@gmail.com

SAUDI ARABIA - ARABIE SAOUDITE - ARABIA SAUDITA

Representative

Mr Abdelaziz bin Ibrahim AL ZAMEL
 Director General of the Phytosanitary Measures Department
 Ministry of Environment, Water and Agriculture

SENEGAL - SÉNÉGAL

Représentant

Mr Abdoulaye NDIAYE
 Ingénieur agronome, chef de la Division Législation phytosanitaire et quarantaine des plantes à la Direction de la Protection des Végétaux, Ministère en charge de l'Agriculture Sénégal
 Phone: (+221) 338340397, (+221) 77611 1175
 Email: layedpv@gmail.com

SEYCHELLES

Representative

Mr Keven SELWYN NANCY
 Chief Plant Biosecurity Officer
 National Biosecurity Agency
 Ministry of Agriculture and Fisheries
 Phone: (+248) 4324000
 Email: kvenanc@yahoo.com

SIERRA LEONE - SIERRA LEONA

Representative

Ms Raymonda A. B. JOHNSON
 Pest and Crop Management Specialist
 Phone: (+232) 76271030
 Email: raymonda.johnson@yahoo.com

SINGAPORE - SINGAPOUR - SINGAPUR

Representative

Ms Mei Lai YAP
 Phone: (+65) 63165142
 Email: yap_mei_lai@ava.gov.sg

SLOVAKIA - SLOVAQUIE - ESLOVAQUIA

Representative

Ms Katarína BENOVSKA
 Head of NPPO
 Phone: (+421) 2 59266357
 Email: katarina.benovska@land.gov.sk

SLOVENIA - SLOVÉNIE - ESLOVENIA

Representative

Ms Vlasta KNAPIC
 Secretary
 Phone: (+386) 1 300 1318
 Email: vlasta.knapic@gov.si

SOUTH SUDAN - SOUDAN DU SUD - SUDÁN DEL SUR

Représentant

Atem Garang MALUAL
 Executive Director of Plant Protection
 Phone: (+211) 955909982
 Email: alfredatem1@hotmail.com

SPAIN - ESPAGNE - ESPAÑA

Representante

Mr José María COBOS SUAREZ
 Subdirector General de Sanidad e Higiene Vegetal y Forestal

SRI LANKA

Representative

Ms W. J. NIMANTHIKA
 Assistant Director of Agriculture
 (Research)
 Head, Biosecurity and International
 Relations Division
 National Plant Quarantine Service
 Phone : (+94) 718015660
 Email : jayaninimanthika@gmail.com

Ms Tasanee PRADYABUMRUNG
 Senior Expert
 Phone: (+662) 561 2277 #1421
 Email: tasanee@acfs.go.th

Ms Chonticha RAKKRAI
 Agricultural Research Officer, Senior
 professional level,
 Plant Protection Research and
 Development Office (PPRDO)
 Phone: (+662) 579 5583
 Email: rakkrai@yahoo.com

SUDAN - SOUDAN - SUDÁN

Alternate(s)

Mr Khidir GIBRIL MUSA EDRES
 Phone: (+249) 912138939
 Email: khidirgme@outlook.com

Mr Sarute SUDHI-AROMNA
 Entomologist, Senior professional
 level
 Phone: (+662) 579 5583
 Email: sarutes@yahoo.com

SWAZILAND - SWAZILANDIA

Representative

Mr Similo George MAVIMBELA
 IPPC Contact Point
 Phone: (+268) 25274069
 Email: seemelo@yahoo.com

TOGO

Représentant

Mr Kokou Hadah BASSIMBAKO
 Ingenieur Agronome
 Chef Division Organismes Nuisibles
 et Quarantaine Phytosanitaire
 Phone: (+228) 90165898, (+228)
 22514404
 Email: bassimbakohada@yahoo.fr.

SWEDEN - SUÈDE - SUECIA

Representative

Ms Catharina ROSQVIST
 Senior Administrative Officer
 Phone: (+46) 84053782
 Email: catharina.rosqvist@gov.se

TONGA

Representative

Mr Viliami KAMI
 Deputy Chief Executive Officer for
 Ministry of Agriculture, Food, Forests
 and Fisheries
 Head of Quarantine and Quality
 Management Division, MAFFF
 Phone: (+676) 24922/24257
 Email: maf-ento@kalianet.to

THAILAND - THAÏLANDE - TAILANDIA

Representative

Ms Surmsuk SALAKPETCH
 Deputy Director General
 Phone: (+66) 81 373 0927
 Email: surmsuk.s@doa.in.th;
 ssalakpetch@gmail.com

TURKEY - TURQUIE - TURQUÍA

Representative

Mr Yunus BAYRAM
 Acting Deputy General Directorate of
 Food and Control MFAL
 Phone: (+543) 8729126
 Email: yunusb04@gmail.com

Alternate(s)

Mr Prateep ARAYAKITTIPONG
 Standards Officer, professional level
 Office of Standard Development
 Phone: (+662) 561 2277
 Email: prateep_ming@hotmail.com,

UKRAINE - UCRANIA

Representative

Mr Andrii CHELOMBITKO
Deputy Director of the Department of
Phytosanitary Security, Control in
Seed Production and Seedling
Head of Phytosanitary Security
Administration
Chief State Phytosanitary Inspector of
Ukraine
Phone: (+380) 445247707
Email: phyto@consumer.gov.ua

**UNITED KINGDOM - ROYAUME-UNI -
REINO UNIDO**

Representative

Ms Jane CHARD
Head of Branch
Phone: (+44) 131 2448863
Email: jane.chard@sasa.gsi.gov.uk

Alternate(s)

Mr Samuel BISHOP
Plant Health Specialist
Phone: (+44) 1 904462738
Email: sam.bishop@defra.gsi.gov.uk

**UNITED REPUBLIC OF TANZANIA -
RÉPUBLIQUE-UNIE DE TANZANIE -
REPÚBLICA UNIDA DE TANZANÍA**

Representative

Mr Mdili Sambayi KATEMANI
Senior Agricultural Inspector
Phone: (+255) 756637966
Email: dancateman@gmail.com
catemanmdily@yahoo.com

**UNITED STATES OF AMERICA - ÉTATS-
UNIS D'AMÉRIQUE - ESTADOS UNIDOS
DE AMÉRICA**

Representative

Mr Osama EL-LISSY
Deputy Administrator
Email: osama.a.el-
lissy@aphis.usda.gov

Alternate(s)

Mr Hesham ABUELNAGA
APHIS Attaché - U.S. Mission to
North and East Africa, and the
Middle and Near East

Ms Stephanie DUBON
IPS Deputy Technical Director
Email:
stephanie.m.dubon@aphis.usda.gov

Mr John GREIFER
Assistant Deputy Administrator for
IPS
IPPC Official Contact Point
Phone: (+1) 202 7207677
Email: john.k.greifer@aphis.usda.gov

Ms Marina ZLOTINA
PPQ's IPPC Technical Director

URUGUAY

Representante

Ms Beatriz MELCHÓ
Ingeniera Agrónoma
Phone: (+598) 23098410
Email: bmelcho@mgap.gub.uy

VANUATU

Representative

Mr Esra Tekon Timothy TUMUKON
Director
Phone: (+678) 23519
Email: ttumukon@vanuatu.gov.vu

VIET NAM

Representative

Mr Le Van THIET
Deputy Director General
Phone: (+84) 0838248803
Email: thietlv.bvtv@mard.gov.vn

ZAMBIA - ZAMBIE

Representative

Ms Doreen MALEKANO CHOMBA
Principal Agricultural Research
Officer
Phone: (+260) 979672806
Email: dchomba71@gmail.com

ZIMBABWE

Representative

Mr Cames MGUNI
Director
Phone: (+263) 71261177

Alternate(s)

Mr Nhamo MUDADA
Acting Branch Head
Phone: (+263) 772422616

**OBSERVER COUNTRIES (NON-
CONTRACTING PARTIES)
PAYS OBSERVATEURS (PARTIES NON
CONTRACTANTES)
PAÍSES OBSERVADORES (PARTES NO
CONTRATANTES)**

**BRUNEI DARUSSALAM - BRUNÉI
DARUSSALAM**

Representative
Ms Yuliah Abdullah MASLIANA

Alternate
Ms Norkhadijah BINTI HAJI
LATIP

**UZBEKISTAN - OUZBÉKISTAN -
UZBEKISTÁN**

Representative
Mr Alisher SADIKOV
Head of the Main State inspection on
plants quarantine Republic of
Uzbekistan
Phone: (+998) 71255 69 39
Email: karantin@qsxv.uz

**REGIONAL PLANT PROTECTION ORGANIZATIONS
ORGANISATIONS RÉGIONALES DE PROTECTION DES VÉGÉTAUX
ORGANIZACIONES REGIONALES DE PROTECCIÓN FITOSANITARIA**

COMITÉ REGIONAL DE SANIDAD VEGETAL DEL CONO SUR

Mr Álvaro SEPÚLVEDA LUQUE
Secretario Técnico del COSAVE
Huérfanos 1147, Oficina 544
Santiago de Chile
Phone: (+562) 26996452
Email: secretaria_tecnica@cosave.org

**EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION
ORGANISATION EUROPÉENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES
ORGANIZACIÓN EUROPEA Y MEDITERRÁNEA DE PROTECCIÓN DE LAS PLANTAS**

Mr Martin WARD
Director-General/ Directeur Général
Email: martin.ward@epo.int

**NEAR EAST PLANT PROTECTION ORGANIZATION
ORGANISATION POUR LA PROTECTION DES VÉGÉTAUX AU PROCHE-ORIENT
ORGANIZACIÓN DE PROTECCIÓN DE LAS PLANTAS DEL CERCANO ORIENTE**

Mr Mekki CHOUBAINI
Executive Director
Phone: (+212) 537 704 810
Email: hq.neppo@gmail.com

**NORTH AMERICAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION
ORGANISATION NORD AMÉRICAINE POUR LA PROTECTION DES PLANTES
ORGANIZACIÓN NORTEAMERICANA DE PROTECCIÓN A LAS PLANTAS**

Ms Stephanie BLOEM
Executive Director of NAPPO
Phone: (+919) 6174040, (+919) 4804761
Email: stephanie.bloem@nappo.org

REGIONAL INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR PLANT PROTECTION AND ANIMAL HEALTH
ORGANISME INTERNATIONAL RÉGIONAL CONTRE LES AMALADIES DES PLANTES ET DES ANIMAUX
ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA

Mr Carlos Ramón URIAS MORALES
Regional Director Plant Health
Phone: (+503) 22099222, (+503) 22099200
Email: curias@oirsa.org; svegetal@oirsa.org

Mr Adriano VASQUEZ
Technical Assistant RDPH
Phone: (+503) 22099200
Email: avasquez@oirsa.org; svegetal@oirsa.org

PACIFIC PLANT PROTECTION ORGANISATION
ORGANISATION DE PROTECTION DES VÉGÉTAUX POUR LE PACIFIQUE
ORGANIZACIÓN DE PROTECCIÓN FITOSANITARIA DEL PACÍFICO

Mr Josua WAINIQOLO
Biosecurity and Trade Support Advisor
Phone: (+679) 3379348, (+679) 8085172
Email: josuaw@spc.int

**NON-GOVERNMENTAL ORGANIZATIONS
ORGANISATIONS NON GOUVERNMENTALES
ORGANIZACIONES NO GUBERNAMENTALES**

CARIBBEAN AGRICULTURAL HEALTH AND FOOD SAFETY AGENCY

Ms Juliet GOLDSMITH
Plant Health Specialist
Email: juliet.goldsmith@cahfsa.org

CONTAINER OWNERS ASSOCIATION

Mr Michael Patrick DOWNES
Senior Equipment Technical Expert
Email: michael.patrick.downes@maersk.com

Mr Brian RYSZ
Senior Global Equipment Manager

**INTERNATIONAL SEED FEDERATION
FÉDÉRATION INTERNATIONALE DES SEMENCES**

Mr Dave CAREY
Director, Government Affairs and Policy
Phone: (+1) 6138299527
Email: dcarey@cdnseed.org

Mr Richard DUNKLE
Senior Director, Seed Health and Trade
Phone: (+1) 7038378140
Email: rdunkle@betterseed.org

Mrs Radha RAGANATHAN
Director Technical Affairs
Phone: (+41) 223654420
Email: r.ranganathan@worldseed.org

PANELISTS/PRESENTERS/ RESOURCE PERSONS

Mr Marko BENOVIC
Executive Officer
Phone: (+39) 06 570 54119
Email: marko.benovic@fao.org
IPPC Secretariat

Ms Sarah BRUNEL

Agricultural Officer
Phone: (39) 0657053768
Email: sarah.brunel@fao.org
IPPC Secretariat

Ms Dorota BUZON
Programme Officer
Phone: (+39) 065705-4386
Email: dorota.buzon@fao.org
IPPC Secretariat

Mr Tyrone CARBONE
Interpreter
Phone: (+66) 860487763.
Email: t.carbone@aiic.net

Mr Johnathan CLEMENTS
English Interpreter
Phone: (+39) 346 679 8883
Email: jonathan.clements@fao.org

Mr Eugenio D'ANDREA
Report Writer
Email: eugenio.dandrea@fao.org
IPPC Secretariat

Ms Pauline EID
Agriculture Engineer - Plant Protection Department
Phone: (+96) 13862849
Email: pauline.eid@gmail.com

Ms Chiu-Kee Emily FAN
Phone: (+33) 668040807
Email: fan_emily@yahoo.com

Mr Craig FEDCHOCK
Senior Advisor
Phone: (+39) 06 5705 2534
Email: craig.fedchock@fao.org

Mr Ernesto GONZALEZ SALA
Interpreter
Phone: (+33) 674534415
Email: egsala@gmail.com

Ms Guanghao GU
Deputy Director
Phone: (+86) 755 88211435
Email: gugh@szciq.gov.cn

Ms Darya KIRIENKO
Interpreter
Phone: (+6) 012 302 8121
Email: dasha.kirienko@gmail.com

Ms Tanja LAHTI
Meeting Coordinator
Phone: (+39) 0657054812
Email: tanja.lahti@fao.org
IPPC Secretariat

Mr Brent LARSON
Standards Officer
Phone: + (39) 06-5705-4915
Email: brent.larson@fao.org
IPPC Secretariat

Mr Hailong LIU
Interpreter
Phone: (+852) 6670 0261
Email: hailongliu.hk@gmail.com

Mr Mirko MONTUORI
Project Manager
Phone: (+39) 3755031052
Email: mirko.montuori@fao.org
IPPC Secretariat

Dr Adriana MOREIRA
Agricultural Officer
Phone: (+39) 06 570 55 809
Email: adriana.moreira@fao.org
IPPC Secretariat

Mr Dany NAJJAR
Interpreter
Phone: (+971) 4 2833450
Email: danyhajjar66@gmail.com

Ms Heidi NICHOLSON
Interpreter
Phone: (+33) 6124444140
Email: heidi.v.nicholson@gmail.com

Ms Reem OWAIS
Interpreter
Phone: (+971) 50-651 10 51
Email: reem_owais@hotmail.com

Ms Naia SADABA HERRERO
Interpreter
Phone: (+33) 688031601
Email: nsadaba@yahoo.fr

Mr Shane SELA
ePhyto Project Manager
Phone: (+1) 2502135511
Email: shane.sela@fao.org
IPPC Secretariat

Ms Valerie SERVANT
Interpreter
Phone: (+33) 637709655
Email: v.servant@aiic.net

Mr Orlando SOSA
Agricultural Officer
Phone: (+39) 0657053613
Email: orlando.sosa@fao.org
IPPC Secretariat

Ms Katarina SPISIAKOVA
Meeting Coordinator
Phone: (+39) 0657056865
Email: katarina.spisiakova@fao.org
IPPC Secretariat

Ms Romancia STEPHAN
Interpreter
Phone: (+97) 1505534881
Email: rstephan@emirates.net.ae

Ms Leanne STEWART
Phytosanitary Consultant
Phone: (+39) 06570 53071
Email: leanne.stewart@fao.org
IPPC Secretariat

Ms Ekaterina WOODHAM MOSTOVAYA
Interpreter
Phone: (+852) 61 03 61 10
Email: katya@russiansolutions.com.hk

Dr Jingyuan XIA
Secretary to IPPC
Phone: (+39) 06 5705 6988
Email: jingyuan.xia@fao.org
IPPC Secretariat

Mr Jianying XU
Interpreter
Phone: (+86) 13 901 02 48 91
Email: jackhsu@yahoo.com

SEED ASSOCIATION OF THE AMERICAS

Ms María Inés ARES
Senior Advisor on Seed Phytosanitary Seed Association of the Americas
Phone: (+598) 2 9242832
Email: iares@saaseed.org

SPEAKER

Ms Michelle MEDINA
Email: michelle.medina@wcoomd.org

Mr Elissaios POPYRAKIS
Senior Lecturer in Development Economics
Email: popyrakis@iss.nl

Ms Junko SHIMURA
Programme Officer for Taxonomy and Invasive Alien Species
Phone: (+1) 5142878706
Email: junko.shimura@cbd.int

Mr Luca TASCIOTTI
Lecturer in Economics
Phone: (+02) 0 7898 4947
Email: lt20@soas.ac.uk

**REGIONAL PLANT PROTECTION ORGANIZATIONS
ORGANISATIONS RÉGIONALES DE PROTECTION DES VÉGÉTAUX
ORGANIZACIONES REGIONALES DE PROTECCIÓN FITOSANITARIA**

**PLANT HEALTH COMMITTEE OF THE SOUTHERN CONE
COMITÉ DE LA SANTÉ DES PLANTES DU CÔNE SUD
COMITÉ REGIONAL DE SANIDAD VEGETAL DEL CONO SUR**

Mr Álvaro SEPÚLVEDA LUQUE
Secretario Técnico del COSAVE
Huérfanos 1147, Oficina 544
Santiago de Chile
Phone: (+562) 26996452
Email: secretaria_tecnica@cosave.org

**EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION
ORGANISATION EUROPÉENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES
ORGANIZACIÓN EUROPEA Y MEDITERRÁNEA DE PROTECCIÓN DE LAS PLANTAS**

Mr Martin WARD
Director-General/ Directeur Général
Email: martin.ward@eppo.int

**NEAR EAST PLANT PROTECTION ORGANIZATION
ORGANISATION POUR LA PROTECTION DES VÉGÉTAUX AU PROCHE-ORIENT
ORGANIZACIÓN DE PROTECCIÓN DE LAS PLANTAS DEL CERCANO ORIENTE**

Mr Mekki CHOUBAINI
Executive Director
Phone: (+212) 537 704 810
Email: hq.neppo@gmail.com

**NORTH AMERICAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION
ORGANISATION NORD AMÉRICAINNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES
ORGANIZACIÓN NORTEAMERICANA DE PROTECCIÓN A LAS PLANTAS**

Ms Stephanie BLOEM
Executive Director of NAPPO
Phone: (+919) 6174040, (+919) 4804761
Email: stephanie.bloem@nappo.org

**REGIONAL INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR PLANT PROTECTION AND
ANIMAL HEALTH
ORGANISME INTERNATIONAL RÉGIONAL CONTRE LES AMALADIES DES PLANTES
ET DES ANIMAUX
ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA**

Mr Carlos Ramón URIAS MORALES
Regional Director Plant Health
Phone: (+503) 22099222, (+503) 22099200
Email: curias@oirsa.org; svegetal@oirsa.org

Mr Adriano VASQUEZ
Technical Assistant RDPH
Phone: (+503) 22099200
Email: avasquez@oirsa.org; svegetal@oirsa.org

**PACIFIC PLANT PROTECTION ORGANISATION
ORGANISATION DE PROTECTION DES VÉGÉTAUX POUR LE PACIFIQUE
ORGANIZACIÓN DE PROTECCIÓN FITOSANITARIA DEL PACÍFICO**

Mr Josua WAINIQOLO
Biosecurity and Trade Support Advisor
Phone: (+679) 3379348, (+679) 8085172
Email: josuaw@spc.int

**UNITED NATIONS AND SPECIALIZED AGENCIES
NATIONS UNIES ET INSTITUTIONS SPÉCIALISÉES
NACIONES UNIDAS Y ORGANISMOS ESPECIALIZADOS**

**FAO REGIONAL OFFICES
BUREAUX RÉGIONAUX DE LA FAO
OFICINAS REGIONALES DE LA FAO**

Mr Avetik NERSISYAN
Agricultural Officer
REU Focal Point for SP2
Phone: (+361) 8141240
Email: avetik.nersisyan@fao.org

Mr Jean Baptiste BAHAMA
Crop Production and Protection Officer
FAO Regional Office for Africa
Email: jean.bahama@fao.org

Ms Joyce MULILA MITTI
PLANT PRODUCTION AND PROTECTION OFFICER, FAOSFS
Phone: (+263-4) 253655-8, (+263-4) 252021-3, (+263-772) 240681-3,
Email: joyce.mulilamitti@fao.org

Mr Yongfan PIAO
Executive Secretary of APPPC
Senior Plant Protection Officer
Phone: (+66) 2 6974628, (+66) 02 6974445
Email: yongfan.piao@fao.org

Mr Hafiz MUMINJANOV
Agricultural Officer
FAO Regional Office for Europe and Central Asia
Email: hafiz.muminjanov@fao.org

**INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY
AGENCE INTERNATIONALE DE L'ÉNERGIE ATOMIQUE
ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA**

Dr Rui CARDOSO PEREIRA
Entomologist
Phone: (+43) 1260026077
Email: r.cardoso-pereira@iaea.org

**OBSEVERS FROM INTERGOVERNMENTAL ORGANIZATIONS
OBSERVATEURS D'ORGANISATIONS INTERGOUVERNEMENTALES
OBSERVADORES DE ORGANIZACIONES INTERGUBERNAMENTALES**

**AFRICAN UNION
UNION AFRICAINE
UNIÓN AFRICANA**

Mr Abdel Fattah AMER MABROUK
Senior Scientific Officer, Entomology
Phone: + (237) 677653138
Email: abdefattahsalem@ymail.com

Mr Jean Gerard MEZUI M'ELLA
Director of AU-IAPSC
Phone: ++(237) 222211969 (+237) 694899340
Email: jeangerardmezuimella@yahoo.fr

Ms Diana OGWAL AKULLO
Policy Officer - Crop Production
Phone: (+251) 115517700
Email: AkulloD@africa-union.org

CAB INTERNATIONAL

Ms Melanie BATEMAN
Plantwise European Resource Staff
Phone: (+41) 324214888
Email: m.bateman@cabi.org

**WORLD TRADE ORGANIZATION
ORGANISATION MONDIALE DU COMMERCE
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO**

Ms Marième FALL
Counsellor, Sanitary and Phytosanitary Measures Section
Phone: (+41)22 739 55 27
Email: marieme.fall@wto.org

Apéndice 04: Informe de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria correspondiente a 2016

El año 2016 fue un hito para la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF), ya que fue el primer año de aplicación por parte de la Convención de los temas anuales de la CIPF hacia 2020. Ese año fue extraordinario para la comunidad de la CIPF puesto que se obtuvieron considerables logros de forma colectiva, incluso pese a la reducción sustancial de los recursos humanos. En este informe se ponen de relieve los 10 principales logros obtenidos:

- el tema anual de la CIPF para 2016,
- las actividades estratégicas y de gobernanza de la CIPF,
- la coordinación en cuanto al establecimiento de normas,
- la aplicación de normas
- la mejora de la comunicación y la promoción,
- la celebración del Año Internacional de la Sanidad Vegetal,
- el fortalecimiento de la red de la CIPF,
- el fortalecimiento de la red de la CIPF,
- la mejora de la cooperación internacional,
- la mejora de la movilización de recursos,
- el fortalecimiento de la gestión interna de la Secretaría.

El primer logro fue la difusión del tema anual de la CIPF para 2016, —“Sanidad vegetal y seguridad alimentaria”—. La Secretaría de la CIPF organizó, por primera vez en su historia, un discurso de apertura en la 11.^a reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) sobre el tema anual de la CIPF, que fue pronunciado por el Profesor Rudy Rabbinge de la Universidad de Wageningen de los Países Bajos. Se organizaron asimismo una serie de actividades para dar a conocer el tema anual de la CIPF, entre ellas, dos seminarios de la CIPF, un acto paralelo del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial (CSA) y un mensaje audiovisual del Secretario de la CIPF dirigido a los talleres regionales de la CIPF celebrados en 2016.

El segundo logro fue la organización de las actividades estratégicas y de gobernanza de la CIPF. La —Secretaría de la CIPF brindó su firme apoyo a la organización de todas las reuniones de los órganos rectores de la CIPF. También se siguió de cerca la aplicación de todas las decisiones importantes de la CMF, como el establecimiento de un grupo de debate sobre la creación de un órgano de supervisión de la aplicación, el trabajo sobre la adopción de un mecanismo de financiación sostenible para los programas de trabajo de la Secretaría de la CIPF y el comienzo de la planificación estratégica de la CIPF para 2020-2030.

El tercer logro fue la coordinación de un número sin precedentes de normas. Se avanzó en la tramitación de más de 40 normas: se adoptaron 12 normas (dos normas ordinarias, dos tratamientos fitosanitarios [TF] y ocho protocolos de diagnóstico [PD]) y se presentaron 28 normas para su adopción (cinco normas ordinarias, 11 TF y 12 PD). Se tramitó, por tanto, el mayor número de normas de la historia de la CIPF en un solo año.

El cuarto logro fue la promoción de la aplicación de las normas. Se organizaron cinco talleres de capacitación sobre la evaluación de la capacidad fitosanitaria (ECF) que contaron con la participación de 40 expertos fitosanitarios procedentes de 36 países y 21 abogados de 13 países, además del personal de la FAO. Se ejecutaron 16 proyectos, seis de ellos se completaron y los otros 10 estaban en curso, y abarcaban más de 15 Partes Contratantes. Se estableció un grupo de debate sobre un proyecto piloto de vigilancia que se ocupaba de tres posibles plagas.

El quinto logro fue la mejora de la comunicación y la promoción. Se abrieron a los usuarios la nueva página inicial del Portal fitosanitario internacional (PFI) y un nuevo sistema de comentarios en línea. Se publicaron

más de 170 artículos y titulares de noticias breves, lo cual supone un aumento del 70 % en comparación con 2015. Se publicó el informe anual de la CIPF de 2015, del que se distribuyeron 1 000 ejemplares.

El sexto logro fue promover la celebración del Año Internacional de la Sanidad Vegetal (AISV), 2020. Se estableció el Comité Directivo del AISV 2020 y su primera reunión se organizó en la Sede de la FAO en Roma (Italia). Durante el 25.º período de sesiones del Comité de Agricultura de la FAO, se celebró un acto paralelo sobre el AISV 2020. En ese mismo período de sesiones del Comité de Agricultura, se aprobó la resolución relativa al AISV 2020 y, posteriormente, esta fue refrendada en el 150.º período de sesiones del Consejo de la FAO.

El séptimo logro fue el fortalecimiento de la red de la CIPF. Por primera vez en varios años, se organizó en Asia un taller de la CIPF sobre las obligaciones de presentación de informes nacionales. Se celebraron siete talleres regionales de la CIPF que contaron con la participación de 212 personas provenientes de 144 Partes Contratantes. La Consulta técnica entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) se llevó a cabo en Rabat (Marruecos) y contó con la participación de las nueve ORPF y una región (el Caribe), por primera vez en muchos años.

El octavo logro fue la promoción de la cooperación internacional. En particular, se intensificó la cooperación con el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) sobre el establecimiento de normas. Se inició la cooperación con la Organización Mundial de Aduanas (OMA) sobre ePhyto. También se inició la cooperación con el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) sobre cuestiones relacionadas con la diversidad biológica.

El noveno logro fue la intensificación de la movilización de recursos. Se propuso la iniciativa sobre la financiación sostenible para el programa de trabajo de la CIPF y fue firmemente respaldada por el Comité de Finanzas de la CMF, la Mesa de la CMF y el Grupo sobre planificación estratégica (GPE). El Fondo fiduciario de donantes múltiples de la CIPF ascendió a 6,65 millones de USD (lo cual representa un aumento del 42 % en comparación con 2015), procedentes principalmente de Australia, Corea, Estados Unidos, Francia y Nueva Zelanda. Los nuevos proyectos de la CIPF se elevaron a 4,07 millones de USD (el nivel más alto de la historia de la Convención), principalmente procedentes de China (2 millones de USD), el Fondo para la Aplicación de Normas y el Fomento del Comercio (FANFC) (1,12 millones de USD) y la Unión Europea (0,9 millones de EUR). Las contribuciones de la CIPF en especie se cifraron en más de 0,7 millones de USD, principalmente de Canadá, China, Costa Rica, Estados Unidos, Francia, Nueva Zelanda y República de Corea, así como el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM), la Oficina Regional de la FAO para Europa y Asia Central (REU) y el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). La lista completa de las contribuciones en especie de la CIPF figura en el Informe financiero de la Secretaría de la CIPF correspondiente a 2016.

El décimo logro fue el fortalecimiento de la gestión interna. Se ejecutó el plan de acción para la evaluación de la mejora de la Secretaría de la CIPF, principalmente para la reestructuración de la Secretaría de la CIPF mediante la creación de dos unidades de profesionales (la Unidad de Establecimiento de Normas y la Unidad de Facilitación de la Aplicación) y un equipo de apoyo (el Equipo de apoyo a la integración). Se reforzaron la gestión de la calidad, así como la normalización de los documentos y materiales informativos mediante el establecimiento de varios procedimientos normalizados de actuación. Se fomentó el espíritu de trabajo en equipo mediante la organización de un retiro y el Taller de capacitación de seguimiento y evaluación, así como mediante la mejora de la labor del Grupo de acción para la movilización de recursos y del Grupo de acción sobre comunicaciones y promoción.

Si bien se ofrece un resumen de las principales actividades y logros de la Secretaría de la CIPF de 2016, se considera que hay cuatro experiencias importantes para el aprendizaje y la continuación de esta labor:

- En primer lugar, se debería prestar más atención a la innovación, por ejemplo, a ideas innovadoras para la planificación estratégica de la CIPF hacia la consecución de los Objetivos

de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas para 2030 y una gestión innovadora para la renovación de la Secretaría de la CIPF sobre la base de la evaluación de la mejora.

- Segundo, es preciso reiterar la importancia de establecer prioridades haciendo hincapié en tres pilares, a saber, el establecimiento de normas, la facilitación de la aplicación y la comunicación y las asociaciones.
- En tercer lugar, debería mejorarse la coordinación entre los órganos rectores de la CIPF, la comunidad de la CIPF y la Administración superior de la FAO.
- Por último, es necesario promover el trabajo en equipo poniendo en común las enseñanzas extraídas en talleres y cursos de capacitación y mediante el desempeño del equipo a través de grupos de acción.

El año 2017 será otro año fundamental para la CIPF, ya que será el año de aplicación del siguiente tema anual de la CIPF, —“Sanidad vegetal y facilitación del comercio”—, así como un año de conmemoración del 65.º aniversario de la CIPF. Confiamos en que 2017 será un año incluso mejor para la CIPF gracias al constante apoyo y dedicación que nos brindan ustedes en el fortalecimiento de la capacidad de ejecución del programa de trabajo de la CIPF.

Entre las numerosas tareas y actividades para 2017, hay cinco que son fundamentales:

- a) promover* el tema anual de la CIPF, “Sanidad vegetal y facilitación del comercio” para 2017, y el AISV 2020 con vistas a su aprobación en la Conferencia de la FAO;
- b) organizar* la 12.ª reunión de la CMF en la República de Corea y establecer un nuevo órgano de supervisión de la aplicación;
- c) completar* los proyectos del FANFC-401 y el proyecto de la Comunidad Europea (CE) relativo al Sistema de examen y apoyo de la aplicación, y ejecutar los nuevos proyectos sobre la aplicación de la CIPF de la CE, ePhyto del FANFC y el desarrollo de la capacidad en el marco del programa de cooperación Sur-Sur entre China y la FAO;
- d) reforzar* la red de la CIPF en los planos regional y nacional, y fomentar la cooperación internacional con las organizaciones técnicas, comerciales, ambientales y de la industria pertinentes;
- e) proseguir* los esfuerzos para movilizar recursos adicionales y reestructurar la Secretaría de la CIPF, así como conmemorar el 65º aniversario de la CIPF.

La Secretaría de la CIPF quisiera aprovechar esta oportunidad para expresar su más sincero agradecimiento y reconocimiento a todos los órganos de la CIPF, por su excelente gestión, a todas las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) y ORPF por su firme apoyo y a todos los asociados y colaboradores por su cooperación habitual.

Se invita a la CMF a:

- 1) tomar nota* de los aspectos destacados presentados en este informe.

Apéndice 05: Plan de acción complementario para evaluar y gestionar las amenazas de plagas asociadas a los contenedores marítimos

La Mesa de la CMF propone una serie de medidas encaminadas a reducir los riesgos de plagas asociados a los contenedores marítimos, que están sujetas a la disponibilidad de recursos extrapresupuestarios aportados por las partes contratantes o el sector. Estas medidas cuantificarán las repercusiones del Código de prácticas OMI/OIT/CEPE para la arrumazón de las unidades de transporte durante los siguientes cinco años, aumentarán la sensibilización acerca de los riesgos de plagas de los contenedores marítimos y de la información necesaria para ayudar a las ONPF a gestionar mejor estos riesgos, y establecerán mecanismos de supervisión y gobernanza para su aplicación.

La Mesa alienta a las partes contratantes o al sector a que aporten recursos a la Secretaría de la CIPF para facilitar esta labor, y sugirió que podría aplicarse el modelo de financiación del proyecto ePhyto para avanzar en este sentido.

i) Cuantificación de las repercusiones del Código de prácticas para la arrumazón de las unidades de transporte mediante:

- la elaboración de un protocolo conjunto de la CIPF, la OMI y el sector para recabar datos relacionados con la contaminación de los contenedores marítimos, que debería finalizarse antes de la 16.^a reunión de la CMF (2021);
- el seguimiento de la adopción y aplicación del Código de prácticas mediante:
 - la presentación de informes del sector;
 - el seguimiento de las ONPF.
- la comprobación de la eficacia del Código de prácticas a la hora de garantizar la llegada de contenedores marítimos limpios, mediante:
 - la supervisión de los contenedores por las ONPF para comprobar que no estén contaminados por plagas y que no contengan tierra.
- la prestación de ayuda a las ONPF para gestionar los riesgos de plagas asociados a los contenedores marítimos.

ii) Aumentar la sensibilización con respecto a los riesgos de plagas de los contenedores marítimos mediante:

- la publicación de los datos del Grupo de trabajo de expertos por la Secretaría de la CIPF;
- una solicitud de la Secretaría de la CIPF para que los países que dispongan de información relativa a la contaminación de contenedores marítimos la publiquen;
- la petición y publicación de material de orientación sobre gestión del riesgo de plagas para los contenedores marítimos;
- alentando a las ONPF a informar al sector de los riesgos de plagas asociados a los contenedores marítimos y de las medidas internacionales que podrían tomarse para gestionar dichos riesgos;
- garantizando que las regulaciones sobre contenedores marítimos que elaboren y apliquen las ONPF se fundamenten en el análisis de riesgos de plagas y sean conformes con la Recomendación CPM 10/2015/01 sobre contenedores marítimos.

Supervisión y gobernanza

Establecimiento de un Grupo de acción que trabaje bajo la supervisión del CDC y el CADC para hacer un seguimiento de las medidas mencionadas y las complementa con medidas de otro tipo mediante:

- la provisión de información relativa a los riesgos de plagas de los contenedores marítimos y la gestión de dichos riesgos;

- la coordinación con las partes contratantes, las ORPF, el sector y otras organizaciones internacionales;
- el establecimiento de un mecanismo para que las partes contratantes informen a la CMF sobre los progresos y los logros alcanzados;
- la prestación de asesoramiento sobre la manera de poder actualizar el Código de prácticas o cualquier otro instrumento;
- la aportación, por conducto del CDC y el CADC, de información actualizada sobre sus actividades, que deberá presentarse anualmente a la CMF, así como un informe final para su presentación en la 16.ª reunión de la CMF (2021).

La Mesa elegirá a los miembros e invitará a especialistas para que participen en el Grupo de acción. La elección de los miembros del Grupo de acción, que deberían tener conocimientos especializados en asuntos relacionados con la CIPF y la logística de los contenedores marítimos, debería recaer en las partes contratantes y las ORPF. Al menos uno de los miembros del Grupo de acción debería ser miembro del Grupo de trabajo de expertos sobre contenedores marítimos. Además, el Grupo de trabajo también podría contar entre sus miembros con especialistas del sector y representantes de las organizaciones internacionales competentes en calidad de invitados expertos.

El Grupo de acción debería tener miembros de las partes contratantes bien informados sobre los asuntos de la CIPF y la logística de los contenedores marítimos. Asimismo, debería tener expertos del sector y otras organizaciones internacionales pertinentes. El Grupo de acción podrá consultar con especialistas en contenedores marítimos, como antiguos miembros del Grupo de trabajo de expertos, según proceda.

Apéndice 06: Medidas prioritarias para aplicar el Plan de acción complementario para los contenedores marítimos

1. En diciembre de 2016, el CDC propuso una serie de actividades prioritarias y viables al Grupo de acción que le permitieran avanzar en la aplicación del Plan de acción complementario. Estas medidas son las siguientes:

2. Entre las primeras tareas administrativas que deben emprenderse:

- que se invite a los candidatos del Grupo de acción a la primera reunión presencial (prioridad 1/viable);
- que la Secretaría recopile todo el material disponible relativo a los contenedores marítimos y lo proporcione al Grupo de acción (prioridad 1/viable);
- que el Grupo de acción elabore un plan de trabajo basado en el mandato elaborado por la Mesa (prioridad 1/viable).

3. Las actividades del Grupo de acción comprenderán:

- un estudio de base (evaluación de las necesidades) (prioridad 1/viable);
- una solicitud de los recursos necesarios para subsanar deficiencias, incluso para la gestión del riesgo de plagas (prioridad 1/viable, a menos que los donantes estén en condiciones de prestar recursos y se necesite hacer un seguimiento minucioso para evaluar dichos recursos);
- el establecimiento de vínculos con organismos internacionales como la OMA y la OMI y otras partes interesadas en cuestiones relacionadas con los contenedores marítimos (prioridad 1/viable);
- el establecimiento de una lista de partes interesadas en cuestiones relacionadas con los contenedores marítimos (es posible que el Grupo de trabajo de expertos ya disponga de esta lista) (prioridad 1/viable);
- el seguimiento de la adopción y aplicación del Código de prácticas:
 - Procedimientos establecidos para hacer supervisar la adopción y aplicación del Código de prácticas (con vistas a establecer la situación inicial durante el primer año y hacer el seguimiento de la aplicación del Código de prácticas hasta el año 2021):
 - establecimiento de procedimientos de supervisión (prioridad 1/viable);
 - encuestas (prioridad 1/viable, a pesar de que la obtención de las respuestas es algo difícil);
 - convocatoria de países piloto con amplia participación y que reflejen las situaciones;
 - evaluación de los países (prioridad 2/viable/costoso);
 - establecimiento de comités nacionales (aduanas, personal de las ONPF, puntos de contacto de la CIPF, sector).
 - Marco de presentación de informes por:
 - el sector (autoseguimiento) (prioridad 1/viable/difícil obtener respuestas y coordinar la presentación de informes);
 - ONPF (prioridad 1/viable/difícil obtener respuestas y coordinar la presentación de informes);
 - ORPF (prioridad 1/viable/difícil obtener respuestas y coordinar la presentación de informes);

- OMA u otras organizaciones internacionales pertinentes (prioridad 1/viable/difícil obtener respuestas y coordinar la presentación de informes).
- Analizar los datos e informar al CADC. El CADC rinde cuentas a la CMF (prioridad 1/viable/costoso) (se requiere personal y bases de datos).
- Proporcionar información sobre los riesgos de plagas de los contenedores marítimos y la gestión de dichos riesgos. En un año, el Grupo de acción debería haber:
 - recopilado y analizado información de alcance mundial relativa a las plagas que se sabe se han introducido en contenedores marítimos y con tierra durante un período de dos años; clasificado las plagas;
 - establecido un comité asesor para el sector;
 - utilizado las medidas disponibles;
 - elaborado modelos de datos y bases de datos;
 - determinado qué datos faltan.
- Programa de sensibilización (prioridad 1/viable/costoso, se necesita un consultor, gastos de publicación, véase el punto 2.3):
 - notificaciones elaboradas para el sector sobre el riesgo de plagas;
 - una gama de posibles medidas de gestión comunicada a las ONPF;
 - difusión a todas las partes interesadas que figuren en la lista establecida;
 - medios: volantes, vídeos, correos electrónicos, página web de Recursos Fitosanitarios, medios de comunicación, redes sociales, conferencias.

Instrumento jurídico, si procede, para los contenedores marítimos:

- elaborar un modelo de instrumento jurídico para la adopción del Código de prácticas para las ONPF (prioridad 1/viable/costoso);
- comunicar a las ONPF el modelo de instrumento jurídico (prioridad 1/viable/costoso);
- hacer un seguimiento de la coherencia con las decisiones adoptadas por la CMF del marco jurídico nacional relativo a los contenedores marítimos si entrara en vigor antes de 2021 (prioridad 1/viable/costoso).

Apéndice 07: Establecimiento y funcionamiento del Grupo de acción sobre contenedores marítimos

I. Gobernanza

1. El Grupo de acción se crea como un órgano de especialistas en el marco del CADC. Rinde cuentas al CADC en la reunión que el Comité celebra cada año en diciembre. El CADC incorpora un informe sobre los progresos realizados con respecto al Plan de acción complementario sobre contenedores marítimos, de carácter prioritario, en su informe anual para la CMF.

II. Funcionamiento

2. El Grupo de acción podría estar en funcionamiento en mayo de 2017, a reserva de que se disponga de financiación. En 2021, el Grupo dejaría de funcionar y la CMF lo disolvería.

3. El Grupo de acción trabaja principalmente mediante reuniones virtuales en línea y comunicaciones en la red. Se podrán convocar reuniones presenciales periódicas según sea necesario.

4. Después de cada reunión se prepararán las actas y un comunicado de la reunión, y se publicarán en el PFI.

III. Establecimiento del Grupo de acción sobre contenedores marítimos

A Composición

5. El Grupo de acción debería estar integrado por representantes de las partes contratantes, ORPF, organizaciones internacionales y especialistas fitosanitarios que ya tengan experiencia pertinente para los riesgos de plagas en contenedores marítimos y la gestión de dichos riesgos.

6. Estos representantes podrán ser:

- hasta tres representantes de las partes contratantes;
- un experto del sector representado por la Asociación de Propietarios de Contenedores;
- dos representantes de organizaciones internacionales:
 - la Organización Mundial de Aduanas (OMA) (gestor del Código de prácticas): la OMA se comunicará con la OMI
 - el Consejo Mundial de Transporte Marítimo
- un experto en contenedores marítimos (Grupo de trabajo de expertos)
- un representante de las ORPF

7. El grupo de miembros fijos, que podrá estar integrado por entre seis y ocho especialistas, se podrá complementar con otros expertos procedentes de ONPF, el Convenio sobre la Diversidad Biológica y la Organización Mundial de Sanidad Animal, cuando se necesiten conocimientos especializados en materia de gestión, experiencia en aplicación y análisis económico y financiero, con vistas a aplicar el Plan de acción.

8. Se designará a uno de los miembros del CADC como administrador del Grupo de acción para garantizar que se establecen vínculos apropiados con el CADC. El administrador deberá asistir a las reuniones del Grupo de acción y hacer de enlace con el CADC. Asimismo, se designaría a un funcionario de la Secretaría de la CIPF como punto de contacto para el tema y se aseguraría que los diferentes órganos rectores de la CIPF se mantienen en contacto y son coherentes entre sí.

B Candidaturas

9. La Secretaría de la CIPF nombra al punto de contacto del Grupo de acción y el CADC designa un administrador.

10. Los miembros del Grupo de acción se podrán captar mediante una convocatoria coordinada por la Secretaría en nombre del CADC. Esto puede aplicarse para una competencia específica o para un miembro fijo del Grupo de acción. Podrán buscarse suplentes para los miembros fijos. Siempre que se necesite publicar una convocatoria de expertos, el CADC establecerá los criterios y recomendará los expertos a la Mesa.

11. Las ORPF podrán coordinar una convocatoria de miembros y un suplente a través del foro de la Consulta técnica entre ORPF o cualquier otro proceso que decidan.

C Selección

12. La Mesa elegirá a los miembros e invitará a especialistas para que participen en el Grupo de acción.

Apéndice 08: Criterios propuestos con respecto a las recomendaciones de la CMF

1. A continuación figuran los principales criterios que se han de tomar en consideración al examinar los temas propuestos para recomendaciones de la CMF:
 - 21) En todos los casos, el tema propuesto debería abordar asuntos que correspondan al marco jurídico de la Convención, a sus normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF) o a los objetivos estratégicos.
 - 22) En la medida de lo posible, el tema propuesto debería:
 1. abordar asuntos importantes relacionados con la sanidad vegetal, bien para promover medidas relativas a una cuestión fitosanitaria específica, bien para atender un asunto más general;
 2. ser pertinente para las necesidades de las partes contratantes, o al menos de la mayoría de ellas;
 3. abarcar cuestiones o medidas en las que las partes contratantes o las organizaciones nacionales o regionales de protección fitosanitaria tengan cierta influencia o autoridad o que posean competencia para tratar;
 4. ofrecer una “orientación” que no sea posible o apropiado ofrecer, por el momento, en forma de norma;
 5. proporcionar orientación y apoyo de carácter práctico para mejorar la aplicación de la convención, de una NIMF concreta o un determinado conjunto de NIMF.

Apéndice 9: Funciones y atribuciones de las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) en su relación con la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF)

- **Las esferas de colaboración entre las ORPF, la CMF y la Secretaría de la CIPF de conformidad con el artículo IX.3 de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) incluyen lo siguiente:**

1. Proceso de establecimiento de normas

- participar en la elaboración de normas, por ejemplo mediante la determinación de temas para estas y la presentación de comentarios durante los períodos de consulta;
- indicar normas regionales que deberían proponerse como base para futuras normas internacionales sobre medidas fitosanitarias (NIMF);
- prestar colaboración y asistencia para hospedar reuniones de establecimiento de normas, según sea apropiado;
- preparar proyectos de documentos explicativos sobre las NIMF conforme al párrafo 111 del informe de la sexta reunión de la CIMF, bajo los auspicios de la Secretaría de la CIPF;
- brindar apoyo técnico y administrativo a los miembros del Comité de Normas;
- participar en las reuniones del Comité de Normas en calidad de ORPF observadoras.

2. Facilitación de la aplicación y desarrollo de la capacidad [o su nuevo nombre/forma]

- organizar [conjuntamente] talleres regionales de la CIPF en sus respectivas regiones;
- facilitar la aplicación de la CIPF y sus NIMF y determinar las dificultades para la aplicación;
- informar a la Consulta técnica entre ORPF sobre los éxitos y dificultades relativos a la implementación de la CIPF y de las NIMF;
- contribuir a evitar y resolver controversias ;
- cooperar con la Secretaría de la CIPF en la ejecución de actividades de desarrollo de la capacidad;
- enviar representantes para que participen en las reuniones del Comité de Desarrollo de la Capacidad (CDC) [o su nuevo nombre/forma];
- contribuir a la aplicación mundial del sistema ePhyto.

3. Comunicaciones

- colaborar con las otras ORPF y con la Secretaría de la CIPF en la disseminación y el intercambio de información mediante, por ejemplo, informes anuales, talleres, cuestionarios, encuestas, proyectos de calendarios y planes de trabajo, publicaciones, sitios web y recursos técnicos.

4. Coordinación y asociación entre ORPF y con la Secretaría de la CIPF

- asistir a las reuniones de la Consulta técnica y la CMF y participar activamente en ellas;
- las ORPF podrán prestar asistencia en la designación de candidatos para integrar la CMF, sus órganos auxiliares y otros órganos;
- asegurar la representación de la ORPF en el Grupo sobre planificación estratégica (GPE) de la CIPF;
- designar a representantes de la ORPF ante órganos y grupos de la CMF, según se requiera;
- participar en iniciativas mundiales, tales como el Año Internacional de la Sanidad Vegetal (AISV) y ePhyto;

- brindar apoyo a los Estados miembros en el cumplimiento de sus obligaciones en el marco de la CIPF en las esferas apropiadas, por ejemplo la notificación de plagas;
- prestar ayuda en la traducción de los documentos de la CIPF;
- cooperar mediante contribuciones en especie con las ORPF o posibles ORPF que soliciten apoyo;
- proporcionar información sobre actividades regionales relacionadas (por ejemplo en materia de normas, reglamentos, etc.);
- cooperar con otras regiones en la organización y participación activa en los talleres regionales de la CIPF y otras actividades de desarrollo de la capacidad;
- proveer recursos técnicos o enlaces apropiados para la página de recursos de la CIPF.

Se invita a la CPM a que:

- 1) *Recuerde* que las ORPF se han establecido en virtud del artículo IX de la CIPF como órganos de coordinación en sus respectivas áreas geográficas;
- 2) *Recuerde* el papel que desempeña la Consulta técnica (CT) entre ORPF en cuanto a abordar los asuntos fitosanitarios que condujeron al texto revisado de la CIPF de 1997 y determinaron la necesidad de establecer la Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias (CIMF);
- 3) *Recuerde* el papel fundamental que compete a las ORPF en la elaboración, actualización y aplicación de la CIPF y las NIMF, tal como se esboza en la Convención y en el Marco estratégico de la CIPF para 2012-2019;
- 4) *Recuerde* que en 2005 la CIMF aprobó recomendaciones acerca de las funciones y atribuciones de las ORPF;
- 5) *Solicite* que la Secretaría de la CIPF, el GPE, el CDC [o su nuevo nombre/forma] y los órganos auxiliares de la CMF continúen colaborando con las ORPF según se contempla en esta versión actualizada de las funciones y atribuciones de las ORPF.
- 6) *Exhorte* a las ORPF a continuar colaborando y fortaleciendo sus asociaciones mutuas y con la Secretaría de la CIPF tal como se contempla en esta versión actualizada de las funciones y atribuciones de las ORPF y en la evaluación de las mejoras realizada por la Secretaría de la CIPF en 2015.
- 7) *Fomente* el papel activo de la Consulta técnica entre ORPF como un mecanismo para facilitar esta colaboración y para brindar aportaciones estratégicas a la Mesa de la CMF y a la CMF.
- 8) *Reconozca* que nada de lo que se indica en esta [decisión] limita ni reemplaza los derechos o las obligaciones de las partes contratantes en el marco de la CIPF.
- 9) *Reconozca* que nada de lo que se indica en esta [decisión] afecta a las funciones de las ORPF ni limita las actividades que estas pueden emprender.
- 10) *Apruebe* la versión revisada de las funciones y atribuciones de las ORPF en su relación con la Comisión de Medidas Fitosanitarias.

Apéndice 10: Mandato del Comité de Aplicación y Desarrollo de la Capacidad (CADC) de la CIPF, un órgano auxiliar de la CMF

Nota explicativa

Cuando se hace referencia a la aplicación se entiende la aplicación de la CIPF, con inclusión de las normas, directrices y recomendaciones adoptadas por la CMF.

1. Finalidad

El CADC elabora y supervisa un programa integrado dirigido a respaldar la aplicación de la CIPF y a reforzar la capacidad fitosanitaria de las partes contratantes, y hace un seguimiento de dicho programa.

2. Ámbito de acción del CADC de la CIPF

El CADC, bajo la orientación de la CMF, supervisa los aspectos técnicos de las actividades con vistas a mejorar las capacidades de las partes contratantes de aplicar la CIPF y cumplir los objetivos estratégicos acordados por la CMF.

El CADC:

- determina y examina la capacidad y las aptitudes mínimas que las partes contratantes necesitan para aplicar la CIPF;
- analiza las cuestiones que entorpecen la aplicación efectiva de la CIPF y encuentra formas innovadoras de abordar los impedimentos;
- elabora un programa de apoyo a la aplicación y facilita su ejecución, con objeto de permitir que las partes contratantes adquieran la capacidad y las aptitudes mínimas, y las superen;
- supervisa y evalúa la eficacia y el impacto de las actividades de ejecución e informa de los progresos realizados al respecto, que indican el estado de la protección fitosanitaria en el mundo;
- supervisa los procesos de prevención y solución de diferencias;
- supervisa los procesos relacionados con las obligaciones nacionales de presentación de información;
- trabaja con la Secretaría, donantes potenciales y la CMF para obtener financiación sostenible para sus actividades.

3. Composición

- El CADC está integrado por 12 expertos con aptitudes y experiencia pertinentes en el ámbito de la aplicación de instrumentos relacionados con cuestiones fitosanitarias o la realización de actividades de desarrollo de la capacidad en esta esfera. La Mesa, teniendo en cuenta el balance de aptitudes y experiencia necesarias, así como la representación geográfica, selecciona y designa a los miembros.
- Además, participa un representante de las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) y uno del Comité de Normas (CN).

4. Funciones

El CADC cumple las funciones siguientes:

i) Programa de trabajo técnico

- Determinar y mantener en examen la capacidad y las aptitudes mínimas que las partes contratantes necesitan para aplicar la CIPF.
- Determinar y proponer estrategias para que las partes contratantes mejoren la aplicación de la CIPF, con inclusión de las obligaciones de presentación de informes nacionales, tomando en consideración sus capacidades y necesidades específicas.

- Examinar los análisis que la Secretaría hace de las dificultades asociadas con la aplicación de la CIPF que afrontan las partes contratantes.
- Sobre la base de un análisis de los resultados de las actividades mencionadas, recomendar prioridades a la CMF.
- Determinar y evaluar nuevas tecnologías que puedan mejorar la aplicación.
- Supervisar y evaluar las medidas de conformidad con el Marco estratégico de la CIPF, otras estrategias, marcos y planes de trabajo conexos.

ii) Gestión eficaz y eficiente del CADC

- Elaborar, acordar y mantener un plan de trabajo que esté en consonancia con las prioridades de la CMF.
- Elaborar los procedimientos y criterios para la generación, supervisión y aprobación de recursos técnicos para la aplicación.
- Establecer, supervisar y disolver los subgrupos, emprendiendo tareas y actividades específicas.
- Pedir asesoramiento u observaciones sobre asuntos pertinentes para su programa de trabajo a los grupos técnicos (por conducto del CN) y a otros grupos u organizaciones que prestan asistencia a la CIPF.
- Examinar periódicamente sus funciones, procedimientos y resultados.
- Supervisar y evaluar la eficacia de sus actividades y productos.

iii) Trabajar con la Secretaría

- Elaborar y gestionar proyectos que contribuyan a lograr las prioridades en materia de aplicación acordadas por la CMF.
- Brindar orientación sobre las actividades de aplicación y desarrollo de la capacidad, para su inclusión en el plan de trabajo de la Secretaría.
- Evaluar la inclusión en el Portal fitosanitario internacional (PFI) o en el sitio web sobre recursos fitosanitarios, según proceda, de recursos técnicos pertinentes para desarrollar la capacidad de aplicar la CIPF, y conceder carácter prioritario a dicha inclusión.
- Promover la prevención de diferencias como un resultado de la aplicación eficaz.
- Supervisar el proceso de solución de diferencias cuando sea necesario.
- Contribuir en el desarrollo y el mantenimiento de relaciones con los donantes, asociados y otras organizaciones públicas o privadas interesadas en la aplicación y el desarrollo de capacidad en el ámbito fitosanitario.

iv) Trabajar con otros órganos auxiliares

- Trabajar en estrecha colaboración con el CN para lograr que el establecimiento y la aplicación de normas sean complementarios y eficaces.
- Examinar anualmente el Marco para las normas y la aplicación, y recomendar cambios a la CMF por conducto del SPG.
- Trabajar con otros órganos auxiliares y ORPF en relación con los ámbitos de interés mutuo.

v) Medidas indicadas por la CMF

- Contribuir a la puesta en marcha de la Estrategia de comunicación de la CIPF.
- Supervisar los órganos que haya establecido la CMF y que se hayan confiado al CADC.
- Desempeñar otras funciones que indique la CMF.
- Informar a la CMF sobre sus actividades.

5. Relación con la Secretaría de la CIPF

- La Secretaría se encarga de coordinar la labor del CADC y de proporcionar apoyo administrativo, editorial, operativo y técnico. Asimismo, asesora al CADC sobre la disponibilidad y el uso de recursos financieros y de personal.

6. Relación con el CN

El CADC colabora con el CN sobre la base de planes de trabajo para la aplicación de la CIPF que son coherentes entre sí. Esta colaboración tendrá lugar a varios niveles (por ejemplo, la Secretaría, los Presidentes, los miembros, los administradores y los subgrupos). El CADC incluye un representante del CN y también selecciona a un representante para la participación en las reuniones del CN. Los temas de colaboración serán como mínimo:

- La coherencia de los programas de trabajo
- La elaboración de planes de aplicación de las normas
- El análisis de la respuesta a las convocatorias de presentación de temas y cuestiones que han de abordarse
- El examen del Marco para las normas y la aplicación
- La elaboración y ejecución de proyectos conjuntos

7. Relación con las ORPF

Las ORPF aportan una perspectiva regional sobre las cuestiones, los desafíos y el contexto regional en el que trabajan que afectan a las partes contratantes y sus organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF). Asimismo, prestan apoyo a las partes contratantes para que mejoren sus capacidades y aptitudes fitosanitarias. El CADC incluye un representante de las ORPF. Los ámbitos de colaboración son:

- El intercambio de proyectos de programas de trabajo
- El intercambio de recursos técnicos e información
- La determinación y provisión de expertos
- La coordinación de actividades y actos, como los talleres regionales de la CIPF
- La elaboración y ejecución de proyectos conjuntos

Reglamento del Comité de Aplicación y Desarrollo de la Capacidad (CADC) de la CIPF, un órgano auxiliar de la CMF

Norma 1. Composición

El CADC se compone de 12 miembros más un representante de las ORPF y otro del CN de la CIPF. Los miembros se seleccionan en función del balance de conocimientos especializados y teniendo en cuenta que debe haber al menos uno de cada región de la FAO y que deben estar representados los países en desarrollo. Los miembros deberían tener experiencia en la aplicación de instrumentos relacionados con cuestiones fitosanitarias o en el desarrollo de la capacidad, y serán seleccionados y nombrados por la Mesa de la CMF.

Las Consultas técnicas que se llevan a cabo entre las ORPF y en el CN designarán cada una un representante en el CADC por medio de sus propios procesos.

Los miembros y representantes actuarán con la máxima integridad, imparcialidad e independencia, evitarán los posibles conflictos de interés que pudieran surgir en el desempeño de sus funciones, e informarán por anticipado al respecto. En caso de que surgiera un conflicto de interés, lo resolverá la Mesa.

Norma 2. Requisitos que deberán reunir los miembros

Las candidaturas a ser miembros deberán contener pruebas documentales de su experiencia en materia de aplicación y desarrollo de la capacidad. Esta experiencia debería ser al menos una de las siguientes:

- experiencia demostrada en la gestión de los sistemas fitosanitarios;

- experiencia demostrada en la realización de actividades de desarrollo de la capacidad fitosanitaria;
- conocimientos profundos de la CIPF y las NIMF;
- experiencia en la aplicación de los reglamentos fitosanitarios;
- Otros conocimientos específicos, cualificaciones o experiencia, por ejemplo, en la elaboración y prestación de capacitación.

Las personas designadas también deberán tener un nivel de inglés que les permita participar activamente en las reuniones y debates del CADC.

Norma 3. Procedimiento para la selección de los miembros

La Secretaría anunciará una convocatoria para seleccionar miembros cuando se produzcan vacantes. Las candidaturas a ser miembros, que comprenderán información de apoyo y una carta de compromiso tal como se especifica en la convocatoria, las podrán presentar oficialmente las partes contratantes y las ORPF.

La Mesa de la CMF examinará las candidaturas teniendo en cuenta la lista de requisitos descritos en la Norma 2.

Los miembros ejercen sus funciones por un mandato de tres años que podrá renovarse si así lo acepta la Mesa de la CMF.

Norma 4. Suplentes y miembros sustitutos: Se debería nombrar al menos un suplente para cada región de la FAO mediante el proceso de selección detallado en la Norma 3 que ejerza sus funciones por un mandato de tres años, prorrogable de conformidad con dicha Norma.

Un suplente podrá asistir a una reunión del CADC en lugar de un miembro que no pueda hacerlo.

Si un miembro dimita, deja de cumplir los requisitos que se establecen en estas Normas para ser miembro o no asiste a dos reuniones consecutivas del CADC, será sustituido. La sustitución será decidida por la Mesa manteniendo el balance de conocimientos y la necesidad de tener al menos un miembro de cada región de la FAO. El sustituto ejercerá sus funciones por un mandato de tres años a comenzar desde el momento del nombramiento.

Norma 5. Presidente y Vicepresidente

El Presidente y el Vicepresidente del CADC son elegidos por sus miembros y ejercen sus funciones por un mandato de tres años con la posibilidad de ser reelegidos como máximo por otros dos mandatos si así lo acepta la Mesa de la CMF.

Norma 6. Reuniones

El CADC celebrará dos reuniones presenciales al año. Se podrán celebrar otras reuniones cuando sea necesario, siempre que se disponga de personal y recursos financieros. Las reuniones del CADC también podrán celebrarse por medios electrónicos, que incluyen la videoconferencia y teleconferencia, según sea necesario.

El quórum para celebrar las reuniones estará constituido por una mayoría de miembros.

Norma 7. Observadores y participación de expertos invitados en las reuniones del CADC

Sin perjuicio de lo dispuesto en el párrafo siguiente, las reuniones del CADC serán abiertas, de conformidad con las normas y procedimientos aplicables de la FAO y la CMF.

El CADC podrá establecer que determinadas reuniones, o parte de las mismas, se realicen sin observadores, en consideración de la sensibilidad o confidencialidad del tema.

Previo acuerdo de los miembros del CADC, o en respuesta a una petición de los mismos, la Secretaría podrá invitar, en calidad de observadores, a individuos o representantes de organizaciones con conocimientos específicos a participar en una determinada reunión o parte de ella.

Norma 8. Órganos establecidos por la CMF

La supervisión del CADC se podrá confiar a un órgano auxiliar establecido por la CMF. Estos órganos tendrán sus propios mandatos y reglamentos, que la CMF habrá acordado durante el establecimiento de los mismos.

Norma 9. Subgrupos del CADC

Con sujeción a la disponibilidad de recursos financieros, el CADC podrá establecer subgrupos para abordar determinados asuntos relacionados con la aplicación y el desarrollo de la capacidad. Asimismo, determinará las tareas, la duración, la composición y las obligaciones de rendición de cuentas de estos subgrupos en sus mandatos.

El CADC podrá disolver los subgrupos cuando dejen de ser necesarios.

Norma 10. Toma de decisiones

El CADC se esforzará por tomar decisiones sobre la base de un consenso entre los miembros.

Las situaciones en las que no pueda alcanzarse el consenso necesario se detallarán en los informes de las reuniones expresando todas las posiciones que se mantengan y se presentarán a la CMF para que las examine y adopte las medidas que correspondan.

Norma 11. Presentación de informes

El CADC presentará informes a la CMF.

Apéndice 11: Agradecimientos relativos a las actividades de elaboración de normas

Se agradece a los expertos de los grupos de redacción su activa contribución a la elaboración de las siguientes NIMF, o anexos de NIMF, adoptados en 2016/2017:

1. NIMF 38: *Movimiento internacional de semillas (2009-003)*

País	Experto/a	Función
Alemania	Sr. Thomas Schröder	Miembro del GTCF
Argentina	Sr. Ezequiel FERRO	Administrador adjunto (2014-11)
Australia	Sr. Bruce HANCOCKS	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Australia	Sr. David PORRITT	Administrador (2010-04) y administrador adjunto (2012-04)
Brasil	Sr. Edson Tadeu IEDE	Miembro del GTCF
Camerún	Sra. Alice Ntoboh Siben NDIKONTAR	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Camerún	Sr. Marcel BAKAK	Administrador adjunto (2011-05)
Canadá	Sr. Eric ALLEN	Miembro en calidad de Presidente del Grupo Internacional de Investigaciones sobre Cuarentena Forestal
Canadá	Sra. Marie-Claude FOREST	Miembro del GTCF
Canadá	Sr. Shane SELA	Miembro del GTCF
Chile	Sr. Juan Pablo LÓPEZ	Representante del anfitrión
Chile	Sr. Marcos Beéche CISTERNAS	Miembro del GTCF
Chile	Sra. Soledad CASTRO DOROCHESSI	Administradora (2012-04) y administradora adjunta (2013-11)
China	Sr. Lifeng WU	Miembro del GTCF
China	Sra. Wenxia ZHAO	Representante del anfitrión
China	Sr. Yuejin WANG	Representante del organizador
Estados Unidos de América	Sr. Edward PODLECKIS	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Estados Unidos de América	Sr. John Tyrone JONES	Miembro del GTCF
Estados Unidos de América	Sra. Marina ZLOTINA	Miembro del GTCF
Estados Unidos de América	Sra. Julie ALIAGA	Administradora (2013-11) y administradora adjunta (2012-11)

País	Experto/a	Función
Francia	Sra. Valérie GRIMAUULT	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Ghana	Sr. Joseph Mireku ASOMANING	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Ghana	Sr. Victor AGYEMAN	Miembro del GTCF
Italia	Sr. Lucio MONTECCHIO	Miembro del GTCF
Japón	Sr. Masahiro SAI	Miembro del Grupo de trabajo de expertos y del GTCF
Japón	Sr. Motoi SAKAMURA	Administrador adjunto (2012-11)
Noruega	Sr. Sven Christer MAGNUSSON	Miembro del GTCF
Nueva Zelandia	Sr. Michael ORMSBY	Miembro del GTCF
Países Bajos	Sr. Gerard MEIJERINK	Experto invitado
Países Bajos	Sr. Corné VAN ALPHEN	Representante del organizador
Países Bajos	Sr. Nico HORN	Representante del anfitrión
Países Bajos	Sr. Nico HORN	Administrador (2015-05)
Paraguay	Sra. Ana PERALTA	Representante del organizador
Polonia	Sr. Krzysztof SUPRUNIUK	Miembro del GTCF
Polonia	Sr. Piotr WLODARCZYK	Miembro del GTCF
República de Corea	Sra. Mi Chi YEA	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Sudáfrica	Sra. Phindile N.B. NGESI	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Zambia	Sr. Arundel SAKALA	Administrador (2008-11)

2. Anexo 1, Acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador (2005-003), de la NIMF 20 (Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones)

País	Experto/a	Función
Argentina	Sr. Ezequiel FERRO	Administrador (2016-05)
Australia	Sr. Bart ROSSEL	Administrador adjunto (2012-04)
Brasil	Sr. Gilvio Westin COSENZA	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Canadá	Sra. Marie-Claude FOREST	Administradora (2012-04)
Chile	Sra. Sylvia Soledad FERRADA Chamorro	Miembro del Grupo de trabajo de expertos

País	Experto/a	Función
Chile	Sra. Soledad CASTRO DOROCHESI	Administradora adjunta (2012-04)
Estados Unidos de América	Sr. Paul Gerard MCGOWAN	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Francia	Sra. Clara PACHECO	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
México	Sra. Ana Lilia MONTEALEGRE	Administradora adjunta (2012-11)
Nueva Zelanda	Sr. Wayne HARTLEY	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Nueva Zelanda	Sr. Stephen BUTCHER	Administrador adjunto (2012-11)
República de Corea	Sra. Kyu-Ock KIM	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Sudáfrica	Sr. Mike HOLTZHAUSEN	Administrador (2005-04) y administrador adjunto (2012-04)
Zambia	Sr. Kenneth M'SISKA	Representante del anfitrión
Zambia	Sr. Arundel SAKALA	Administrador adjunto (2008-11)

3. NIMF 39: *Movimiento internacional de madera (2006-029)*

País	Experto/a	Función
Alemania	Sr. Thomas SCHRÖDER	Miembro del GTCF
Brasil	Sr. Edson Tadeu IEDE	Miembro del GTCF
Canadá	Sr. Eric ALLEN	Miembro del GTCF
Canadá	Sr. Shane SELA	Miembro del GTCF
Canadá	Sr. Greg WOLFF	Administrador (2006-05) y administrador adjunto 2009-11)
Canadá	Sra. Marie-Claude FOREST	Administradora (2009-11) y administradora adjunta del GTCF (2014-11)
Canadá	Sr. Rajesh RAMARATHAM	Administrador (2016-05)
Chile	Sr. Marcos Beéche CISTERNAS	Miembro del GTCF
Chile	Sr. Fuxiang WANG	Miembro del GTCF
Chile	Sr. Juan Pablo LÓPEZ	Representante del anfitrión
China	Sr. Yuejin WANG	Representante del organizador
China	Sr. Wenxia ZHAO	Representante del anfitrión
China	Sr. Yuejin WANG	Representante del organizador
China	Sra. Wenxia ZHAO	Representante del anfitrión
China	Sr. Fuxiang WANG	Miembro del GTCF

País	Experto/a	Función
China	Sr. Lifeng WU	Administrador adjunto del GTCF (2016-05)
Estados Unidos de América	Sra. Marina ZLOTINA	Administradora del GTCF (2016-05)
Estados Unidos de América	Sra. Julie ALIAGA	Administradora del GTCF (2012-04)
Ghana	Sr. Victor AGYEMAN	Miembro del GTCF
India	Sr. D. D. K. SHARMA	Administrador adjunto (2013-05)
Japón	Sr. Mamoru MATSUI	Miembro del GTCF
Noruega	Sr. Christer MAGNUSSON	Miembro del GTCF y administrador adjunto (2017-11)
Paraguay	Sr. Juan Pablo LÓPEZ	Representante del anfitrión
Paraguay	Sra. Ana PERALTA	Representante del organizador
Polonia	Sr. Piotr WLODARCZYK	Administrador (2014-11) y administrador adjunto (2012-11) del GTCF

4. NIMF 40: *Movimiento internacional de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar (2005-004)*

País	Experto/a	Función
Alemania	Sr. Bjoern Niere	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Australia	Sra. Barbara Hall	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Brasil	Sr. Jesulindo DE SOUZA	Administrador adjunto (2016-05)
Canadá	Sra. Barbara Peterson	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Canadá	Sr. Dominique Pelletier	Representante del anfitrión
Canadá	Sra. Rebecca Lee	Representante del organizador
Canadá	Sra. Marie-Claude FOREST	Administradora (2008-11)
Chile	Sra. Eliana Bobadilla	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Estados Unidos de América	Sra. Carissa Marasas	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Indonesia	Sr. Antarjo DIKIN	Administrador adjunto (2012-11)
Irán	Sr. Mohammad Reza ASGHARI	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Jordania	Sr. Mohammad KATBEH-BADER	Administrador (2005-04)
México	Sra. Ana Lilia MONTEALEGRE	Administradora (2016-05) y administradora adjunta (2013-11)
Noruega	Sra. Hilde PAULSEN	Administradora (2012-11) y administradora adjunta (2016-05)

5. NIMF 41: Movimiento internacional de vehículos, maquinaria y equipos usados (2006-004)

País	Experto/a	Función
Argentina	Sr. Guillermo ROSSI	Administrador (2009-05)
Australia	Sr. Adam BROADLEY	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Brasil	Sr. Alexandre PALMA	Administrador (2015-05) y administrador adjunto (2012-11)
Chile	Sr. Álvaro SEPÚLVEDA LUQUE	Administrador (2015-11) y administrador adjunto (2015-05)
Estados Unidos de América	Sr. Tim N. STEVENS	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Finlandia	Sr. Ralf Lothar LOPIAN	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Islas Cook	Sr. Ngatoko NGATOKO	Administrador (2012-11)
Nigeria	Sr. Gabriel ADEJARE	Administrador (2007-05)
Nueva Zelanda	Sra. Melanie Jane NEWFIELD	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Papua Nueva Guinea	Sr. Pere KOKOA	Administrador adjunto (2015-11)
República de Corea	Sr. Jae-Seung LEE	Miembro del Grupo de trabajo de expertos
Uganda	Sr. Robert KARYEIJA	Administrador (2007-11)

NIMF elaboradas por el Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios como anexos de la NIMF 28 (Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas)

Administradores del Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios:

País	Administrador/a
Indonesia	Sr. Antarjo DIKIN
Australia	Sr. Bart ROSSEL

6. TF 22: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra insectos en madera descortezada (2007-101A)

País	Experto/a	Función
Nueva Zelanda	Sr. Mike ORMSBY	Experto principal del tratamiento

7. TF 23: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra nematodos e insectos en madera descortezada (2007-101B)

País	Experto/a	Función
Nueva Zelanda	Sr. Mike ORMSBY	Experto principal del tratamiento

8. TF 24: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus sinensis* (2007-206A)

País	Experto/a	Función
Sudáfrica	Sra. Alice BAXTER	Experta principal del tratamiento
Argentina	Sr. Eduardo WILLINK	Experto principal del tratamiento
Estados Unidos de América	Sr. Scott MYERS	Experto principal adjunto del tratamiento

9. TF 25: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata* x *C. sinensis* (2007-206B)

País	Experto/a	Función
Estados Unidos de América	Sr. Scott WOOD	Experto principal del tratamiento
Estados Unidos de América	Sr. Patrick GOMES	Experto principal del tratamiento
Argentina	Sr. Eduardo WILLINK	Experto principal del tratamiento
Nueva Zelandia	Sr. Mike ORMSBY	Experto principal adjunto del tratamiento

10. TF 26: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus limon* (2007-206C)

País	Experto/a	Función
China	Sr. Yuejin WANG	Experto principal del tratamiento
Nueva Zelandia	Sr. Mike ORMSBY	Experto principal adjunto del tratamiento

11. TF 27: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus paradisi* (2007-210)

País	Experto/a	Función
Estados Unidos de América	Sr. Scott WOOD	Experto principal del tratamiento
Estados Unidos de América	Sr. Patrick GOMES	Experto principal del tratamiento
China	Sr. Daojian YU	Experto principal del tratamiento
Estados Unidos de América	Sr. Scott MYERS	Experto principal adjunto del tratamiento

12. TF 28: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata* (2007-212)

País	Experto/a	Función
Nueva Zelandia	Sr. Mike ORMSBY	Experto principal del tratamiento

13. TF 29: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus clementina* (2010-102)

País	Experto/a	Función
Reino Unido	Sr. Ray CANNON	Experto principal del tratamiento
Australia	Sr. Andrew JESSUP	Experto principal del tratamiento
Argentina	Sr. Eduardo WILLINK	Experto principal del tratamiento
Estados Unidos de América	Sr. Guy HALLMAN	Experto principal adjunto del tratamiento

14. TF 30: Tratamiento térmico mediante vapor contra *Ceratitis capitata* en *Mangifera indica* (2010-106)

País	Experto/a	Función
(EE.UU./OIEA)	Sr. Guy HALLMAN	Experto principal del tratamiento
República de Corea	Sr. Min-Goo PARK	Experto principal del tratamiento
Estados Unidos de América	Sr. Scott WOOD	Experto principal del tratamiento

15. TF 31: Tratamiento térmico mediante vapor contra *Bactrocera tryoni* en *Mangifera indica* (2010-107)

País	Experto/a	Función
(EE.UU./OAEA)	Sr. Guy HALLMAN	Experto principal del tratamiento

NIMF elaboradas por el GTTF como anexos de la NIMF 27 (*Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas*)

Administradores del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico:

País	Administrador/a
Alemania	Sr. Jens-Georg UNGER
Reino Unido	Sra. Jane CHARD

16. PD 13: *Erwinia amylovora* (2004-009)

País	Experto/a	Función
España	Sra. María M. López GONZÁLEZ	Autora principal
Nueva Zelanda	Sr. Robert Taylor	Coautor
Australia	Sr. Brendan RODONI	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Canadá	Sr. Delano James	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Canadá	Sr. Solke H. de Boer	Experto

País	Experto/a	Función
Canadá	Sr. Won-Sik Kim	Experto
Alemania	Sr. Klaus Geider	Experto
Alemania	Sra. Annette Wensing	Experta
España	Sr. J. Peñalver	Experto
España	Sra. M. T. Gorris	Experto
España	Sr. P. Llop	Experto
España	Sr. Mariano Cambra	Experto
Estados Unidos de América	Sr. Roberts	Experto
Estados Unidos de América	Sr. Larry Pusey	Experto
Estados Unidos de América	Sra. Virginia Stockwell	Experta

17. PD 14: *Xanthomonas fragariae* (2004-012)

País	Experto/a	Función
Estados Unidos de América	Sr. Ed CIVEROLO	Autor principal
España	Sra. María M. López GONZÁLEZ	Coautora
Reino Unido	Sr. John ELPHINSTONE	Coautor
Nueva Zelandia	Sr. Robert TAYLOR	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Países Bajos	Sr. Hans DE GRUYTER	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Canadá	Sr. Solke H. DE BOER	Experto
Canadá	Sr. Stephan BRIERE	Experto

18. PD 15: *Virus de la tristeza de los cítricos* (2004-021)

País	Experto/a	Función
España	Sr. Mariano CAMBRA	Autor principal
Sudáfrica	Sr. Stephanus Petrus	Coautor
Estados Unidos de América	Sra. Marta Isabel Mastalli	Coautora
Estados Unidos de América	Sra. Laurene LEVY	Coautora

País	Experto/a	Función
Canadá	Sr. Delano JAMES	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Australia	Sr. Brendan RODONI	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Brasil	Sr. Edson BERTOLINI	Experto
Sudáfrica	Sr. S. P. Fanie van Vuuren	Experto
Uruguay	Sra. M. I. Francis	Experta

19. PD 16: Género *Liriomyza* 2006-017

País	Experto/a	Función
Australia	Sr. Mallik MALIPATIL	Autor principal
Australia	Sr. Mark Blacket	Coautor
Reino Unido	Sr. Dominique COLLINS	Coautor
Jamaica	Sra. Juliet GOLDSMITH	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Estados Unidos de América	Sr. Norman Barr	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Australia	Sr. Anthony Rice	Experto
Japón	Sr. Ren Iwaizumi	Experto
Letonia	Sra. Ramona Vaitkevica	Experta
Estados Unidos de América	Sr. Stephen Gaimari	Experto

20. PD 17: *Aphelenchoides besseyi*, *A. ritzemabosi* y *A. fragariae* (2006-025)

País	Experto/a	Función
Estados Unidos de América	Sr. Fengru ZHANG	Autor principal
China	Sr. Xie HUI	Coautor
Sudáfrica	Sr. Rinus KNOETZE	Coautor
Reino Unido	Sra. Sue HOCKLAND	Coautora
Francia	Sra. Géraldine ANTHOINE	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)

País	Experto/a	Función
Países Bajos	Sr. Hans DE GRUYTER	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)

21. PD 18: *Anguina spp.* (2013-003)

País	Experto/a	Función
Estados Unidos de América	Sra. Andrea Skantar	Autora principal
Reino Unido	Sr. Thomas Prior	Coautor
Reino Unido	Sr. Colin Fleming	Coautor
Francia	Sra. Géraldine ANTHOINE	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Nueva Zelanda	Sr. Robert TAYLOR	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Kenya	Sra. Pamela Kibwage	Experta
Polonia	Sr. Witold Karnkowski	Experto
España	Sr. Juan Antonio Lezaun	Experto

22. PD 19: *Xanthomonas fragariae* (2006-027)

País	Experto/a	Función
China	Sr. Qiang SHENG	Autor principal
Turquía	Sr. Ahmet ULUDAG	Coautor
Estados Unidos de América	Sr. Rodney YOUNG	Coautor
China	Sra. Yin Linping	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Francia	Sra. Géraldine ANTHOINE	Revisora (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Canadá	Sra. Cheryl DOLLARD	Experta
Canadá	Sra. Ruoqing WANG	Experta
China	Sr. Yonghong Zhou	Experto
China	Sra. Jianqiu Zou	Experta
China	Sra. Xiuling Shao	Experta

País	Experto/a	Función
China	Sr. Guoqi Chen	Experto
China	Sr. Hongjie Xie	Experto
China	Sr. Fuxiang WANG	Experto

23. PD 20: *Dendroctonus ponderosae* (2006-019)

País	Experto/a	Función
Australia	Sra. Linda Semeraro	Autora principal
Brasil	Sr. Edson Tadeu IEDE	Coautor
Canadá	Sr. Hume Douglas	Coautor
Francia	Sr. Jean-Francois Germain	Coautor
Países Bajos	Sra. Brigitta Wessels-Berk	Coautora
Estados Unidos de América	Sr. Norman BARR	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Francia	Sra. Géraldine ANTHOINE	Revisora (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)

24. PD 21: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (2013-001)

País	Experto/a	Función
Nueva Zelanda	Sra. Lia W. LIEFTING	Autora principal
España	Sra. María M. López GONZÁLEZ	Coautora
Estados Unidos de América	Sr. Joseph MUNYANEZA	Coautor
Nueva Zelanda	Sr. Robert TAYLOR	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Australia	Sr. Brendan RODONI	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)

25. PD 22: *Fusarium circinatum* (2006-021)

País	Experto/a	Función
Reino Unido	Sra. Ana Pérez-Sierra	Autora principal
Francia	Sr. Renaud loos	Coautor
Kenya	Sr. James Wanjohi MUTHOMI	Coautor

País	Experto/a	Función
Corea del Sur	Sr. Ik-Hwa HYUN	Coautor
Países Bajos	Sr. Hans DE GRUYTER	Especialista en la materia (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Nueva Zelanda	Sr. Robert Taylor	Revisor (miembro del Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico)
Australia	Sra. Jacqueline Edwards	Experta
Kenya	Sr. William Muiru	Experto
España	Sra. Mónica Berbegal Martínez	Experta

Apéndice 12: Procedimiento de los grupos de revisión lingüística

Convenido por la Comisión en su quinta reunión (CMF-5) (2010) y revisado por la CMF-6 (2011), la CMF-8 (2013) y la CMF-11 (2017)

Procedimiento para corregir errores en las normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF) en idiomas distintos del inglés después de la adopción

1. Se invita a representantes de las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) y de las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) de cada grupo lingüístico de la FAO distinto del inglés a organizar un grupo de revisión en el idioma correspondiente para estudiar las preferencias en el uso terminológico y señalar los errores de redacción y formato resultantes de las traducciones. Se pide a los grupos de revisión que designen un coordinador para sus comunicaciones con la Secretaría, describan la forma en que organizarán las comunicaciones en el seno del grupo (por ejemplo, mediante teleconferencias, intercambio de documentos, etc.), expliquen su estructura y respondan a las preguntas de los miembros sobre la forma de participar en los grupos de revisión. Cada grupo debería invitar a participar a un representante del grupo de traducción apropiado de la FAO y a los miembros respectivos del GTG para el idioma correspondiente, con objeto de asegurar una comprensión clara de la problemática del grupo de revisión.
2. Una vez establecido y reconocido por la Secretaría, se invita a cada grupo de revisión a revisar las NIMF adoptadas y a presentar observaciones, indicadas con marcas de revisión, sobre preferencias terminológicas, errores editoriales y de formato a la Secretaría por conducto del coordinador designado al efecto en el plazo máximo de tres meses después de que se les haya notificado la publicación de las NIMF adoptadas en el PFI (<https://www.ippc.int/es/>); el plazo para cada idioma comienza una vez que la NIMF se ha publicado en el PFI en ese idioma.
3. Los servicios de traducción de la FAO podrán participar como miembros de los grupos de revisión, pero toda comunicación oficial sobre los cambios propuestos en las NIMF debería proceder del coordinador del grupo de revisión pertinente y remitirse al Secretario de la CIPF (ippc@fao.org) con el fin de mantener el control sobre las versiones de las normas.
4. En caso de que no se reciban observaciones, la versión definitiva sería la adoptada por la CMF.
5. En caso de que los coordinadores de los grupos de revisión presenten observaciones a través del procedimiento anterior, la Secretaría las remitirá, indicadas con marcas de revisión, a los servicios de traducción de la FAO.
6. Los servicios de traducción de la FAO examinarán los cambios propuestos. En caso de que todos los cambios propuestos sean aceptables para los servicios de traducción de la FAO, la versión de la NIMF con marcas de revisión elaborada por el grupo de revisión de que se trate se remitirá a la Secretaría. Si los servicios de traducción de la FAO están en desacuerdo con los cambios propuestos por el grupo de revisión, documentarán los motivos y mantendrán consultas con el grupo a fin de examinar las discrepancias y tratar de lograr un consenso.
7. Las observaciones sobre la traducción de términos del glosario se transmitirán al Grupo técnico sobre el glosario (GTG) por conducto del CN, puesto que pueden dar lugar a cambios consiguientes en numerosas NIMF. La Secretaría se ocupará de las cuestiones de formato.
8. En el programa de la CMF figurará un tema permanente destinado a la verificación señalar la modificación de normas específicas.
- 9.

Si desea más información sobre los grupos de revisión en los idiomas, visite el PFI:

<https://www.ippc.int/en/core-activities/governance/standards-setting/ispms/language-review-groups/>

Apéndice 13: “Realizaciones” y “logros del Año Internacional de la Sanidad Vegetal” propuestos

Objetivo	Realización	Logro
1. Sensibilizar a la opinión pública y las autoridades políticas a escala mundial, regional y nacional con respecto a la sanidad vegetal.	<ul style="list-style-type: none"> Más autoridades políticas y órganos de decisión de otros ámbitos conocen el tema de la sanidad vegetal. 	<ol style="list-style-type: none"> Aumenta el cumplimiento de la CIPF y sus normas. Aumenta el número de países que elaboran o actualizan marcos jurídicos nacionales para la sanidad vegetal (mediante las obligaciones de presentación de informes nacionales), lo que queda reflejado en las políticas agrícolas de los países. Adopción de políticas regionales sobre la importancia de la sanidad vegetal por las conferencias ministeriales regionales.
	<ul style="list-style-type: none"> La opinión pública está sensibilizada respecto de la sanidad vegetal. 	<ol style="list-style-type: none"> La opinión pública actúa de forma responsable.
	<ul style="list-style-type: none"> Establecimiento del 6 de diciembre como Día Internacional de la Sanidad Vegetal. 	<ol style="list-style-type: none"> Sigue aumentando la sensibilización acerca de la sanidad vegetal.
2. Promover e intensificar los esfuerzos nacionales, regionales y mundiales en el ámbito de la sanidad vegetal y sus recursos en vista del aumento del comercio y los riesgos de nuevas plagas ocasionados por el cambio climático.	<ul style="list-style-type: none"> Aumento de los recursos para la sanidad vegetal. Intensificación de las actividades de creación de capacidad. Refuerzo de las disciplinas relacionadas con la sanidad vegetal. 	<ol style="list-style-type: none"> Adopción de un marco estratégico mundial para la sanidad vegetal que se ajuste a la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Aumento del número de países con expertos nacionales que participan activamente en las reuniones regionales sobre protección fitosanitaria. Todas las regiones tienen una ORPF. Aumento de los presupuestos para prestar servicios fitosanitarios a escala nacional, regional y mundial. Creación de un mecanismo financiero sostenible para la CIPF. Mejor uso de nuevas técnicas de control y gestión de plagas de las plantas. Aumento de la disponibilidad de conocimientos especializados en materia de taxonomía y diagnóstico. Aplicación de nuevas tecnologías para la facilitación del comercio (como ePhyto).
3. Educar a la opinión pública y mejora de sus conocimientos sobre sanidad vegetal.	<ul style="list-style-type: none"> La opinión pública tiene conocimientos en materia de sanidad vegetal. 	<ol style="list-style-type: none"> Los sistemas educativos incorporan cuestiones de sanidad vegetal. Aumento de la presencia de las cuestiones fitosanitarias en los programas académicos.
4. Intensificar el diálogo y la participación de los interesados en la sanidad vegetal.	<ul style="list-style-type: none"> Refuerzo de las asociaciones público-privadas en cuestiones de sanidad vegetal a escala nacional, regional y mundial. 	<ol style="list-style-type: none"> Más partes interesadas conocen la importancia y los beneficios de los sistemas de sanidad vegetal.
5. Mejorar la información sobre la situación de la protección fitosanitaria en el mundo.	<ul style="list-style-type: none"> Se dispone de información sobre la situación de la protección fitosanitaria en el mundo. 	<ol style="list-style-type: none"> Adopción y publicación del “Examen de la situación de la protección fitosanitaria en el mundo” (artículo 11.2 a) de la CIPF). Mejora y aplicación de sistemas de alerta de plagas.

6. Facilitar el establecimiento de asociaciones en pro de la sanidad vegetal a escala nacional, regional y mundial.	<ul style="list-style-type: none">• Establecimiento de asociaciones sobre sanidad vegetal a escala nacional, regional y mundial.	<ol style="list-style-type: none">a. Mejor estructura de las redes internacionales relacionadas con la sanidad vegetal.b. Aumento del vínculo entre los sistemas de sanidad vegetal y las organizaciones que trabajan en cuestiones relacionadas con el cambio climático, la protección del medio ambiente y el control fronterizo.c. Mejora de la colaboración funcional con la comunidad de investigación.
--	--	--

Apéndice 14: Contribuciones al Fondo fiduciario de la CIPF de donantes múltiples frente a los gastos (en USD) correspondientes a 2016

Contribuciones	2004-13*	2014	2015	2016
Australia		139 695	-	150 000
Canadá		337 255	-	-
Francia		-	-	25 000
Irlanda		-	27 352	-
Japón		28 500	40 000	-
Nueva Zelandia		-	100 000	38 929
Países Bajos		50 000	-	-
República de Corea		100 000	162 597	311 126
Sudáfrica		-	137 642	-
Suecia		70 000	-	-
EE.UU/NAPPO		-	-	140 000
Otros		3 381	2 619	1 343
Total	2 938 606	728 831	470 210	666 398

Gastos por tipo de gasto**	2004-13*	2014	2015	2016
Personal profesional y de Servicios Generales		240 328	630 182	237 082
Consultores		81 381	15	-
Viajes		90 316	618	-
Contratos		92 626	89 400	-
Otros		48 372	43 437	14 224
Total	2 137 308	553 023	763 652	251 306

Gastos por actividad fundamental**	2004-13*	2014	2015	2016
Gobernanza, administración y estrategia de la CIPF		279 453	168 389	-
Establecimiento de normas		38 261	16 068	-
Facilitación de la aplicación		235 309	579 195	251 306
Total	2 137 308	53 023	763 652	251 306

Saldo	801 298	977 106	683 664	1 098 756
--------------	----------------	----------------	----------------	------------------

* Para facilitar la consulta, se han agrupado los años anteriores (2004-13).

** Los gastos totales son los mismos, la diferencia radica únicamente en la presentación de la estructura de gastos.

Apéndice 15: Nuevos miembros y posibles sustitutos confirmados de la Mesa de la CMF y el Comité de Normas y miembros actuales del Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias

CUADRO 1 - Miembros de la Mesa de la CMF

Región	País	Nombre	Nombrado en/ Nombrado nuevamente en	Mandato en curso/Duración	Final del mandato en curso
África	Côte d'Ivoire	Sr. Lucien KOUAME KONAN	CMF-7 (2012) CMF-9 (2014) CMF-11 (2016)	Tercer mandato/dos años	2018
Asia	República de Corea	Sra. Kyu-Ock YIM	CMF-5 (2010) CMF-7 (2012) CMF-9 (2014) CMF-11 (2016)	Cuarto mandato/dos años	2018
Europa	Países Bajos	Sr. Cornelis Antonius Maria VAN ALPHEN	CMF-9 (2014) CMF-11 (2016)	Segundo mandato/dos años	2018
América Latina y el Caribe (Vicepresidente)	México	Sr. Francisco Javier TRUJILLO ARRIOGA	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
Cercano Oriente	Sudán	Sr. Kamal El Din Abdelmahmoud Amein BAKR	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
América del Norte	Canadá	Sra. Marie-Claude FOREST	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
Pacífico sudoccidental (Presidenta)	Australia	Sra. Lois RANSOM	CMF-7 (2012) CMF-11 (2016)	Segundo mandato/dos años	2018

CUADRO 2: Sustitutos de la Mesa de la CMF

Región	País	Nombre	Nombrado en/ Nombrado nuevamente en	Mandato en curso/Duración	Final del mandato en curso
África	Camerún	Sr. Edouard NYA	CMF-12 (2017)	Sustituto del Sr. Francis LEKU AZENAKU CMF-11 (2016)/Primer mandato/dos años	2018
	Vacante, segundo sustituto opcional				
Asia	1. China	Sr. Wang FUXIANG	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
	2. Indonesia	Sr. Antarjo DIKIN	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
Europa	1. Malta	Sra. Marica GATT	CMF-12 (2017)	Sustituta de la Sra. Emmanuelle SOUBEYRAN CMF-11 (2016)/Primer mandato/dos años	2018
	2. Reino Unido	Sr. Samuel BISHOP	CMF-12 (2017)	Sustituto para puesto VACANTE CMF-11 (2016)/Primer mandato/dos años	2018
América Latina y el Caribe	Argentina	Sr. Diego QUIROGA	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
	Vacante, segundo sustituto opcional				
Cercano Oriente	Egipto	Sr. Ibrahim Imbaby	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018

		EL SHOBAKI			
	Vacante, segundo sustituto opcional				
América del Norte	Estados Unidos de América	Sr. John GREIFER	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
	Vacante, segundo sustituto opcional				
Pacífico sudoccidental	Australia	Sr. Kim RITMAN	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018
	Vacante, segundo sustituto opcional				

MIEMBROS Y POSIBLES SUSTITUTOS DEL COMITÉ DE NORMAS

Cuadro 3 - Miembros del Comité de Normas

Región de la FAO	País	Nombre	Nombrado en/ Nombrado nuevamente en	Mandato en curso/Duración	Final del mandato en curso
	Argelia	Sra. Alphonsine LOUHOARI TOKOZABA	Miembro sustituto de la Sra. Nadia HADJERES CMF-10 (2015)	Sustitución	2018
	Kenya	Sra. Esther KIMANI	CMF-9 (2014) CMF-12 (2017)	Segundo mandato/tres años	2020
África	Malawi	Sr. David KAMANGIRA	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
	Nigeria	Sr. Moses Adegboyega ADEWUMI	Miembro sustituto de la Sra. Alice Ntoboh Sibon NDIKONTAR CMF-10 (2015)	Sustitución	2018
	Indonesia	Sr. HERMAWAN	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
Asia	Japón	Sr. Masahiro SAI	Miembro sustituto del Sr. Lifeng WU CMF-10 (2015)	Sustitución	2018
	Reino de Tailandia	Sra. Walaikorn RATTANADECHAKUL	CMF-10 (2015)	Primer mandato/tres años	2018
	Viet Nam	Sra. Thanh Huong HA	CMF-7 (2012) CMF-10 (2015)	Segundo mandato/tres años	2018
Europa	Francia	Sra. Laurence BOUHOT-DELDUC	CMF-10 (2015)	Primer mandato/tres años	2018
	Israel	Sr. David OPATOWSKI ⁶⁴	CMF-1 (2006) CMF-4 (2009) CMF-12 (2017)	Tercer mandato/tres años	2020
	Países Bajos	Sr. Nicolaas Maria HORN	CMF-9 (2014) CMF-12 (2017)	Segundo mandato/tres años	2020
	Reino Unido	Sr. Samuel BISHOP	Miembro sustituto de la	Sustitución	2018

⁶⁴ En circunstancias excepcionales, la participación de este miembro del CN se hará efectiva de forma inmediata.

			Sra. Hilde Kristin PAULSEN CMF-10 (2015)		
	Argentina	Sr. Ezequiel FERRO	CMF-8 (2013) CMF-11 (2016)	Segundo mandato/tres años	2019
	Brasil	Sr. Jesulindo Nery DE SOUZA JUNIOR	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
América Latina y el Caribe	Chile	Sr. Álvaro SEPÚLVEDA LUQUE	CMF-10 (2015)	Primer mandato/tres años	2018
	México	Sra. Ana Lilia MONTEALEGRE LARA	CMF-7 (2012) CMF-10 (2015)	Segundo mandato/tres años	2018
Cercano Oriente	Egipto	Sra. Shaza OMAR	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
	Jordania	Sr. Nazir Al-BDOUR	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
	Líbano	Sr. Youssef Al MASRI	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
	Libia	Sr. Ali Amin KAFU	Miembro sustituto de la Sra. Maryam JALILI MOGHADAM CMF-11 (2016)	Sustitución	2019
América del Norte	Canadá	Sr. Rajesh RAMARATHAM	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
	Estados Unidos de América	Sra. Marina ZLOTINA	CMF-10 (2015)	Primer mandato/tres años	2018
Pacífico sudoccidental	Australia	Sr. Bruce HANCOCKS	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020
	Nueva Zelandia	Sr. Stephen BUTCHER	Miembro sustituto del Sr. John HEDLEY CMF-11 (2016)	Sustitución	2019
	Samoa	Sr. Lupeomanu Pelenato FONOTI	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020

CUADRO 4 - Posibles sustitutos del Comité de Normas

Región de la Orden FAO	Orden	País	Nombre	Nombrado en/ Nombrado nuevamente en	Mandato en curso/ Duración	Final del mandato en curso
África	1	Guinea Bissau	Sr. Lois Antonio TAVARES	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020
	2	Burundi	Sr. Eliakim SAKAYOYA	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
Asia	1	Filipinas	Sra. Merle Bautista PALACPAC	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
	2	Sri Lanka	Sra. Jayani Wathukarage NIMANTHIKA	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020
Europa	1	Estonia	Sra. Olga LAVRENTJEVA	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020
	2		VACANTE			
América Latina y el Caribe	1	Panamá	Sra. Judith Ivette VARGAS AZCÁRRAGA	CMF-9 (2014) CMF-12 (2017)	Segundo mandato/tres años	2020
	2	Dominica	Sr. Nelson LAVILLE	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
Cercano Oriente	1	Iraq	Sr. Abbas ABDULQADER KHUDHAIR	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020
	2	Yemen	Sr. Gamil Anwar Mohammed RAMADHAN	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020
América del Norte	En sustitución del Canadá	Canadá	Sra. Marie-Claude FOREST	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
	En sustitución de los Estados Unidos de América	Estados Unidos de América	Sra. Stephanie DUBON	CMF-11 (2016)	Primer mandato/tres años	2019
Pacífico sudoccidental	1	En sustitución de Nueva Zelandia o Australia	Sra. Sophie Alexia PETERSON	CMF-12 (2017)	Primer mandato/tres años	2020
	2		VACANTE			

ÓRGANO AUXILIAR PARA LA SOLUCIÓN DE DIFERENCIAS: MIEMBROS Y POSIBLES SUSTITUTOS

CUADRO 5 - Miembros del Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias

Región de la FAO	País	Nombre	Nombrado en/ Nombrado nuevamente en	Mandato en curso/Duración	Final del mandato en curso
África	Gabón	Sra. Séraphine MINKO	CMF-10 (2015) CMF-12 (2017)	Segundo mandato/dos años	2019
Asia		VACANTE			
Europa	Francia	Sra. Clara PACHECO	CMF-12 (2017)	Primer mandato/dos años	2019
América Latina y el Caribe	Panamá	Sr. Luis BENAVIDES	CMF-8 (2013) CMF-10 (2015) CMF-12 (2017)	Tercer mandato/dos años	2019
Cercano Oriente	Yemen	Sr. Abdulah AL SAYANI	CMF-9 (2014) CMF-11 (2016)	Segundo mandato/dos años	2018
América del Norte	Canadá	Sr. Steve CÔTÉ	CMF-7 (2012) CMF-9 (2014) CMF-11 (2016)	Tercer mandato/dos años	2018
Pacífico sudoccidental	Samoa	Sr. Lupeomanu Pelenato FONOTI	CMF-11 (2016)	Primer mandato/dos años	2018

Apéndice 16: Plan de trabajo y presupuesto de la Secretaría de la CIPF para 2017

Misión de la CIPF: proteger los recursos vegetales del mundo contra las plagas	Resultados (productos y realizaciones)	Fuente de financiación (en miles de USD)									Total (en miles de USD)
		Programa ordinario de la FAO	Fondo Fiduciario de donantes múltiples de la CIPF - MTF/GLO/122/MUL	Proyecto China - FAO/IPPC	MTF/GLO/688/STF - ePhyto	MTF/GLO/527/STF - Capacitación de facilitadores de la ECF	GCP/GLO/391/EC - Apoyo de la Unión Europea al SEAA	GCP/GLO/51/SWI - Apoyo de Suiza al SEAA	GCP/GLO/725/EC - Nuevo proyecto con la Unión	Recursos en especie expresados en valores monetarios	
Actividades básicas											
1. GOBERNANZA Y GESTIÓN											
1.1. GOBERNANZA Y ESTRATEGIA											
GASTOS DE PERSONAL		493	-	-	-	-	-	-	-	-	493
GASTOS OPERACIONALES (INCLUIDOS LOS CONSULTORES)		369	70	-	-	-	-	-	152	104	696
1.1.1. Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF): 12.ª reunión											
Traducción	Documentos de la CMF traducidos	50	-	-	-	-	-	-	-	-	50
Presentación de las NIMF para que se aprueben y se tome nota de ellas	Tres proyectos de NIMF y como máximo 13 tratamientos fitosanitarios (TF) presentados a la CMF, traducidos a tres idiomas y revisados en otros dos; al menos un protocolo de diagnóstico (PD) traducido tras su aprobación (posiblemente más dependiendo de los recursos disponibles)	76	70	-	-	-	-	-	-	-	146
	Proceso de los grupos de revisión en los idiomas (GRI) organizado en cuatro idiomas para las NIMF aprobadas (traducción)	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Interpretación	Interpretación realizada eficazmente durante la reunión de la CMF	70	-	-	-	-	-	-	-	-	70
Participantes de países en desarrollo: viajes	Viajes de los participantes organizados de acuerdo con las normas de la Unión Europea	-	-	-	-	-	-	-	53	-	53
Redactor de informes	Informe de la CMF redactado	8	-	-	-	-	-	-	-	-	8
Impresión, mensajeros, oficiales de seguridad, servicio de restauración y otros	Todos los servicios completados	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
1.1.2. Mesa de la CMF											
Viajes de los participantes de países en desarrollo	Viajes organizados eficazmente y a tiempo	-	-	-	-	-	-	-	20	-	20
1.1.3. Comité de Finanzas											
Viajes de los participantes de países en desarrollo	Viajes organizados eficazmente y a tiempo	-	-	-	-	-	-	-	5	-	5
1.1.4. Grupo sobre planificación estratégica (GPE)											
Viajes de los participantes de países en desarrollo	Viajes organizados eficazmente y a tiempo	-	-	-	-	-	-	-	30	-	30
1.1.5. Comité de Normas (CN)											
Supervisión de la labor del CN y organización de reuniones para garantizar que el examen de los proyectos de normas se base en el consenso (reuniones del CN y el CN-7, decisiones del CN adoptadas por medios electrónicos)	Se organizaron eficazmente dos reuniones del CN (servicio de interpretación en dos idiomas solicitados: actualmente español y francés) y una reunión del CN-7, y se procesaron y publicaron los resultados.	121	-	-	-	-	-	-	29	104	254
	Se abrieron aproximadamente 25 foros electrónicos del CN y 15 consultas electrónicas del CN, y se procesaron las correspondientes decisiones del CN adoptadas por medios electrónicos.	7	-	-	-	-	-	-	-	-	7

Misión de la CIPF: proteger los recursos vegetales del mundo contra las plagas	Resultados (productos y realizaciones)	Fuente de financiación (en miles de USD)									Total (en miles de USD)
		Programa ordinario de la FAO	Fondo Fiduciario de donantes múltiples de la CIPF - MTF/GLO/122/MUL	Proyecto China - FAO/IPPC	MTF/GLO/688/STF - ePhyto	MTF/GLO/527/STF - Capacitación de facilitadores de la ECF	GCP/GLO/391/EC - Apoyo de la Unión Europea al SEAA	GCP/GLO/51/SWI - Apoyo de Suiza al SEAA	GCP/GLO/725/EC - Nuevo proyecto con la Unión	Recursos en especie expresados en valores monetarios	
Actividades básicas											
1.1.6. Comité de Desarrollo de la Capacidad (CDC) y Órgano Auxiliar para la Solución de Diferencias (OADS)											-
Ofrecimiento de las instalaciones para las reuniones y organización de los viajes de los participantes de países en desarrollo	Viajes organizados eficazmente y a tiempo	18	-	-	-	-	-	-	15	-	33
1.1.7. Grupo asesor sobre las obligaciones de presentación de informes nacionales											-
Viajes de los participantes de países en desarrollo	Viajes organizados eficazmente y a tiempo	10	-	-	-	-	-	-	-	-	10
GASTOS DE PERSONAL		-	254	-	-	-	-	-	-	-	254
GASTOS OPERACIONALES (INCLUIDOS LOS CONSULTORES)		186	269	150	-	-	-	-	94	6	705
1.2.1. Obligaciones nacionales de presentación de información (ONPI)											-
Promover la capacidad en materia de ONPI	Aumentar la capacidad de las partes contratantes para cumplir las ONPI mediante la celebración de hasta dos talleres regionales sobre ONPI al año.	-	-	60	-	-	-	-	-	-	60
Finalizar el aprendizaje electrónico sobre ONPI de la CIPF	Aprovechar el módulo de aprendizaje electrónico sobre ONPI elaborado en 2017 añadiendo los últimos componentes y publicándolo en los seis idiomas de la FAO.	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Mejorar el cumplimiento de las ONPI y concienciar sobre su importancia; mantenimiento de las bases de datos de los puntos de contacto oficiales	Ayudar a las partes contratantes en cuestiones relativas a las ONPI mediante comunicaciones a través del Portal fitosanitario internacional (PFI). La ayuda incluye un sistema de asesoramiento sobre calidad en relación con dichas obligaciones; una mayor participación de las partes contratantes; la confección de listas de plagas reglamentadas; medidas de emergencia, así como una guía y folletos educativos sobre las ONPI publicados en todos los idiomas de la FAO.	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Elaborar materiales de capacitación (manuales y material de orientación) para la Unidad de Facilitación de la Aplicación (IFU)	Facilitación de material de capacitación y orientación sobre las actividades generales de la CIPF, las ONPI, el PFI y la prevención de diferencias; talleres de capacitación sobre las ONPI.	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
1.2.2. Gestión de la información											-
	Todas las páginas publicadas actualmente en ippc.int han sido trasladadas al sitio fao.org	25	-	-	-	-	-	-	-	-	25
Mejorar los sistemas de información de la CIPF	Elaborar un nuevo Sistema de inscripción en línea y la nueva plataforma SharePoint para la Secretaría; mejorar el nuevo Sistema de comentarios en línea; actualizar los materiales formativos y trasladar el sitio web phytosanitary.info fuera de la FAO debido a las características de la información	11	49	-	-	-	-	-	10	6	76

Misión de la CIPF: proteger los recursos vegetales del mundo contra las plagas	Resultados (productos y realizaciones)	Fuente de financiación (en miles de USD)									Total (en miles de USD)	
		Programa ordinario de la FAO	Fondo Fiduciario de donantes múltiples de la CIPF - MTF/GLO/122/MUL	Proyecto China - FAO/IPPC	MTF/GLO/6 88/STF - ePhyto	MTF/GLO/527/STF - Capacitación de facilitadores de la ECF	GCP/GLO/391/EC - Apoyo de la Unión Europea al SEAA	GCP/GLO/51/SWI - Apoyo de Suiza al SEAA	GCP/GLO/725/EC - Nuevo proyecto con la Unión	Recursos en especie expresados en valores monetarios		
Actividades básicas												
1.2.3. Comunicación y promoción												
	Se ha elaborado el Plan de trabajo en materia de comunicación para 2017 de la Secretaría de la CIPF, con supervisión de la aplicación, y se ha preparado el proyecto de Plan de trabajo en materia de comunicación para 2018 de la Secretaría de la CIPF.	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25
	Canales de información de la CIPF; comunicaciones sociales y multimediales de la CIPF y la FAO; un mayor uso de los canales y servicios de noticias de la FAO; cinco documentos de promoción revisados o nuevos; elaboración de una hoja informativa nueva y del Informe anual de 2016 impresos o publicados en línea con código ISBN, y tres seminarios de la CIPF por año.	25	70	-	-	-	-	-	-	-	-	95
1.2.4. Cooperación internacional												
	Coordinar e integrar las asociaciones y proporcionar un programa de enlace	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
	Organizar y llevar a cabo reuniones paralelas, talleres y sesiones de capacitación	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
1.2.5. Red de la CIPF												
	Talleres regionales	-	-	80	-	-	-	-	-	84	-	164
	Consulta entre organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF)	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
1.2.6. Movilización de recursos												
	Viajes del personal de la Secretaría	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
1.2.7. Gestión interna												
	Gestión operacional; planificación y financiación	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	Formación profesional	10	50	-	-	-	-	-	-	-	-	60
	Creación de equipos	5	20	-	-	-	-	-	-	-	-	25
	Mantenimiento	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	10
	1.2.8. Año Internacional de la Sanidad Vegetal (AISV) 2020	-	70	10	-	-	-	-	-	-	-	80
1.2.9. Otros												
	Registro de la marca prevista en la NIMF 15	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35
Total parcial de gobernanza y gestión		1 048	593	150	-	-	-	-	246	111	-	2 148

Misión de la CIPF: proteger los recursos vegetales del mundo contra las plagas	Resultados (productos y realizaciones)	Fuente de financiación (en miles de USD)									Total (en miles de USD)
		Programa ordinario de la FAO	Fondo Fiduciario de donantes múltiples de la CIPF - MTF/GLO/122/MUL	Proyecto China - FAO/IPPC	MTF/GLO/6 88/STF - ePhyto	MTF/GLO/527/STF - Capacitación de facilitadores de la ECF	GCP/GLO/391/EC - Apoyo de la Unión Europea al SEAA	GCP/GLO/51/SWI - Apoyo de Suiza al SEAA	GCP/GLO/725/EC - Nuevo proyecto con la Unión	Recursos en especie expresados en valores monetarios	
2. UNIDAD DE ESTABLECIMIENTO DE NORMAS (SSU)											
GASTOS DE PERSONAL		677	127	-	-	-	-	-	-	-	804
GASTOS OPERACIONALES (INCLUIDOS LOS CONSULTORES)		248	-	-	-	-	-	-	34	59	341
2.1. Determinación de temas y establecimiento de prioridades entre ellos											-
Organizar una convocatoria para tratamientos fitosanitarios y procesar presentaciones	Convocatoria para tratamientos fitosanitarios organizada y presentaciones procesadas	14	-	-	-	-	-	-	-	-	14
Actualizar la información relativa al establecimiento de normas	Lista de temas actualizada en los seis idiomas dos veces al año. Manual de procedimiento para el establecimiento de normas, guía de estilo, páginas del PFI dedicadas al establecimiento de normas, procedimiento normalizado de actuación y base de datos consultable en formato pdf actualizados.	3	-	-	-	-	-	-	-	-	3
2.2. Selección de expertos y examen de sus contribuciones											-
Organizar una convocatoria de expertos (miembros del Grupo de trabajo de expertos [GTE] para la revisión de la NIMF 8 [Prioridad 1])	Presentaciones examinadas, expertos y autores seleccionados	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Supervisar la labor de los GTE y asegurarse de que los expertos se sienten comprometidos y satisfechos. Organizar una reunión de los GTE: revisión de la NIMF 8	Una reunión de los GTE (revisión de la NIMF 8) organizada eficazmente y resultados procesados y publicados según sea apropiado.	5	-	-	-	-	-	-	24	29	58
Supervisar la labor de los grupos técnicos, asegurarse de que los expertos se sienten comprometidos y satisfechos, y organizar cuatro reuniones presenciales: GTPD, GTTF, GTG y GTCF (pendiente de la decisión de la CMF-12)	Cuatro reuniones presenciales de los grupos técnicos organizadas correctamente, resultados procesados y publicados según sea apropiado. Plan de trabajo de los grupos técnicos para los periodos entre reuniones elaborado (incluidas las reuniones virtuales).	106	-	-	-	-	-	-	-	23	130
Elaborar y actualizar materiales de capacitación para las partes contratantes y los miembros del CN a fin de aumentar su participación efectiva en el proceso de establecimiento de normas, impartir la capacitación necesaria.	Material de capacitación para la participación de las partes contratantes en el proceso de establecimiento de normas y para los miembros del CN actualizado según necesidad. Programa de tutoría para los nuevos miembros del CN implementado.	3	-	-	-	-	-	-	-	6	10
2.3. Consulta											-
Organizar procesos de consulta sobre los proyectos de especificaciones y los proyectos de normas para garantizar que se recogen todas las opiniones.	Consultas de expertos en PD, organizadas provisionalmente para seis proyectos de PD; Consultas sobre los proyectos de especificaciones, organizadas a través del sistema de presentación de observaciones en línea en tres idiomas (provisionalmente cuatro proyectos); Primera consulta sobre proyectos de NIMF, organizada a través del sistema de presentación de observaciones en línea (provisionalmente cuatro proyectos de NIMF en tres idiomas + cuatro PD); Segunda consulta sobre proyectos de NIMF, organizada a través del sistema de presentación de observaciones en línea (provisionalmente tres proyectos de NIMF + máximo de 13 tratamientos fitosanitarios [TF]); Proceso de formulación de objeciones para proyectos de NIMF presentados ante la CMF-13.	89	-	-	-	-	-	-	10	-	99

Misión de la CIPF: proteger los recursos vegetales del mundo contra las plagas	Resultados (productos y realizaciones)	Fuente de financiación (en miles de USD)									Total (en miles de USD)
		Programa ordinario de la FAO	Fondo Fiduciario de donantes múltiples de la CIPF - MTF/GLO/122/MUL	Proyecto China - FAO/IPPC	MTF/GLO/6 88/STF - ePhyto	MTF/GLO/527/STF - Capacitación de facilitadores de la ECF	GCP/GLO/391/EC - Apoyo de la Unión Europea al SEAA	GCP/GLO/51/SWI - Apoyo de Suiza al SEAA	GCP/GLO/725/EC - Nuevo proyecto con la Unión	Recursos en especie expresados en valores monetarios	
2.4. Aprobación											
Garantizar la publicación de las especificaciones y normas en distintos idiomas	Las especificaciones aprobadas se han revisado en tres idiomas y se han publicado. Las NIMF aprobadas se han publicado en seis idiomas (incluso tras el examen del GRI); Todas las NIMF aprobadas se publican en seis idiomas (excepto los PD). Siete acuerdos de publicación conjunta gestionados con arreglo al procedimiento. Revocación de normas para el resto de los idiomas. Todas las NIMF en proceso de revisión por los GRI se publican nuevamente.	26	-	-	-	-	-	-	-	-	26
Total parcial de la SSU		925	127	-	-	-	-	-	34	59	1 145
3. UNIDAD DE FACILITACIÓN DE LA APLICACIÓN (IFU)											
GASTOS DE PERSONAL		872	127	-	-	109	90	-	-	-	1 198
GASTOS OPERACIONALES (INCLUIDOS LOS CONSULTORES)		105	238	350	350	191	40	110	40	454	1 878
3.1. Desarrollo de la capacidad											
Producción de recursos: manuales técnicos, directrices, aprendizaje electrónico, etc.	Recurso técnico para la comunicación de riesgos de la CIPF	-	-	-	-	-	-	-	20	-	20
	Manual sobre áreas libres de plagas (ALP)	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	Documento sobre los marcos jurídicos y de políticas de la protección fitosanitaria	-	-	-	-	-	-	-	20	-	20
	Documento sobre el cambio climático y la sanidad vegetal	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	Manual sobre los cereales	-	33	-	-	-	-	-	-	-	33
	Al menos dos recursos técnicos producidos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80
Organizar y celebrar reuniones paralelas, talleres y sesiones de capacitación en relación con el desarrollo de la capacidad	Talleres internos en la CMF y a través de los proyectos de la CIPF	5	-	-	-	-	-	-	-	124	129
Formulación y aplicación de proyectos en materia de desarrollo de la capacidad	Proyecto del Fondo para el Medio Ambiente Mundial (FMAM)	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	Proyecto piloto sobre vigilancia	-	40	-	-	-	-	-	-	-	40
	Los proyectos de la FAO abarcan aproximadamente 31 países.	-	105	-	-	-	-	-	-	-	105
	Simposio sobre la iniciativa "Un cinturón, una ruta" de China	-	-	200	-	-	-	-	-	-	200
	Consultor oficial de la FAO, regional (desarrollo de capacidad, China)	-	-	150	-	-	-	-	-	-	150
3.2. Sistema de examen y apoyo de la aplicación de la CIPF											
Propuestas de recomendaciones de la CIPF	Determinar las cuestiones que podrían abordarse como recomendaciones de la CIPF	-	-	-	-	-	-	10	-	-	10

Misión de la CIPF: proteger los recursos vegetales del mundo contra las plagas	Resultados (productos y realizaciones)	Fuente de financiación (en miles de USD)									Total (en miles de USD)
		Programa ordinario de la FAO	Fondo Fiduciario de donantes múltiples de la CIPF - MTF/GLO/122/MUL	Proyecto China - FAO/IPPC	MTF/GLO/688/STF - ePhyto	MTF/GLO/527/STF - Capacitación de facilitadores de la ECF	GCP/GLO/391/EC - Apoyo de la Unión Europea al SEAA	GCP/GLO/51/SWI - Apoyo de Suiza al SEAA	GCP/GLO/725/EC - Nuevo proyecto con la Unión	Recursos en especie expresados en valores monetarios	
Actividades básicas											
Elaboración de estudios teóricos	Al menos dos estudios teóricos elaborados (para la CIPF o la FAO)	-	-	-	-	-	-	10	-	-	10
Evaluación y observaciones sobre los estudios teóricos y los recursos técnicos	Establecer y aplicar procedimientos para hacer un seguimiento de la utilización de los estudios teóricos, los recursos técnicos y las recomendaciones relacionadas	-	-	-	-	-	-	10	-	-	10
Consultor	Consultor (consultor oficial de la FAO, regional o internacional)	60	-	-	-	-	-	-	-	-	60
Programa de seguimiento y evaluación (SyE)	Necesidades de SyE evaluadas	-	-	-	-	-	40	60	-	-	100
3.3. Prevención y solución de diferencias											
Elaboración de un módulo de aprendizaje electrónico sobre prevención y solución de diferencias	Módulo de aprendizaje electrónico sobre el Sistema de prevención y solución de diferencias en los seis idiomas de la FAO	20	-	-	-	-	-	-	-	-	20
Enlace y capacitación en los países	Viajes	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
3.4. Instrumentos (ECF)											
Gestión de proyectos	Capacitación de facilitadores de la evaluación de la capacidad fitosanitaria (ECF)	-	-	-	-	100	-	-	-	-	100
	Aplicación de la ECF en los países	-	-	-	-	91	-	-	-	-	91
	Elaboración del módulo medioambiental de la ECF	-	10	-	-	-	-	-	-	-	10
Elaboración de instrumentos	Elaboración de los indicadores de la aplicación de la CIPF	-	-	-	-	-	-	10	-	-	10
	Elaboración del instrumento de marco de seguimiento y evaluación	-	-	-	-	-	-	10	-	-	10
3.5. Tecnologías (ePhyto)											
ePhyto	Gestión de proyectos	-	50	-	350	-	-	-	-	250	650
Total parcial de la IFU		977	365	350	350	300	130	110	40	454	3 076
Presupuesto total (en miles de USD)		2 950	1 085	500	350	300	130	110	320	624	6 369

Apéndice 17: Aprobación de normas internacionales para medidas fitosanitarias

La CMF aprobó las NIMF y los TF que figuran a continuación, los cuales se hallan adjuntos al presente informe:

- NIMF 38: *Movimiento internacional de semillas* (2009-003)
- Anexo 1, *Acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador* (2005-003), de la NIMF 20 (*Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones*)
- NIMF 39: *Movimiento internacional de madera* (2006-029)
- NIMF 40: *Movimiento internacional de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar* (2005-004)
- NIMF 41: *Movimiento internacional de vehículos, maquinaria y equipos usados* (2006-004)
- ❖ TF 22: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra insectos en madera descortezada (2007-101A)
- ❖ TF 23: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra nematodos e insectos en madera descortezada (2007-101B)
- ❖ TF 24: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus sinensis* (2007-206A)
- ❖ TF 25: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata x C. sinensis* (2007-206B)
- ❖ TF 26: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus limon* (2007-206C)
- ❖ TF 27: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus paradisi* (2007-210)
- ❖ TF 28: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata* (2007-212)
- ❖ TF 29: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus clementina* (2010-102)
- ❖ TF 30: Tratamiento térmico mediante vapor contra *Ceratitis capitata* en *Mangifera indica* (2010-106)
- ❖ TF 31: Tratamiento térmico mediante vapor contra *Bactrocera tryoni* en *Mangifera indica* (2010-107)

La CMF tomó nota de que el CN había aprobado en nombre de la CMF los siguientes 10 protocolos de diagnóstico (PD) como anexos de la NIMF 27 (se adjuntan al presente informe las traducciones, de estar disponibles):

- PD 13: *Erwinia amylovora*;
- PD 14: *Xanthomonas fragariae*;
- PD 15: *Virus de la tristeza de los cítricos*;
- PD 16: *Género Liriomyza* Mik;
- PD 17: *Aphelenchoides besseyi*, *A. ritzemabosi* y *A. fragariae*;
- PD 18: *Anguina* spp. (2013-003);
- PD 19: *Sorghum halepense* (2006-027);
- PD 20: *Dendroctonus ponderosae* (2006-019);
- PD 21: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (2013-001);
- PD 22: *Fusarium circinatum* (2006-021);



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 20

NIMF 20

ESP

Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NORMAS INTERNACIONALES PARA
MEDIDAS FITOSANITARIAS

NIMF 20

Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones

Producido por la Secretaría de la Convención
Internacional de Protección Fitosanitaria
Adoptado en 2017; publicado en 2017

© FAO 2017

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites. La mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la FAO los apruebe o recomiende de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan.

Las opiniones expresadas en este producto informativo son las de su(s) autor(es), y no reflejan necesariamente los puntos de vista o políticas de la FAO.

© FAO, 2017

La FAO fomenta el uso, la reproducción y la difusión del material contenido en este producto informativo. Salvo que se indique lo contrario, se podrá copiar, imprimir y descargar el material con fines de estudio privado, investigación y docencia, o para su uso en productos o servicios no comerciales, siempre que se reconozca de forma adecuada a la FAO como la fuente y titular de los derechos de autor y que ello no implique en modo alguno que la FAO apruebe los puntos de vista, productos o servicios de los usuarios.

Todas las solicitudes relativas a la traducción y los derechos de adaptación así como a la reventa y otros derechos de uso comercial deberán dirigirse a www.fao.org/contact-us/licence-request o a copyright@fao.org.

Los productos de información de la FAO están disponibles en el sitio web de la Organización (www.fao.org/publications) y pueden adquirirse mediante solicitud por correo electrónico a publications-sales@fao.org.

Cuando se reproduzca la presente NIMF, debería mencionarse que las versiones actualmente aprobadas de las NIMF pueden obtenerse en: www.ippc.int.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

1995-09: La Consulta técnica entre ORPF añadió el tema *Reglamentos de importación* (1995-003).

1996-1997: La Secretaría de la CIPF elaboró el proyecto de texto.

1997-10: El CEMF-4 solicitó una nueva revisión del proyecto de texto.

1998-05: El CEMF-5 revisó el proyecto de texto.

2000-05: El CDI-1 solicitó una nueva redacción.

2001-05: El CDI-3 recomendó una nueva redacción por el GTE.

2002-04: El GTE elaboró un proyecto de texto.

2002-11: El CN debatió el asunto del cáncer de los cítricos.

2002-2003: Un pequeño grupo de trabajo revisó el proyecto de texto por correo electrónico.

2003-05: El CN-7 revisó el proyecto de texto y lo aprobó para consulta.

2003-05: Primera consulta.

2003-11: El CN revisó el proyecto de texto para su adopción.

2004-04: La CIMF-6 aprobó la norma.

NIMF 20. 2004. *Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones*. Roma, CIPF, FAO.

2013-08: La Secretaría de la CIPF aplicó las enmiendas a tinta señaladas por la CMF-8 (2013).

2014-05: La Secretaría de la CIPF corrigió un error en el índice.

2015-06: La Secretaría de la CIPF incorporó enmiendas a tinta y modificó el formato de las normas de acuerdo con el procedimiento de revocación de normas aprobado en la CMF-10 (2015).

2005-04: La CMF-7 añadió el tema "Preaprobación respecto de plagas reglamentadas" (2005-003).

2006-01: El proyecto de especificación se presentó para consulta.

2006-11: El CN aprobó la especificación.

2008-09: El GTE redactó el anexo.

2011-05: El CN examinó el proyecto y lo remitió al administrador.

2012-04: El CN examinó el proyecto y acordó que era necesario seguir trabajando.

2012-12: El administrador revisó el proyecto con un pequeño grupo de miembros del CN.

2013-05: El CN aplazó la consideración del proyecto hasta que se aclararan ciertos conceptos relacionados con la preaprobación.

2014-05: El CN debatió los conceptos relacionados con la preaprobación.

2014-11: El CN debatió los conceptos y definiciones relacionados con la preaprobación.

2015-05: El CN aprobó el proyecto para consulta.

2015-07: Primera consulta.

2016-02: El administrador examinó las observaciones de la consulta y revisó el proyecto.

2016-05: El CN-7 aprobó el proyecto como anexo de la NIMF 20 para consulta.

2016-07: Segunda consulta.

2016-11: El CN revisó el proyecto y lo recomendó a la CMF-12 (2017) para su adopción.

2017-04: La CMF-12 aprobó el Anexo 1 de la NIMF 20.

NIMF 20. Anexo 1. *Acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador* (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última modificación de la historia de la publicación: 2017-04.

ÍNDICE

Adopción	5
INTRODUCCIÓN	5
Ámbito.....	5
Referencias	5
Definiciones	5
Perfil de los requisitos	5
REQUISITOS.....	6
1. Objetivo	6
2. Estructura.....	6
3. Derechos, obligaciones y responsabilidades.....	6
3.1 Acuerdos, principios y normas internacionales.....	6
3.2 Cooperación regional	7
4. Marco normativo	7
4.1 Artículos reglamentados.....	8
4.2 Medidas fitosanitarias para artículos reglamentados.....	8
4.2.1 Medidas fitosanitarias para los envíos que se importarán	8
4.2.1.1 Disposición para importaciones especiales	10
4.2.1.2 Áreas Libres de Plagas, lugares de producción libres de plagas, sitios de producción libres de plagas, áreas de baja prevalencia de plagas y programas de control oficial.....	10
4.2.2 Autorización de la importación	10
4.2.3 Prohibiciones.....	11
4.3 Envíos en tránsito.....	11
4.4 Medidas concernientes al incumplimiento y acción de emergencia	11
4.5 Otros elementos que pueden requerir un marco normativo.....	12
4.6 Autoridad legal para la ONPF.....	12
5. Operación de un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones.....	12
5.1 Responsabilidades operativas y de manejo de la ONPF	12
5.1.1 Administración.....	12
5.1.2 Elaboración y revisión de reglamentos	13
5.1.3 Vigilancia	13
5.1.4 Análisis de Riesgo de Plagas y listas de plagas.....	13
5.1.5 Auditoría y procedimientos de cumplimiento.....	13
5.1.5.1 Auditoría de procedimientos en el país exportador.....	13
5.1.5.2 Procedimientos de cumplimiento en la importación	14
5.1.5.2.1 Inspección	14
5.1.5.2.2 Muestreo.....	14
5.1.5.2.3 Pruebas, incluidas las de laboratorio	15
5.1.6 Incumplimiento y acción de emergencia.....	15
5.1.6.1 Acción en caso de incumplimiento	15
5.1.6.2 Acción de emergencia	16

5.1.6.3	Notificación de incumplimiento y acción de emergencia	17
5.1.6.4	Derogación o modificación de las reglamentaciones fitosanitarias	17
5.1.7	Sistemas para la autorización del personal que no pertenezca a la ONPF	17
5.1.8	Enlace internacional	17
5.1.9	Notificación y difusión de información normativa	18
5.1.9.1	Reglamentaciones fitosanitarias nuevas o revisadas	18
5.1.9.2	Difusión de los reglamentos establecidos	18
5.1.10	Enlace nacional	18
5.1.11	Solución de controversias.....	18
5.2	Recursos de la ONPF	18
5.2.1	Personal incluyendo la capacitación	18
5.2.2	Información	18
5.2.3	Equipo e instalaciones.....	19
DOCUMENTACIÓN, COMUNICACIÓN Y REVISIÓN.....		19
6.	Documentación.....	19
6.1	Procedimientos.....	19
6.2	Registros.....	19
7.	Comunicación.....	20
8.	Mecanismo de revisión.....	20
8.1	Revisión del sistema.....	20
8.2	Revisión de incidentes.....	20
ANEXO 1: Acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador (2017).....		21
1.	Requisitos generales que han de cumplir los acuerdos.....	22
2.	Procedimiento para el establecimiento de un acuerdo.....	22
2.1	Propuesta.....	22
2.2	Evaluación.....	22
2.3	Elementos.....	22
2.4	Requisitos técnicos.....	23
3.	Implementación de un acuerdo.....	23
4.	Examen de un acuerdo.....	24
5.	Rescisión de un acuerdo	24

Adopción

La presente norma fue adoptada por la sexta sesión de la Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias en abril de 2004. El Anexo 1 fue adoptado por la Comisión de Medidas Fitosanitarias en abril de 2017.

INTRODUCCIÓN

Ámbito

La presente norma describe la estructura y operación de un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones, así como los derechos, las obligaciones y las responsabilidades que deberán considerarse al establecer, operar y revisar el sistema.

Referencias

La presente norma refiere a las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF). Las NIMF se encuentran disponibles en el PFI en <https://www.ippc.int/core-activities/standards-setting/ispms>.

CIPF. 1997. *Convención Internacional de Protección Fitosanitaria*. Roma, CIPF, FAO.

OMC. 1994. *Acuerdo sobre la aplicación de medidas sanitarias y fitosanitarias*. Ginebra, Organización Mundial del Comercio.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios utilizadas en la presente norma se pueden encontrar en la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*).

Perfil de los requisitos

Un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones tiene como objetivo prevenir la introducción de plagas cuarentenarias o limitar la entrada de plagas no cuarentenarias reglamentadas con los productos importados y otros artículos reglamentados. Un sistema fitosanitario de reglamentación de importación debería constar de dos componentes: un marco normativo de legislación fitosanitaria, reglamentaciones y procedimientos fitosanitarios; y la ONPF como el servicio oficial encargado de la operación o supervisión del sistema. El marco jurídico debería incluir: la autoridad legal para que la ONPF cumpla con sus obligaciones; las medidas que los productos importados deberían cumplir; otras medidas fitosanitarias (incluyendo prohibiciones) concernientes a los productos y otros artículos reglamentados importados; y las acciones fitosanitarias que puedan llevarse a cabo cuando se detecten incidentes de incumplimiento o incidentes que requieran la aplicación de acción de emergencia. Este marco jurídico también puede incluir medidas fitosanitarias concernientes a los envíos en tránsito.

La ONPF tiene una serie de responsabilidades cuando aplica un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones. Entre ellas se incluyen las identificadas en el Artículo IV.2 de la CIPF relacionadas con las importaciones, incluyendo la vigilancia, la inspección, la desinfestación o desinfección, llevar a cabo análisis de riesgo de plagas y la capacitación y mejoramiento del personal. Estas responsabilidades conllevan actividades relacionadas con áreas tales como: la administración, la auditoría y la verificación del cumplimiento, las acciones tomadas ante el incumplimiento, las acciones de emergencia, la autorización de personal y la solución de controversias. Además, las partes contratantes podrán asignar a las ONPF otras responsabilidades tales como elaboración y modificación de reglamentaciones. Se precisa de los recursos de la ONPF para asumir estas responsabilidades y actividades. También existen requisitos para los enlaces internacionales y nacionales, la documentación, la comunicación y la revisión.

REQUISITOS

1. Objetivo

El sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones tiene como objetivo prevenir la introducción de plagas cuarentenarias o limitar la entrada de las plagas no cuarentenarias reglamentadas (PNCR), con los productos básicos y otros artículos reglamentados importados.

2. Estructura

El sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones está compuesto de lo siguiente:

- un marco normativo de legislación fitosanitaria, reglamentaciones fitosanitarias y procedimientos fitosanitarios;
- una ONPF responsable de la operación del sistema.

Los sistemas y las estructuras jurídicas y administrativos difieren entre las partes contratantes. En particular, algunos sistemas jurídicos requieren que se detalle en un documento legal cada aspecto del trabajo que realizan sus oficiales, mientras que otros ofrecen un marco amplio en el cual los oficiales cuentan con la autoridad delegada para llevar a cabo sus funciones a través de un procedimiento administrativo. Por ende, esta norma ofrece directrices generales para el marco normativo de un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones. En la Sección 4 se describe con mayores detalles este marco normativo.

La ONPF es el servicio oficial responsable de la operación o supervisión (organización y manejo) del sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones. Otros servicios gubernamentales, tal como el servicio de Aduana, pueden tener un papel (con una separación bien definida de sus responsabilidades y funciones) en el control de los productos importados y por ende, debería mantenerse el enlace con ellos. Con frecuencia, la ONPF utiliza sus propios funcionarios para operar el sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones; no obstante, puede autorizar a otros servicios gubernamentales, organizaciones no gubernamentales o personas a actuar en su representación y bajo su control para funciones específicas. En la Sección 5 se describe la operación del sistema.

3. Derechos, obligaciones y responsabilidades

Cuando la ONPF establezca y opere su sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones debería tomar en cuenta lo siguiente:

- los derechos, las obligaciones y las responsabilidades que surjan de los tratados, convenios o acuerdos internacionales que sean pertinentes
- los derechos, las obligaciones y las responsabilidades que surjan de las normas internacionales pertinentes
- las políticas y legislación nacionales
- las políticas administrativas del gobierno, ministerio o departamento o de la ONPF.

3.1 Acuerdos, principios y normas internacionales

Los gobiernos nacionales tienen el derecho soberano de reglamentar las importaciones para lograr su nivel adecuado de protección, tomando en cuenta sus obligaciones internacionales. Los derechos, las obligaciones y las responsabilidades relacionados con los acuerdos internacionales, así como los principios y normas que resulten de ellos, en particular la CIPF y el Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio (Acuerdo MSF de la OMC, 1994), afectan la estructura e implementación del sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones. Esto incluye los efectos en la preparación y adopción de reglamentaciones fitosanitarias para la importación, la aplicación de reglamentaciones fitosanitarias y las actividades operativas que surjan de las reglamentaciones.

Cuando se preparen, adopten y apliquen las reglamentaciones fitosanitarias, es necesario reconocer ciertos principios y conceptos, tales como en la NIMF 1 (*Principios fitosanitarios para la protección de las plantas y la aplicación de medidas fitosanitarias en el comercio internacional*), entre ellos:

- transparencia
- soberanía
- necesidad
- no discriminación
- repercusiones mínimas
- armonización
- justificación técnica (por ejemplo, mediante un análisis de riesgo de plagas)
- coherencia
- manejo del riesgo
- modificación
- acción de emergencia y medidas provisionales
- equivalencia
- reconocimiento de áreas libres de plagas y áreas de baja prevalencia de plagas.

En particular, los procedimientos y reglamentaciones fitosanitarias deberían tener en consideración el concepto de las repercusiones mínimas y los asuntos relacionados con la viabilidad económica y operativa, con el fin de evitar la perturbación innecesaria de las actividades comerciales.

3.2 Cooperación regional

Las organizaciones regionales, tales como las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) y las organizaciones regionales de desarrollo agrícola pueden fomentar la armonización de los sistemas fitosanitarios de reglamentación de importaciones de sus miembros y cooperar en el intercambio de información para beneficio de los miembros.

Una organización regional de integración económica reconocida por la FAO puede contar con reglas que apliquen a sus miembros, y también puede tener la autoridad para aprobar y asegurar el cumplimiento de ciertas reglamentaciones fitosanitarias en representación de los miembros de esa organización.

4. Marco normativo

Al gobierno (parte contratante) le compete la promulgación de reglamentos (Artículo IV.3c de la CIPF). Las partes contratantes, consecuentes con esta responsabilidad, pueden otorgar la autoridad a la ONPF para que formule los reglamentos fitosanitarios de importación y la implementación del sistema de reglamentación de importaciones. Las partes contratantes deberán contar con un marco normativo que brinde lo siguiente:

- la especificación de las responsabilidades y funciones de la ONPF en relación con el sistema de reglamentación de importaciones
- la autoridad legal para que la ONPF lleve a cabo sus responsabilidades y funciones con respecto al sistema de reglamentación de importaciones
- la autoridad y procedimientos, por ejemplo mediante un ARP, para determinar las medidas fitosanitarias para las importaciones
- las medidas fitosanitarias que se apliquen a los productos básicos y otros artículos reglamentados importados
- la prohibición de la importación que se aplique a los productos básicos y otros artículos reglamentados
- la autoridad legal para llevar a cabo acciones con respecto al incumplimiento y acción de emergencia

- la especificación de interrelaciones entre la ONPF y otros organismos gubernamentales
- los procedimientos y plazos transparentes y definidos para la implementación de los reglamentos, incluida su entrada en vigor.

Las partes contratantes tienen la obligación de poner sus reglamentos a disposición de quien los solicite, de conformidad con el Artículo VII.2 (b) de la CIPF; estos procedimientos pueden requerir una base normativa.

4.1 Artículos reglamentados

Entre los productos básicos importados que pueden reglamentarse se incluyen los artículos que puedan estar infestados o contaminados con plagas reglamentadas. Las plagas reglamentadas son plagas cuarentenarias o plagas no cuarentenarias reglamentadas. Todos los productos básicos pueden reglamentarse con respecto a las plagas cuarentenarias. Los productos para consumo o elaboración no pueden reglamentarse con respecto a las plagas no cuarentenarias reglamentadas. Las plantas para plantar son las únicas que pueden reglamentarse con respecto a las plagas no cuarentenarias reglamentadas. Entre algunos de los ejemplos de artículos reglamentados figuran:

- plantas y sus productos utilizados para plantar, el consumo, o la elaboración o cualquier otro fin
- lugares de almacenamiento
- materiales de embalaje incluyendo la madera de estiba
- medios de transporte e instalaciones de envíos
- suelo, fertilizantes orgánicos y materiales relacionados
- organismos capaces de albergar o dispersar plagas
- equipo potencialmente contaminado (como los utilizados para fines agrícolas, militares y para el movimiento de tierra)
- materiales científicos y de investigación
- efectos personales de los viajeros que se movilizan en el ámbito internacional
- correo internacional, incluyendo los servicios privados
- plagas y agentes de control biológico¹.

Las listas de artículos reglamentados se deberán poner a disposición del público.

4.2 Medidas fitosanitarias para artículos reglamentados

Las partes contratantes no deberían aplicar medidas fitosanitarias a la entrada de artículos reglamentados, tales como prohibiciones, restricciones u otros requisitos fitosanitarios de importación, salvo que las consideraciones fitosanitarias las ameriten necesarias y que estén técnicamente justificadas. Las partes contratantes deberán tomar en cuenta, según corresponda, las normas internacionales, y otros requisitos y consideraciones pertinentes de la CIPF cuando apliquen las medidas fitosanitarias.

4.2.1 Medidas fitosanitarias para los envíos que se importarán

Las medidas fitosanitarias con las que deberían cumplir los envíos² de plantas, productos vegetales y otros artículos reglamentados importados deberían especificarse en las reglamentaciones fitosanitarias. Dichas medidas fitosanitarias pueden ser generales, aplicándose a todo tipo de productos específicos, o

¹ Las plagas *per se* y los agentes de control biológico no se incluyen en la definición de ‘artículos reglamentados’ (Artículo II.1 de la CIPF de 1997). Sin embargo, cuando exista una justificación técnica, ellos pueden estar sujetos a medidas fitosanitarias (CIPF, 1997; Artículo VI con respecto a las plagas reglamentadas y Artículo VII.1 (c) y VII.1 (d)) y para los fines de esta norma se pueden considerar como artículos reglamentados.

² Para los fines de esta norma, se considera que la importación abarca todos los envíos que se movilizan hacia el país (excepto aquellos en tránsito), incluida la movilización hacia las zonas francas (entre ellas las áreas libres de impuestos y los envíos bajo precinto aduanero) y los envíos ilegales detenidos por otros servicios.

pueden ser específicas, aplicándose a productos básicos específicos provenientes de un origen particular. Tal vez se requieran medidas fitosanitarias antes de la entrada, en la entrada o posterior a ésta. Los enfoques de sistemas también podrán utilizarse cuando resulten apropiados (véase NIMF 14 (*Aplicación de medidas integradas en un enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas*)).

Posiblemente se requiera que la ONPF del país exportador certifique algunas medidas fitosanitarias que se hayan aplicado (NIMF 7 [*Sistema de certificación para la exportación*]). Entre ellas se incluyen:

- la inspección previa a la exportación
- las pruebas previas a la exportación
- el tratamiento previo a la exportación
- producidos a partir de plantas de estatus fitosanitario específico (por ejemplo, cultivado de plantas diagnosticadas contra virus o bajo ciertas condiciones)
- inspección o prueba en la temporada de crecimiento previa a la exportación
- el envío se origina en un lugar de producción libre de plagas, sitio de producción libre de plagas, área de baja prevalencia de plagas o área libre de plagas
- procedimientos de acreditación
- mantenimiento de la integridad del envío.

Entre las medidas fitosanitarias que puedan requerirse durante el envío se incluyen:

- tratamiento (por ejemplo, tratamientos físicos o químicos apropiados)
- mantenimiento de la integridad del envío.

Entre las medidas fitosanitarias que puedan requerirse en el punto de ingreso entrada se incluyen:

- revisión de la documentación
- verificación de la integridad del envío
- verificación del tratamiento durante el envío
- inspección fitosanitaria
- prueba
- tratamiento
- detención de envíos en espera de resultados de las pruebas o verificación de la eficacia del tratamiento.

Entre las medidas fitosanitarias que puedan requerirse tras la entrada se incluyen:

- detención en cuarentena (como en un lugar de cuarentena posentrada) para la inspección, prueba o tratamiento
- detención en un lugar designado en espera de medidas específicas
- restricciones sobre la distribución o el uso del envío (por ejemplo, para un proceso de elaboración específico).

Entre otro tipo de medidas fitosanitarias que puedan requerirse se incluyen:

- requisitos para licencias o permisos
- las limitaciones en los puntos de ingreso para productos básicos específicos
- el requisito de que los importadores notifiquen con antelación acerca de la llegada de envíos específicos
- la auditoría de procedimientos en el país exportador
- la precertificación.

El sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones debería hacer provisiones para la evaluación y posible aceptación de medidas fitosanitarias alternativas propuestas por la parte contratante exportadora consideradas como equivalentes.

4.2.1.1 Disposición para importaciones especiales

Las partes contratantes podrán hacer provisiones especiales para la importación de plagas, agentes de control biológico (véase la NIMF 3 [*Directrices para la exportación, el envío, la importación y liberación de agentes de control biológico y otros organismos benéficos*]) u otros artículos reglamentados para fines de investigación científica, educativos o de otro tipo. Pueden autorizarse tales importaciones siempre que se proporcionen las salvaguardas adecuadas.

4.2.1.2 Áreas Libres de Plagas, lugares de producción libres de plagas, sitios de producción libres de plagas, áreas de baja prevalencia de plagas y programas de control oficial

Las partes contratantes importadoras podrán designar áreas libres de plagas, áreas de baja prevalencia de plagas (NIMF 4 [*Requisitos para el establecimiento de áreas libres de plagas*], NIMF 22 [*Requisitos para el establecimiento de áreas de baja prevalencia de plagas*], NIMF 29 [*Reconocimiento de áreas libres de plagas y de áreas de baja prevalencia de plagas*]) y programas de control oficial dentro de su país. Se podrán requerir reglamentaciones fitosanitarias con el fin de proteger o respaldar tales designaciones dentro del país importador, siempre que estas medidas respeten el principio de no discriminación.

Las reglamentaciones fitosanitarias para las importaciones deberían reconocer la existencia de tales designaciones y aquellas relacionadas con otros procedimientos oficiales (tales como lugares de producción libres de plagas y sitios de producción libres de plagas) dentro de los países de las partes contratantes exportadoras, incluida la facilidad para reconocer estas medidas fitosanitarias como equivalentes, cuando resulte apropiado. Tal vez sea necesario hacer las provisiones dentro de los sistemas fitosanitarios de reglamentación para evaluar y aceptar las designaciones por parte de otras ONPF y de acuerdo al caso, brindar una respuesta.

4.2.2 Autorización de la importación

La autoridad para importar puede ser otorgada como una autorización general o mediante autorización específica por caso individual.

Autorización general de importación

Las autorizaciones generales de importación pueden utilizarse:

- cuando no hay requisitos fitosanitarios de importación
- cuando los requisitos fitosanitarios de importación específicos han sido establecidos permitiendo la entrada, tal como se ha dispuesto en las reglamentaciones para una serie de productos.

Las autorizaciones generales de importación no deberían requerir una licencia o permiso, sin embargo, pueden estar sujetas a revisión en la importación.

Autorización específica de importación

Cuando se necesite el consentimiento oficial para la importación, se podrán requerir autorizaciones específicas de importación, por ejemplo, mediante una licencia o permiso, las cuales se pueden exigir para envíos individuales o para una serie de envíos de un origen en particular. Entre los casos en los cuales se requiere este tipo de autorización, se encuentran:

- importaciones de emergencia o excepcionales
- importaciones con requisitos fitosanitarios de importación específicos e individuales tales como aquellas con requisitos de cuarentena posentrada o uso final designado o para fines de investigación
- importaciones para las cuales la ONPF requiere la rastreabilidad del material durante cierto período posterior a su entrada.

Se ha observado que algunos países utilizan los permisos para especificar las condiciones generales de las importaciones; sin embargo, cuando las autorizaciones específicas que sean similares se conviertan en un proceso habitual, se fomentará la elaboración de autorizaciones de tipo general.

4.2.3 Prohibiciones

Las prohibiciones a las importaciones pueden aplicarse a productos específicos u otros artículos reglamentados provenientes de cualquier origen, o específicamente a un producto particular u otro artículo reglamentado proveniente de un origen específico. La prohibición a la importación debería utilizarse cuando no existan alternativas para el manejo del riesgo de plagas. Las prohibiciones deberían estar técnicamente justificadas. Las ONPF deberían hacer las previsiones para evaluar las medidas equivalentes, aunque menos restrictivas al comercio. Las partes contratantes, a través de su ONPF cuando estén autorizadas, deberían modificar sus reglamentaciones fitosanitarias para las importaciones si dichas medidas cumplen con el nivel adecuado de protección. La prohibición se aplica a las plagas cuarentenarias. Las plagas no cuarentenarias reglamentadas no estarán sujetas a la prohibición, pero están sujetas a niveles de tolerancia de plagas establecidos.

Tal vez se requieran los artículos prohibidos para realizar investigaciones o para otros fines y se podrán exigir previsiones para su importación, bajo condiciones controladas, incluida la salvaguarda apropiada mediante un sistema de licencias o permisos.

4.3 Envíos en tránsito

Los envíos en tránsito no son importados. Sin embargo, el sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones podría abarcar estos envíos, y establecer medidas fitosanitarias técnicamente justificadas con el fin de prevenir la introducción y/o dispersión de plagas (Artículo VII.4 de la CIPF, NIMF 25 [*Envíos en tránsito*]). Se pueden requerir medidas para localizar los envíos, verificar su integridad y/o para confirmar la salida del país de tránsito. Los países pueden establecer puntos de entrada, rutas dentro del país, condiciones de transporte y los períodos permitidos para que los envíos pasen a través de sus territorios.

4.4 Medidas concernientes al incumplimiento y acción de emergencia

El sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones deberá incluir disposiciones que identifiquen las acciones fitosanitarias que se llevarán a cabo en caso de incumplimiento o para las acciones de emergencia (Artículo VII.2 (f) de la CIPF; la información detallada figura en la NIMF 13 [*Directrices para la notificación de incumplimiento y acción de emergencia*]), tomando en cuenta el principio de repercusiones mínimas.

Entre las acciones fitosanitarias que puedan llevarse a cabo cuando un envío u otros artículos reglamentados importados no cumplan con las reglamentaciones fitosanitarias e inicialmente se rechace su entrada, se incluyen:

- tratamiento
- selección o reacondicionamiento
- desinfección de artículos reglamentados (incluyendo equipos, instalaciones, áreas de almacenamiento, medios de transporte)
- envío a un uso destinado particular, tal como la elaboración
- reembarque
- destrucción (tal como la incineración).

La detección de incumplimiento o de un incidente que requiera acción de emergencia puede originar una revisión de las reglamentaciones fitosanitarias de importación, o la revocación o derogación de la autorización de importación.

4.5 Otros elementos que pueden requerir un marco normativo

De los acuerdos internacionales surgen obligaciones, las cuales pueden requerir una base legal o implementarse mediante procedimientos administrativos. Entre los acuerdos que puedan requerir tales procedimientos se encuentran:

- notificación de incumplimiento
- notificación de plagas
- nombramiento de un punto de contacto oficial
- publicación y difusión de información normativa
- cooperación internacional
- revisión de reglamentos y documentación
- reconocimiento de la equivalencia
- especificación de puntos de ingreso
- notificación de documentación oficial.

4.6 Autoridad legal para la ONPF

Para que la ONPF pueda desempeñar sus funciones (Artículo IV de la CIPF), se le otorgará autoridad legal (facultad) a sus funcionarios y a otras personas autorizadas para:

- entrar a las instalaciones, medios de transporte y a otros lugares en donde puedan estar presentes los productos básicos importados, las plagas reglamentadas u otros artículos reglamentados
- inspeccionar o realizar pruebas a los productos básicos y otros artículos reglamentados
- tomar muestras de los productos básicos importados u otros artículos reglamentados o de los lugares en los cuales las plagas reglamentadas puedan estar presentes (incluso para un análisis que pueda resultar en la destrucción de la muestra)
- detener los envíos u otros artículos reglamentados importados
- aplicar o exigir tratamiento a los envíos u otros artículos reglamentados importados incluidos los medios de transporte, o lugares o productos básicos en los cuales las plagas reglamentadas puedan estar presentes
- rechazar la entrada de envíos, ordenar su reembarque o destrucción
- llevar a cabo acciones de emergencia
- establecer y cobrar tarifas para las actividades relacionadas con las importaciones o con las multas (opcional).

5. Operación de un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones

A la ONPF le compete la operación o supervisión (organización y manejo) del sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones (véase también la Sección 2). Esta responsabilidad surge en particular, del Artículo IV.2 de la CIPF.

5.1 Responsabilidades operativas y de manejo de la ONPF

La ONPF deberá contar con un sistema de manejo y los recursos suficientes para llevar a cabo sus funciones.

5.1.1 Administración

La administración del sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones por parte de la ONPF debería asegurar la aplicación coherente y eficaz de la legislación y reglamentaciones fitosanitarias y el cumplimiento de las obligaciones internacionales, lo cual puede requerir la coordinación operativa con otras entidades o servicios gubernamentales relacionadas con importaciones, por ejemplo, el servicio de Aduana. Dicha administración debería coordinarse en el ámbito nacional; sin embargo, puede organizarse con un marco funcional, regional u otro tipo de marco estructural.

5.1.2 Elaboración y revisión de reglamentos

La promulgación de reglamentaciones fitosanitarias compete a la parte contratante, véase el Artículo IV.3 (c) de la CIPF. Coherente con esta responsabilidad, las partes contratantes pueden otorgar la responsabilidad de la elaboración o revisión de las reglamentaciones fitosanitarias a su ONPF. Esta acción puede estar bajo la iniciativa de la ONPF en consulta o colaboración con otras autoridades, cuando sea apropiado. Los reglamentos pertinentes deberán elaborarse, mantenerse y revisarse, mediante los procesos legales y consultivos del país, según sea necesario y de conformidad con los acuerdos internacionales aplicables. La consulta y colaboración con las entidades pertinentes, así como con las industrias afectadas y grupos apropiados del sector privado pueden ser de utilidad para fomentar el entendimiento y aceptación de las decisiones reglamentarias por parte del sector privado, y con frecuencia resultan útiles para mejorar los reglamentos.

5.1.3 Vigilancia

La condición de las plagas reglamentadas dentro del país que las reglamenta determina, en parte, la justificación técnica de las medidas fitosanitarias. La condición de una plaga puede cambiar, lo cual puede hacer necesaria la revisión de las reglamentaciones fitosanitarias de importación. Se precisa de la vigilancia de plantas cultivadas y no cultivadas en el país importador para mantener información adecuada sobre el estatus de la plaga (de conformidad con la NIMF 6 [*Directrices para la vigilancia*]) y puede requerirse para apoyar el ARP y la lista de plagas.

5.1.4 Análisis de Riesgo de Plagas y listas de plagas

Se requiere la justificación técnica, por ejemplo mediante un ARP, para determinar si se reglamentarán las plagas y la intensidad de las medidas fitosanitarias que se aplicarán contra ellas (NIMF 11 [*Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias*]; NIMF 21 [*Análisis de riesgo de plagas para plagas no cuarentenarias reglamentadas*]). Se podrá realizar el ARP para una plaga específica o para todas las plagas asociadas con una vía en particular (por ejemplo, un producto). Se puede clasificar un producto por su nivel de procesamiento o por su uso previsto (véase NIMF 32 [*Categorización de productos según su riesgo de plagas*]). Deberán enumerarse las plagas reglamentadas (conforme a la NIMF 19 [*Directrices sobre las listas de plagas reglamentadas*]) y ponerse a disposición las listas de estas plagas (Artículo VII.2 (i) de la CIPF). Si existen normas internacionales apropiadas, las medidas deberán tener en consideración estas normas y no serán más estrictas que ellas, salvo cuando estén técnicamente justificadas.

Deberá documentarse claramente el marco administrativo del proceso de ARP, si es posible, estableciendo un período para la culminación de los ARP individuales y estipulando claramente las prioridades.

5.1.5 Auditoría y procedimientos de cumplimiento

5.1.5.1 Auditoría de procedimientos en el país exportador

Las reglamentaciones fitosanitarias para las importaciones incluyen con frecuencia requisitos específicos que deberán llevarse a cabo en el país exportador, tales como procedimientos de producción (por lo general durante el período de crecimiento del cultivo de interés) o procedimientos de tratamientos especializados. En algunos casos, como por ejemplo al establecer relaciones comerciales nuevas, los requisitos pueden incluir una auditoría, por parte de la ONPF del país importador, en colaboración con la ONPF del país exportador. Entre los elementos que se pueden incluir se encuentran:

- sistemas de producción
- tratamientos
- procedimientos de inspección
- manejo fitosanitario
- procedimientos de acreditación
- procedimientos de pruebas

- vigilancia.

El país importador deberá dar a conocer el ámbito de una auditoría. La disposición para dichas auditorías normalmente se especifica en un acuerdo, convenio o plan de trabajo bilateral para facilitar la importación. Tales acuerdos pueden aplicarse a la aprobación de los envíos dentro del país exportador, lo que facilita un mínimo de procedimientos al entrar al país importador. Estos tipos de procedimientos de auditoría no deberán aplicarse como medidas permanentes y se habrá cumplido con ellos en tanto se hayan validado los procedimientos en el país exportador. Este enfoque, en cuanto a la limitación de la duración de su aplicación, puede diferir de las inspecciones continuas de precertificación indicadas en la sección 5.1.5.2.1. Los resultados de las auditorías deberán ponerse a disposición de la ONPF del país exportador.

5.1.5.2 Procedimientos de cumplimiento en la importación

Hay tres elementos básicos en la verificación del cumplimiento:

- revisión de documentos
- verificación de la integridad del envío
- inspección fitosanitaria, pruebas, etc.

Se puede requerir la verificación del cumplimiento de los envíos y otros artículos reglamentados importados para:

- determinar si cumplen con los reglamentos fitosanitarios
- verificar que las medidas fitosanitarias son eficaces para prevenir la introducción de plagas cuarentenarias y limitar la entrada de las PNCR
- detectar posibles plagas cuarentenarias o plagas cuarentenarias cuya entrada con ese producto básico no estaba prevista.

Las inspecciones fitosanitarias deberá llevarlas a cabo la ONPF, o deberán realizarse bajo su autoridad.

Los procedimientos de cumplimiento deberían llevarse a cabo con prontitud (Artículo VII.2 d) y VII.2 e) de la CIPF). Cuando sea posible, los procedimientos de cumplimiento deberían realizarse en colaboración de otras agencias que participan en la reglamentación de importaciones, tal como el servicio de Aduana, de tal forma que se reduzca la interferencia al flujo comercial y el impacto a los productos perecederos.

5.1.5.2.1 Inspección

Las inspecciones pueden realizarse en el punto de entrada, en puntos de transbordo, en el punto de destino o en otros lugares en donde se puedan identificar los envíos importados, como por ejemplo en mercados principales, siempre que se mantenga su integridad y se puedan llevar a cabo los procedimientos fitosanitarios apropiados. También se pueden realizar en el país de origen en colaboración con la ONPF del país exportador, conforme a un acuerdo o disposición bilateral y como parte de un programa de precertificación.

Las inspecciones fitosanitarias, las cuales deberán estar técnicamente justificadas, pueden aplicarse:

- a todos los envíos como una condición para permitir su entrada
- como parte de un programa de monitoreo para las importaciones, en donde el nivel de monitoreo (es decir, la cantidad de envíos inspeccionados) se establezca basándose en el riesgo previsto.

Los procedimientos de inspección y muestreo pueden basarse en procedimientos generales o específicos para lograr los objetivos establecidos previamente.

5.1.5.2.2 Muestreo

Se pueden tomar muestras a los envíos para realizar la inspección, para pruebas de laboratorio posteriores o para fines de referencia (véase NIMF 31 [*Metodologías para muestreo de envíos*]).

5.1.5.2.3 Pruebas, incluidas las de laboratorio

Se pueden requerir pruebas para lo siguiente:

- identificación de plagas detectadas mediante inspección visual
- confirmación de plagas identificadas visualmente
- verificación del cumplimiento de los requisitos acerca de infestaciones que no se pueden detectar durante la inspección
- revisión para detectar infecciones latentes
- auditoría o monitoreo
- fines de referencia principalmente en casos de incumplimiento
- verificación del producto declarado.

El personal que realiza las pruebas deberá contar con experiencia en los procedimientos apropiados, y si es posible, seguir los protocolos acordados en el ámbito internacional. Cuando se necesite validar los resultados de las pruebas, se recomienda la cooperación de expertos académicos e internacionales apropiados o de los institutos.

5.1.6 Incumplimiento y acción de emergencia

La información detallada acerca del incumplimiento y acción de emergencia figura en la NIMF 13.

5.1.6.1 Acción en caso de incumplimiento

Entre los ejemplos para los cuales se puede justificar la acción fitosanitaria con respecto al incumplimiento de las reglamentaciones fitosanitarias para las importaciones se incluyen:

- la detección de una plaga que figure en la lista de plagas cuarentenarias, relacionada con un envío para el cual la plaga esté reglamentada
- la detección de una plaga que figure en la lista de PNCR y que se encuentre en un envío importado de plantas para plantar, a un nivel que sobrepase el nivel de tolerancia para esas plantas
- evidencia de incumplimiento de los requisitos establecidos (incluidos los acuerdos o disposiciones bilaterales o las condiciones del permiso de importación) tales como inspección de campo, pruebas de laboratorio, registro de procedimientos o instalaciones, ausencia de monitoreo o vigilancia de plagas
- la intercepción de un envío que no cumpla con los reglamentos de importación, por ejemplo, debido a que se detectó la presencia de algún producto básico no declarado, de suelo o de algún otro artículo prohibido o exista evidencia de incumplimiento de los tratamientos específicos
- la ausencia o invalidez de un Certificado Fitosanitario u otra documentación requerida
- envíos o artículos prohibidos
- incumplimiento de medidas para productos “en tránsito”.

El tipo de acción fitosanitaria variará dependiendo de las circunstancias y debería ser lo más mínima posible para contrarrestar el riesgo de plaga identificado. Los errores administrativos, tales como certificados fitosanitarios incompletos, podrán resolverse a través del enlace con la ONPF del país exportador. Otros incumplimientos pueden requerir acciones tales como:

Detención. Se puede utilizar si se requiere información adicional, tomando en cuenta la necesidad de evitar en la mayor medida posible daños al envío.

Selección y reconfiguración. Los productos afectados pueden retirarse seleccionándolos y reconfigurándolos, incluido el reembalaje si resulta apropiado.

Tratamiento. La ONPF puede utilizarlo cuando esté disponible un tratamiento eficaz.

Destrucción. El envío puede destruirse en los casos en los cuales la ONPF considere que éste no puede manipularse de otra forma.

Reembarque. El envío en incumplimiento puede retirarse del país y ser reembarcado.

En el caso de incumplimiento por una PNCR, la acción debería ser coherente con las medidas nacionales y debería limitarse de tal forma que la incidencia de la plaga en el envío, cuando sea factible, esté conforme al nivel de tolerancia requerido, por ejemplo mediante tratamiento, o que se rebaje de categoría o se reclasifique, cuando esto se permita, por un material equivalente producido o reglamentado en el ámbito nacional.

A la ONPF le compete la función de dar las instrucciones necesarias y verificar su aplicación. Por lo general, la observancia se considera como una función de la ONPF; no obstante, otras entidades pueden contar con la autorización para asistir.

Una ONPF puede decidir que no se lleve a cabo la acción fitosanitaria contra una plaga reglamentada o en otros casos de incumplimiento, cuando las acciones fitosanitarias no estén técnicamente justificadas en una situación particular, como cuando no hay riesgo de establecimiento o dispersión (por ejemplo, cambio en el uso previsto como el consumo o el procesamiento o cuando una plaga se encuentra en una etapa del ciclo de vida que no permitirá su establecimiento o dispersión), o por alguna otra razón.

5.1.6.2 Acción de emergencia

La acción de emergencia puede requerirse ante una situación fitosanitaria nueva o imprevista, tales como la detección de plagas cuarentenarias o las posibles plagas cuarentenarias:

- en envíos para los cuales no se han establecido medidas fitosanitarias
- en envíos u otros artículos reglamentados en los cuales no se prevé su presencia y para los cuales no se han especificado medidas fitosanitarias
- como contaminantes de los medios de transporte, lugares de almacenamiento u otros lugares relacionados con los productos básicos importados.

Podría ser apropiado realizar acciones fitosanitarias similares a las que se requieren en los casos de incumplimiento. Tales acciones pueden conducir a la modificación de las medidas fitosanitarias actuales, o a la adopción de medidas provisionales en espera de una revisión y una justificación técnica plena.

Entre las situaciones que comúnmente se encuentran y que precisan de acción de emergencia se incluyen:

Plagas no evaluadas previamente. Los organismos que no figuran en la lista pueden requerir acciones fitosanitarias de emergencia debido a que pueden no haber sido evaluados anteriormente. En el momento de la intercepción, podrán categorizarse en forma preliminar como plagas reglamentadas puesto que la ONPF tiene motivos para creer que representan un riesgo de plaga, en cuyo caso, la ONPF tendrá la responsabilidad de proveer una base técnica sólida. Si se establecen medidas provisionales, la ONPF deberá buscar diligentemente información adicional, si es apropiado con la participación de la ONPF del país exportador, y concluir un ARP para establecer de forma oportuna el estatus reglamentado o no reglamentado de la plaga.

Plagas no reglamentadas para una vía en particular. Las acciones fitosanitarias de emergencia pueden aplicarse a las plagas que no son reglamentadas con respecto a vías particulares. Aunque son plagas reglamentadas, posiblemente no figuraron en la lista o no se especificaron puesto que su origen, producto o circunstancias para las cuales se elaboró la lista o medidas no se previeron. Dichas plagas deberán incluirse en la lista apropiada o dentro de otras medidas si se determina que su presencia en la misma circunstancia o en circunstancias similares pueda preverse en el futuro.

Ausencia de identificación adecuada. En algunos casos, una plaga puede justificar que se lleven a cabo acciones fitosanitarias puesto que la plaga no puede identificarse en forma adecuada o en el aspecto taxonómico se ha descrito en forma inadecuada. Esto puede suceder debido a que el espécimen no ha sido descrito (es taxonómicamente desconocido), se encuentra en una condición que no permite su identificación o no se puede identificar el estado de vida que se está examinando

para lograr el nivel taxonómico requerido. Cuando no sea posible la identificación, la ONPF deberá disponer de una base técnica sólida para las acciones fitosanitarias que se han aplicado.

Cuando rutinariamente se detecten plagas en una forma que no permita su identificación adecuada (por ejemplo, huevecillos, larva en estadio temprano, formas imperfectas, etc.), se debería hacer todo lo posible para obtener suficientes especímenes para realizar la identificación. El contacto con el país exportador puede ayudar con la identificación o proporcionar una supuesta identificación. En esta etapa se considerará que dichas plagas requieren temporalmente medidas fitosanitarias. Una vez que se logre la identificación y, si basado en el ARP se confirma que para dichas plagas se justifican las acciones fitosanitarias, las ONPF deberían agregar dichas plagas a la lista de plagas reglamentadas pertinentes, tomando en cuenta el problema de identificación y las bases para las acciones fitosanitarias requeridas. Debería informarse a las partes contratantes interesadas que las acciones futuras se basarán en una supuesta identificación, si se detectan las formas anteriormente indicadas. Sin embargo, dicha acción fitosanitaria futura debería tomarse solamente con respecto a los orígenes en donde exista un riesgo de plaga identificado y no se pueda excluir la posibilidad de la presencia de plagas cuarentenarias en envíos importados.

5.1.6.3 Notificación de incumplimiento y acción de emergencia

La notificación de intercepciones, casos de incumplimiento y acción de emergencia constituyen una obligación de las partes contratantes de la CIPF, de tal forma que la ONPF de los países exportadores comprendan la base de las acciones fitosanitarias aplicadas a sus productos en la importación, y para facilitar la acción correctiva al sistema para la exportación. Se necesitan sistemas para recolectar y transmitir dicha información.

5.1.6.4 Derogación o modificación de las reglamentaciones fitosanitarias

Para los casos de reincidencia o cuando ocurra un caso de incumplimiento de importancia o una intercepción que justifique una acción de emergencia, la ONPF de la parte contratante importadora podrá derogar la autorización (por ejemplo, permiso) que permita la importación, podrá modificar la reglamentación fitosanitaria o entablar una medida provisional o de emergencia con procedimientos de entrada modificados o una prohibición. A la ONPF del país exportador debería notificársele este cambio con prontitud y las razones del mismo.

5.1.7 Sistemas para la autorización del personal que no pertenezca a la ONPF

Las ONPF pueden autorizar bajo su control y responsabilidad, a otros servicios gubernamentales, organizaciones no gubernamentales, entidades o a personas a actuar en su representación para ciertas funciones definidas. Se requieren procedimientos operativos con el fin de asegurar que se cumplan los requisitos de la ONPF. Además, deberán elaborarse los procedimientos para mostrar la competencia y para las auditorías, las acciones correctivas, la revisión del sistema y el retiro de la autorización.

5.1.8 Enlace internacional

Las partes contratantes tienen obligaciones internacionales (Artículos VII y VIII de la CIPF), entre ellas:

- el suministro de información sobre un punto de contacto oficial
- la notificación de puntos de ingreso específicos
- la publicación y transmisión de listas de plagas reglamentadas, requisitos fitosanitarios de importación y prohibiciones
- la notificación de incumplimiento y acción de emergencia (NIMF 13)
- proveer las razones para aplicar las medidas fitosanitarias, si así lo solicitan
- proveer la información pertinente.

Se precisa de acuerdos administrativos para asegurar el cumplimiento eficaz y oportuno de estas obligaciones.

5.1.9 Notificación y difusión de información normativa

5.1.9.1 Reglamentaciones fitosanitarias nuevas o revisadas

Deberían publicarse las propuestas de las reglamentaciones fitosanitarias nuevas o actualizadas y proporcionarse a las partes interesadas si así lo solicitan, concediendo un tiempo razonable para recibir comentarios y para su implementación.

5.1.9.2 Difusión de los reglamentos establecidos

Los reglamentos para las importaciones, o sus partes relevantes, deberán ponerse a disposición de las partes contratantes interesadas y afectadas, según corresponda, de la Secretaría de la CIPF y de las ORPF a las que pertenezcan. También podrán ponerse a disposición, mediante los procedimientos apropiados, de otras partes interesadas (tales como las organizaciones de las industrias de importación y exportación y sus representantes). Se exhorta a las ONPF a dar a conocer la información concerniente a los reglamentos para las importaciones mediante publicaciones, y siempre que sea posible, utilizando medios electrónicos incluidos los sitios web en la Internet y de enlaces a sitios a través del Portal fitosanitario internacional (PFI) de la CIPF (<http://www.ippc.int>).

5.1.10 Enlace nacional

Los procedimientos que faciliten las acciones de cooperación, el intercambio de información y las actividades conjuntas de aprobación dentro del país deberán establecerse con las entidades o servicios gubernamentales, según corresponda.

5.1.11 Solución de controversias

La implementación de un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones podría dar origen a controversias con las autoridades de otros países. La ONPF deberá establecer procedimientos para la consulta y el intercambio de información con otras ONPF, y para solucionar dichas controversias “deberá consultar entre sí lo antes posible”, antes de considerar si se ha de acudir a procedimientos formales e internacionales de solución de controversias. (Artículo XIII.1 de la CIPF).

5.2 Recursos de la ONPF

Las partes contratantes deberán proveer a sus ONPF los recursos apropiados para llevar a cabo sus funciones (Artículo IV.1 de la CIPF).

5.2.1 Personal incluyendo la capacitación

La ONPF deberá:

- emplear o autorizar al personal que posea los requisitos y conocimientos apropiados
- asegurar que se ofrezca capacitación adecuada y continua a todo el personal para garantizar su capacidad en las áreas que les competen.

5.2.2 Información

La ONPF deberá asegurarse, en la mayor medida posible, que el personal cuente con la información adecuada, en particular:

- documentos de orientación, procedimientos e instrucciones de trabajo, según corresponda, que abarquen los aspectos pertinentes de la operación del sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones
- las reglamentaciones fitosanitarias de importación del país
- información acerca de sus plagas reglamentadas, incluida la biología, el rango de hospedante, las vías, la distribución mundial, los métodos de detección e identificación, y métodos de tratamiento.

La ONPF debería tener acceso a la información concerniente a la presencia de plagas en su país (preferiblemente como listas de plagas), de tal forma que se facilite la categorización de plagas durante

el análisis de riesgo de plagas. Así mismo, deberá mantener listas de todas sus plagas reglamentadas. En la NIMF 19 figura la información detallada sobre las listas de plagas reglamentadas.

Cuando una plaga reglamentada está presente en el país, se deberá mantener información acerca de su distribución, las áreas libres de plagas, el control oficial y, en el caso de una PNCR, los programas oficiales para las plantas para plantar. Las partes contratantes deberán distribuir información dentro de su territorio con respecto a las plagas reglamentadas y los medios de prevención y control, y tal vez asignen esta responsabilidad a su ONPF.

5.2.3 Equipo e instalaciones

La ONPF deberá asegurarse de que el equipo y las instalaciones adecuados estén disponibles para:

- la inspección, el muestreo, las pruebas, la vigilancia y los procedimientos de verificación de envíos
- la comunicación y el acceso a la información (por medios electrónicos, si es posible).

DOCUMENTACIÓN, COMUNICACIÓN Y REVISIÓN

6. Documentación

6.1 Procedimientos

La ONPF deberá mantener documentos de orientación, procedimientos e instrucciones del trabajo que abarquen todos los aspectos de la operación del sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones. Entre los procedimientos que se documentarán se incluyen:

- la preparación de listas de plagas
- análisis de riesgo de plagas
- cuando sea conveniente, el establecimiento de áreas libres de plagas, áreas de baja prevalencia de plagas, los lugares o sitios de producción libres de plagas, y los programas de control oficial
- la inspección, la metodología de muestreo y pruebas (incluido los métodos para mantener la integridad de la muestra)
- acción de incumplimiento, incluido el tratamiento
- notificación de incumplimiento
- notificación de acción de emergencia.

6.2 Registros

Se deberían mantener los registros de todas las acciones fitosanitarias, los resultados y las decisiones concernientes a las reglamentaciones fitosanitarias de las importaciones, dando seguimiento, según corresponda, a las secciones pertinentes de las NIMF, entre ellas:

- la documentación de los análisis de riesgo de plagas (conforme a la NIMF 11 y otras NIMF relevantes)
- cuando se hayan establecido, la documentación de las áreas libres de plagas, las áreas de baja prevalencia de plagas y los programas de control oficial (incluida la información sobre la distribución de las plagas y las medidas fitosanitarias utilizadas para mantener el área libre de plagas o área de baja prevalencia de plagas)
- registros de inspecciones, muestreos y pruebas
- incumplimiento y acción de emergencia (conforme a la NIMF 13).

Si resulta apropiado, se podrán mantener los registros de los envíos importados:

- con usos destinados especificados
- sujetos a cuarentena posentrada o procedimientos de tratamientos

- que requieran seguimiento de acciones fitosanitarias (incluyendo rastreabilidad), según el riesgo de plaga o
- según sea necesario, para manejar el sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones.

7. Comunicación

La ONPF deberá asegurarse de que cuenta con procedimientos de comunicación para ponerse en contacto con:

- los importadores y los representantes de la industria apropiados
- las ONPF de los países exportadores
- la Secretaría de la CIPF
- las Secretarías de las ORPF de la cual sea miembro.

8. Mecanismo de revisión

8.1 Revisión del sistema

La parte contratante debería revisar periódicamente su sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones, lo cual podría incluir el monitoreo de la eficacia de las medidas fitosanitarias, la auditoría de las actividades de la ONPF y de los organizaciones o personas autorizadas y la modificación de la legislación, los reglamentos o los procedimientos fitosanitarios, según sea necesario.

8.2 Revisión de incidentes

La ONPF deberá contar con procedimientos para examinar los casos de incumplimiento y acción de emergencia; examen que puede conducir a la adopción o modificación de medidas fitosanitarias.

La Comisión de Medidas Fitosanitarias aprobó este anexo en su duodécima reunión, celebrada en abril de 2017.

Este anexo es una parte prescriptiva de la norma.

ANEXO 1: Acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por el país importador en el país exportador (2017).

La organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) del país importador generalmente verifica que los envíos cumplan con los requisitos fitosanitarios de importación en el momento de su entrada al país importador. Sin embargo, para facilitar la logística del comercio, las partes contratantes podrán en algunos casos negociar de forma bilateral o multilateral un acuerdo que permita que la ONPF del país importador realice procedimientos de verificación en el país exportador. Los acuerdos de este tipo son distintos de las auditorías de procedimientos en los países exportadores a las que se hace referencia en esta norma (sección 5.1.5.1).

Las ONPF del país importador y del país exportador solo deberían establecer un acuerdo bilateral o multilateral (en lo sucesivo, un “acuerdo”) y utilizarlo a efectos de la realización de procedimientos de verificación de los envíos de determinados productos en el país exportador, con carácter voluntario, en casos individuales y por un período acordado por ambas partes.

Los acuerdos que se describen en el presente anexo no deberían establecerse como medida fitosanitaria ni como condición para permitir el comercio.

El establecimiento de un acuerdo podrá ser una forma de facilitar la logística del comercio en las siguientes situaciones:

- para acelerar la liberación de un envío en su destino;
- cuando las medidas asociadas al rechazo de un envío en el punto de entrada sean demasiado costosas o difíciles de aplicar;
- cuando la inspección en el punto de entrada afecte negativamente al embalaje comercial (por ejemplo, si el producto presenta un embalaje individual y ha de realizarse un muestreo destructivo) o a la calidad del producto (por ejemplo, si el producto es muy perecedero);
- cuando se necesite infraestructura adicional para hacer frente a los casos de incumplimiento.

Los términos del acuerdo relativo a un artículo reglamentado concreto deberían elaborarse una vez que se hayan establecido los requisitos fitosanitarios de importación sobre la base de un análisis de riesgo de plagas.

En el acuerdo solo deberían incluirse procedimientos para verificar que los envíos cumplan con los requisitos fitosanitarios de importación establecidos y publicados para los productos de que se trate, de conformidad con la presente norma y, cuando proceda, con la NIMF 23 (*Directrices para la inspección*). Los envíos verificados con arreglo al acuerdo no deberían estar sujetos a los mismos procedimientos de verificación de nuevo en el punto de entrada. La ONPF del país importador podrá, no obstante, realizar otros procedimientos de verificación, tales como comprobaciones de la documentación y la identidad, en el punto de entrada.

Independientemente de todo acuerdo que puedan establecer las ONPF del país importador y del país exportador, la expedición de certificados fitosanitarios sigue siendo responsabilidad exclusiva de la ONPF del país exportador, según se establece en los artículos I.2, IV.2 a), IV.2 b), IV.2 c), IV.2 d), IV.2 e), IV.2 g) y V.1 de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). Las acciones que aplique la ONPF del país importador en el país exportador en virtud de un acuerdo están sujetas a la legislación del país exportador y deben cumplirla.

En las siguientes secciones se ofrecen opciones para que sean consideradas por las ONPF en relación con los acuerdos para la verificación del cumplimiento de los envíos por la ONPF del país importador en el país exportador.

1. Requisitos generales que han de cumplir los acuerdos

Los acuerdos deberían elaborarlos de forma conjunta las ONPF del país importador y del país exportador, en consulta con las partes interesadas pertinentes, cuando proceda.

Los aspectos financieros del acuerdo deberían ser acordados por las ONPF del país importador y del país exportador, en consulta con las partes interesadas pertinentes.

El acuerdo debería estar sujeto a exámenes periódicos y podrá establecerse un mecanismo para abordar los cambios que puedan producirse. Las condiciones para reducir las actividades de verificación del cumplimiento y para suspender o rescindir el acuerdo deberían especificarse caso por caso.

2. Procedimiento para el establecimiento de un acuerdo

A continuación se describen los pasos para establecer un acuerdo.

2.1 Propuesta

La ONPF del país importador o la del país exportador podrán cursar la solicitud de un acuerdo. La propuesta podrá formularse en respuesta a una necesidad determinada por la ONPF que curse la solicitud o por las partes interesadas pertinentes. La propuesta, en la que deberían especificarse el ámbito de aplicación y los objetivos del acuerdo, así como los motivos del mismo, debería ser acordada por ambas ONPF.

Los factores que podrán considerarse en la propuesta son:

- las fechas y la duración del acuerdo;
- los niveles de verificación propuestos y, en su caso, los planes de muestreo de los productos y las plagas reglamentadas especificados;
- los criterios que podrían dar lugar al examen y la evaluación del acuerdo;
- los criterios que podrían dar lugar a la suspensión o rescisión del acuerdo;
- la disponibilidad de recursos;
- la viabilidad de la implementación del programa.

2.2 Evaluación

La ONPF que reciba una propuesta de acuerdo debería examinarla puntualmente y preparar una respuesta. En la evaluación de la propuesta deberían analizarse los efectos del acuerdo en las preocupaciones relativas al riesgo de plagas, la viabilidad operativa y económica y los aspectos reglamentarios.

2.3 Elementos

La ONPF que propone un acuerdo es la principal responsable de su elaboración. No obstante, si la ONPF que propone el acuerdo lo solicita, se alienta a la otra ONPF a ayudar en la elaboración.

Entre los elementos del acuerdo que la ONPF del país importador y la del país exportador podrán tener que concertar figuran los siguientes:

- el muestreo y la inspección de los envíos;
- la idoneidad de las instalaciones de inspección;
- los procedimientos de las pruebas;
- la verificación de los tratamientos;
- la verificación de la integridad del envío;
- el momento y el lugar en que se darán los diferentes pasos de la verificación del cumplimiento de los envíos, cuando proceda;
- la notificación al punto de entrada de la llegada de los envíos;

- si es necesario acompañar el certificado fitosanitario con otro certificado;
- la disponibilidad de personal cualificado para aplicar las disposiciones del acuerdo;
- el calendario para las actividades de verificación del cumplimiento;
- los procedimientos de aprobación y los gastos o gastos estimados que recaerán en los productores y exportadores que participen en el acuerdo;
- el alojamiento, el transporte, la higiene y la seguridad en el trabajo, la protección y otros aspectos logísticos que afecten a los funcionarios que intervienen.

Los pasos de la verificación del cumplimiento serán determinados por las ONPF que suscriban el acuerdo.

2.4 Requisitos técnicos

Los requisitos técnicos de un acuerdo deberían determinarse y elaborarse caso por caso y deberían describirse en el acuerdo.

En el acuerdo podrá incluirse información específica sobre:

- las autoridades jurídicas y de reglamentación;
- la legislación o los reglamentos fitosanitarios y de otro tipo pertinentes;
- las funciones y responsabilidades (incluidas las de las ONPF, los exportadores, los productores y otras partes interesadas pertinentes);
- las fechas y la duración de las actividades;
- los artículos reglamentados;
- todas las plagas reglamentadas y las medidas fitosanitarias pertinentes exigidas por la ONPF del país importador en relación con estas plagas;
- las acciones fitosanitarias como el muestreo, la inspección, las pruebas, la verificación del tratamiento y la verificación de la integridad del envío;
- la infraestructura y el equipo usados para la verificación del cumplimiento de los envíos;
- la documentación que la ONPF del país exportador deberá preparar y proporcionar a la ONPF del país importador;
- los aspectos financieros;
- la notificación de incumplimiento;
- las acciones correctivas aplicables a un envío en caso de incumplimiento;
- la frecuencia y las fechas de los exámenes del acuerdo;
- los criterios que podrían dar lugar al examen, la evaluación, la suspensión o la rescisión del acuerdo.

3. Implementación de un acuerdo

La verificación del cumplimiento descrita en un acuerdo podrá estar sujeta a condiciones de implementación; por ejemplo, la verificación podrá aplicarse a todos los envíos exportados de un determinado producto o únicamente a un porcentaje de los mismos, a ciertas categorías de productos reglamentados o por un período de tiempo definido durante la temporada de envíos.

Las actividades para la verificación del cumplimiento que se realizarán deberían limitarse a las previstas en el acuerdo.

Cuando se haya establecido un acuerdo y la verificación del cumplimiento se realice en el país exportador, no debería exigirse la misma verificación en el momento de la importación. Sin embargo, podrán aplicarse otros procedimientos en el país importador:

- la comprobación de la documentación y la identidad del envío;

- la inspección de los envíos cuando el embalaje haya sufrido daños y la integridad fitosanitaria de los envíos pueda haber resultado comprometida;
- la inspección de los envíos para detectar plagas contaminantes en los contenedores;
- la inspección de los envíos en respuesta a un nuevo riesgo de plagas que se desconocía en el momento de realizar la inspección en el país exportador;
- la inspección de los envíos si el acuerdo permite aplicar una medida fitosanitaria tras la inspección en el país exportador (por ejemplo, tratamiento con frío para las moscas de la fruta durante el transporte).

4. Examen de un acuerdo

La eficacia de un acuerdo debería examinarse periódicamente para detectar problemas y permitir que se debatan y resuelvan, con el fin de mejorar el acuerdo o determinar si podría reducirse su ámbito de aplicación o rescindirse. La frecuencia y las fechas de los exámenes deberían especificarse en el acuerdo. Podrá ser necesario examinar algunos elementos del acuerdo con más frecuencia que otros.

La ONPF del país importador o la del país exportador podrán proponer cambios en el acuerdo vigente, que deberán ser acordados por ambas ONPF antes de su implementación.

5. Rescisión de un acuerdo

Si las razones para el establecimiento de un acuerdo dejan de ser válidas (por ejemplo, debido a cambios en la logística del comercio entre los dos países) o si el acuerdo ya no se necesita, debería rescindirse.

Una vez rescindido un acuerdo, los procedimientos de verificación se realizarán en el país importador.

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Movimiento internacional de semillas

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NORMAS INTERNACIONALES PARA
MEDIDAS FITOSANITARIAS

NIMF 38
Movimiento internacional de semillas

Producido por la Secretaría de la
Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Adoptado en 2017; publicado en 2017

© FAO 2017

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites. La mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la FAO los apruebe o recomiende de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan.

Las opiniones expresadas en este producto informativo son las de su(s) autor(es), y no reflejan necesariamente los puntos de vista o políticas de la FAO.

© FAO, 2017

La FAO fomenta el uso, la reproducción y la difusión del material contenido en este producto informativo. Salvo que se indique lo contrario, se podrá copiar, descargar e imprimir el material con fines de estudio privado, investigación y docencia, o para su uso en productos o servicios no comerciales, siempre que se reconozca de forma adecuada a la FAO como la fuente y titular de los derechos de autor y que ello no implique en modo alguno que la FAO aprueba los puntos de vista, productos o servicios de los usuarios.

Todas las solicitudes relativas a la traducción y los derechos de adaptación así como a la reventa y otros derechos de uso comercial deberán dirigirse a www.fao.org/contact-us/licence-request o a copyright@fao.org.

Los productos de información de la FAO están disponibles en el sitio web de la Organización (www.fao.org/publications) y pueden adquirirse mediante solicitud por correo electrónico a publications-sales@fao.org.

Cuando se reproduce esta NIMF, se debe mencionar que las versiones actuales de las NIMF adoptadas se encuentran disponibles para su descarga en: www.ippc.int.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2009-11: El CN introdujo el tema Movimiento internacional de semillas (2009-003).

2010-03: La CMF-5 añadió el tema.

2010-12: El CN aprobó mediante decisión por medios electrónicos el envío del proyecto de especificación para consulta a los miembros.

2011-02: El proyecto de especificación se envió para consulta.

2011-05: El CN revisó y aprobó la especificación 54.

2013-07: El GTE redactó la NIMF.

2013-10: Los participantes del GTE examinaron el proyecto de NIMF.

2013-12: La administradora revisó el proyecto de NIMF.

2014-04: La administradora consultó al GTE y revisó el proyecto de NIMF basándose en las observaciones del GTG sobre la coherencia.

2014-05: El CN aprobó el proyecto de NIMF para consulta.

2014-07: Primera consulta.

2015-02: La administradora examinó las observaciones y revisó el proyecto.

2015-05: El CN7 examinó el proyecto de especificación (no recomendó una segunda consulta para 2015).

2016-01: El administrador y el administrador adjunto examinaron las observaciones.

2016-05: El CN7 revisó el proyecto y lo aprobó para una segunda consulta.

2016-06: El GTCF examinó el texto y propuso cambios para abarcar la cuestión de las semillas de árboles forestales; el administrador y el CN7 ajustaron ligeramente el texto propuesto.

2016-07: Segunda consulta.

2016-11: El CN aprobó remitir el texto a la CMF-12.

2017-04: La CMF-12 aprobó la norma.

NIMF 38. 2017. *Movimiento internacional de semillas*. Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

ÍNDICE

Aprobación.....	5
INTRODUCCIÓN	5
Ámbito de aplicación.....	5
Referencias	5
Definiciones	5
Perfil de los requisitos	5
ANTECEDENTES.....	6
REPERCUSIONES SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE	6
REQUISITOS.....	7
1. Análisis de riesgo de plagas.....	7
1.1 Las semillas como plagas.....	7
1.2 Las semillas como vías.....	7
1.3 Finalidad de la importación.....	8
1.3.1 Semillas para realizar pruebas de laboratorio o análisis con métodos destructivos	8
1.3.2 Semillas para plantar en condiciones restringidas.....	8
1.3.3 Semillas para plantar en el campo.....	8
1.4 Mezcla, combinación y agrupación de semillas.....	8
1.5 Manejo de plagas en la producción de semillas	9
1.5.1 Sistemas de certificación de semillas	10
1.5.2 Variedades vegetales resistentes	10
1.5.3 Tratamiento de las semillas.....	10
2. Medidas fitosanitarias.....	11
2.1 Inspección y análisis de los envíos para comprobar la ausencia de plagas	11
2.2 Inspección de campo para detectar la presencia de plagas.....	11
2.3 Áreas libres de plagas, lugares de producción libres de plagas, sitios de producción libres de plagas y zonas de baja prevalencia de plagas	11
2.4 Tratamientos.....	11
2.4.1 Tratamiento de los cultivos	11
2.4.2 Tratamiento de las semillas.....	12
2.5 Enfoques de sistemas	12
2.6 Cuarentena posentrada	12
2.7 Prohibición	12
3. Equivalencia de las medidas fitosanitarias	12
4. Requisitos específicos.....	13
4.1 Inspección	13
4.1.1 Inspección de envíos de semillas	13
4.1.2 Inspección de campo	14
4.2.1 Muestreo de lotes	14
4.2.1 Muestreo de lotes pequeños	14

4.3	Pruebas	14
4.3.1	Inspección de semillas tratadas	15
5.	Certificación fitosanitaria	15
6.	Mantenimiento de registros	16
APÉNDICE 1: Ejemplos de plagas transmitidas por semillas, plagas transportadas por semillas y plagas contaminantes		17
APÉNDICE 2: Directrices relativas a la probabilidad de que se transporten y se introduzcan grupos de plagas junto con semillas		18
1.	Artrópodos	18
1.1	Plagas anteriores a la cosecha	18
1.2	Plagas posteriores a la cosecha.....	18
2.	Hongos.....	19
3.	Bacterias	19
4.	Virus	19
5.	Viroides	19
6.	Fitoplasmas y espiroplasmas	19
7.	Nematodos	19
8.	Plantas consideradas como plagas	19
APÉNDICE 3: Bibliografía.....		20
1.	Las semillas como vías y las enfermedades transportadas por semillas y transmitidas por estas	20
2.	Pruebas y protocolos de muestreo de semillas.....	20
3.	Semillas de árbol	21
4.	Variedades vegetales resistentes.....	21
5.	Otros	21

Aprobación

La Comisión de Medidas Fitosanitarias aprobó esta norma en su duodécima reunión, celebrada en abril de 2017.

INTRODUCCIÓN

Ámbito de aplicación

La presente norma proporciona directrices para ayudar a las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) a identificar, evaluar y manejar el riesgo de plagas asociado al movimiento internacional de semillas (como clase de producto).

Asimismo, proporciona directrices sobre los procedimientos para establecer requisitos fitosanitarios de importación que faciliten el movimiento internacional de semillas; sobre la inspección, el muestreo y el análisis de semillas; y sobre la certificación fitosanitaria de las semillas para exportación y reexportación.

En virtud de la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*), las semillas, como clase de producto, son para plantar y no para consumir. Esta norma se ocupa también de las semillas viables, que son una muestra de un lote de semillas importadas para realizar pruebas de laboratorio o análisis mediante métodos destructivos.

La presente norma no abarca los granos ni las partes vegetativas de las plantas, como los tubérculos de papa.

Referencias

En la presente norma se hace referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios utilizados en la presente norma se pueden consultar en la NIMF 5.

Además de las definiciones que figuran en la NIMF 5, en la presente norma se emplean las siguientes definiciones.

Plaga transportada por semillas	Una plaga transportada externa o internamente por semillas, que puede o no transmitirse a las plantas que crecen a partir de estas y causa su infestación.
Plaga transmitida por semillas	Una plaga transportada por semillas que se transmite directamente a través de las mismas a las plantas que crecen de estas semillas y causa su infestación.

Perfil de los requisitos

Las semillas, al igual que otras formas de plantas para plantar, podrán entrañar un riesgo de plagas, ya que podrán introducirse en un ambiente donde las plagas asociadas con las semillas tengan muchas probabilidades de establecerse y propagarse.

Las semillas se mueven regularmente a escala internacional con fines comerciales y de investigación. Por consiguiente, al evaluar el riesgo de plagas y determinar medidas fitosanitarias apropiadas, ONPF deberían tener en cuenta el uso previsto de las semillas (investigación plantación en condiciones restringidas o plantación en condiciones naturales).

Un análisis de riesgos de plagas (ARP) debería determinar si las semillas son una vía de entrada, establecimiento y dispersión de plagas cuarentenarias y sus posibles consecuencias económicas que dichas semillas podrían ocasionar en el área del ARP, o si las semillas son una plaga en sí mismas o una vía y la principal fuente de infestación por plagas no cuarentenarias reglamentadas. En el ARP se debería considerar la finalidad con que se importan las semillas (plantación en el campo, investigación o pruebas) y las posibilidades de que se introduzcan y se propaguen plagas cuarentenarias, o de que plagas no cuarentenarias reglamentadas causen efectos inaceptables desde el punto de vista económico cuando la presencia de las mismas supere un determinado límite.

Podrán utilizarse medidas fitosanitarias específicas para reducir el riesgo de plagas asociado al movimiento internacional de semillas, incluidas las que podrán aplicarse antes de la plantación, durante el crecimiento, en la cosecha de las semillas, en la poscosecha, durante el procesamiento, el almacenamiento y el transporte de las semillas, y a su llegada al país de importación. Las medidas fitosanitarias podrán utilizarse solas o combinadas para manejar el riesgo de plagas. Los requisitos fitosanitarios de importación podrán cumplirse mediante la aplicación de medidas fitosanitarias equivalentes.

ANTECEDENTES

Las semillas se mueven a escala internacional tienen numerosos usos. Se plantan para la producción de alimentos, forraje, plantas ornamentales, biocombustibles y fibra, así como para la actividad forestal y para usos farmacológicos. Asimismo, tienen usos previos a la comercialización, como la investigación, el mejoramiento y la multiplicación de semillas.

Al igual que otras plantas para plantar, las semillas podrán entrañar un riesgo de plagas si se introducen en un ambiente donde las plagas asociadas con las semillas tienen una elevada probabilidad de establecerse y propagarse (NIMF 32, *Categorización de productos según su riesgo de plagas*).

Las empresas productoras de semillas podrán tener programas de mejoramiento y multiplicación en varios países, y podrán distribuir semillas de estos países a muchos otros. Además, se llevan a cabo internacionalmente actividades de investigación y mejoramiento para desarrollar nuevas variedades que se adapten a diversos ambientes y condiciones. El movimiento internacional de semillas podrá comprender pequeñas o grandes cantidades de semillas.

El movimiento internacional de semillas supone para las partes contratantes retos distintos de los que plantea el movimiento internacional de otros tipos de plantas para plantar. Por ejemplo, las semillas producidas en un país y exportadas a un segundo para su El movimiento (mediante peletización, recubrimiento u otros procesos), análisis y embalaje podrán reexportarse posteriormente a muchos otros destinos, con inclusión del país de origen. En el momento de producción de las semillas podrán desconocerse los países de destino y sus requisitos fitosanitarios de importación, sobre todo si transcurren varios años desde la producción hasta la exportación al destino final.

REPERCUSIONES SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE

La presente norma podrá ayudar a manejar los riesgos de plagas que supone el movimiento internacional de semillas, incluidos los que plantean las especies exóticas invasoras (definidas en el Convenio sobre la Diversidad Biológica).

Las medidas fitosanitarias internacionales armonizadas relativas a las semillas podrán ayudar a conservar la biodiversidad porque aumentan la posibilidad de intercambiar semillas sanas, esto es, libres de plagas.

REQUISITOS

1. Análisis de riesgo de plagas

El ARP para semillas que se lleva a cabo de conformidad con las normas NIMF 2 (*Marco para el análisis de riesgo de plagas*), NIMF 11 (*Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias*) y NIMF 21 (*Análisis de riesgo de plagas para plagas no cuarentenarias reglamentadas*) debería identificar las plagas reglamentadas que podrían estar asociadas a semillas y las semillas consideradas como plagas. En el ARP se debería considerar la finalidad con que se importan las semillas (plantación en el campo, investigación o realización de pruebas) y la probabilidad de que las plagas reglamentadas se establezcan y se propaguen y, en consecuencia, tengan repercusiones económicas (NIMF 32).

1.1 Las semillas como plagas

En el ARP relativo a las semillas como plagas se deberían seguir las directrices proporcionadas en el Anexo 4 de la NIMF 11.

1.2 Las semillas como vías

En el ARP relativo a las semillas como vías es preciso considerar de forma específica la capacidad de una plaga de transferirse a un huésped adecuado y provocar infestación, con vistas a determinar las plagas que han de reglamentarse.

Algunas plagas transportadas por semillas, al asociarse con un huésped adecuado a su entrada, podrán provocar la infestación del huésped cuando se plantan, cosa que podrá no ocurrir con otras.

Las plagas portadas por semillas abarcan:

- plagas transmitidas por semillas que son transportadas interna o externamente por la semilla e infestan directamente la planta hospedante que crece a partir de ella (categoría 1^a);
- plagas que no se transmiten por semillas pero que son transportadas interna o externamente por estas y se transfieren al ambiente, por ejemplo, al agua o al suelo, donde posteriormente infestan una planta hospedante en condiciones naturales (categoría 1b));
- plagas transportadas interna o externamente por semillas y que no se transfieren a una planta hospedante en condiciones naturales (categoría 1c)).

Existe otra categoría de plagas que podrá ser pertinente, aunque no se trata de plagas transportadas por semillas. Es la categoría de las plagas contaminantes presentes en un lote de semillas, incluidas las semillas de plantas como plagas (categoría 2).

Se deberían volver a evaluar las plagas de las categorías 1a), 1b) y 2 para determinar su establecimiento, la dispersión y repercusiones económicas. Las de la categoría 1c) no pueden establecerse porque no se transfieren a un huésped adecuado.

En el Apéndice 1 se proporcionan ejemplos de plagas de cada categoría.

En el ARP se debería considerar si se ha observado o confirmado que la transmisión de plagas se produce en condiciones naturales o en condiciones experimentales, por ejemplo, en un laboratorio o una cámara de crecimiento. En caso de que la transmisión de plagas se haya observado o confirmado en condiciones experimentales, será necesario confirmar también que puede producirse en condiciones naturales.

Tener en cuenta las características biológicas y epidemiológicas de determinados grupos de plagas podrá ayudar a determinar la probabilidad de que una plaga se introduzca en una zona junto con semillas. En el Apéndice 2 se proporciona orientación sobre la probabilidad de que se transporten y se introduzcan grupos de plagas junto con las semillas. Las plagas y semillas hospedantes deberían evaluarse en el nivel de especie a menos que exista una justificación técnica para utilizar un nivel taxonómico superior o inferior, de acuerdo con los requisitos previstos en la NIMF 11.

1.3 Finalidad de la importación

La producción de semillas podrá comprender varios pasos, como el mejoramiento, la multiplicación, el análisis con métodos destructivos o la plantación en el campo restringida, que podrán llevarse a cabo en países diferentes. La finalidad de la importación de semillas podrá repercutir en la probabilidad de que se establezcan plagas cuarentenarias, por lo que debería tenerse en cuenta al realizar el ARP y determinar medidas fitosanitarias (NIMF 32).

Las finalidades de la importación podrán clasificarse en forma amplia según el riesgo de plagas, de menor a mayor riesgo, tal como se indica a continuación.

1.3.1 Semillas para realizar pruebas de laboratorio o análisis con métodos destructivos

Estas semillas no están destinadas a ser plantadas ni a ser liberadas en el área de ARP. El ARP podrá no ser necesario porque estas semillas no se liberarán en el ambiente.

Las semillas importadas para pruebas podrán estar germinadas para facilitar dichas pruebas, pero su finalidad no es ser plantadas. Como medida fitosanitaria debería ser suficiente que se cumplan los requisitos relativos a las pruebas de laboratorio o condiciones de confinamiento parecidas y se destruyan las semillas, así como las plantas que crecen a partir de ellas.

La ONPF del país importador podrá no exigir otras medidas fitosanitarias para estas semillas si el riesgo de plagas se considera bajo o insignificante.

1.3.2 Semillas para plantar en condiciones restringidas

Estas semillas se importan con fines de investigación y se cultivan en ambientes protegidos, como invernaderos o cámaras de cultivo, o en campos aislados. Deberían plantarse en condiciones que eviten la introducción de plagas cuarentenarias en el área de ARP. Se cuentan entre ellas las semillas para evaluación, las semillas destinadas a obtener germoplasma y las que se emplean como material de mejoramiento.

Por lo que hace a estas semillas, las ONPF podrán exigir medidas fitosanitarias pertinentes, que no deberían ser más estrictas de lo necesario para hacer frente al riesgo de plagas determinado.

1.3.3 Semillas para plantar en el campo

Las semillas destinadas a la liberación sin restricciones en el área de ARP podrán presentar el mayor riesgo de plagas cuarentenarias.

La ONPF del país importador podrá exigir medidas fitosanitarias, que deberían ser proporcionales al riesgo de plagas evaluado. Podrán determinarse y publicarse niveles específicos de tolerancia con respecto a plagas no cuarentenarias reglamentadas.

1.4 Mezcla, combinación y agrupación de semillas

La mezcla de semillas consiste en reunir diferentes especies, variedades o cultivares en un único lote; por ejemplo, una mezcla de semillas de gramíneas para césped o una mezcla de semillas de flores silvestres. La combinación de semillas consiste en reunir diferentes lotes de semillas de la misma variedad en un único lote. El agrupamiento consiste en reunir en un único lote semillas de la misma variedad procedentes de campos distintos inmediatamente después de la cosecha.

Semillas de varios orígenes y cosechadas en distintos años podrán mezclarse o combinarse. Todas las semillas de una mezcla, una combinación o un agrupamiento deberían cumplir los requisitos fitosanitarios de importación pertinentes.

Al evaluar el riesgo de plagas de semillas mezcladas, combinadas o agrupadas deberían considerarse todas las combinaciones de plagas, huéspedes y orígenes. También deberían tenerse en cuenta los efectos de los procesos de mezclado, combinación y agrupamiento, como la dilución o el aumento de la manipulación, a la hora de determinar el riesgo total de plagas de las mezclas, las combinaciones y los lotes agrupados de semillas.

Las pruebas y la inspección dirigidas a la certificación podrán realizarse en los componentes o bien en la mezcla o la combinación.

Todos los componentes de la mezcla, combinación o agrupamiento deberían ser rastreables.

1.5 Manejo de plagas en la producción de semillas

Ciertas prácticas empleadas en la producción de semillas podrán, solas o combinadas, ser suficientes para cumplir los requisitos fitosanitarios de importación. Con vistas a facilitar la localización de las semillas, según proceda, se debería conservar toda la documentación relativa a las medidas fitosanitarias aplicadas a las mismas.

Las medidas fitosanitarias podrán incluirse en los protocolos manejo integrado de plagas y de control de calidad que se aplican en la producción de semillas.

En el caso de semillas de árboles, las medidas fitosanitarias a menudo se aplican únicamente en el momento de la cosecha.

Las prácticas de producción podrán variar entre los distintos sectores de la producción de semillas, como los cultivos en el campo o la actividad forestal. A continuación se indican las opciones que podrán considerarse a la hora de determinar el manejo del riesgo de plagas:

Antes de la plantación:

- uso de variedades vegetales resistentes (sección 1.5.2);
- uso de semillas sanas (libres de plagas);
- tratamiento de las semillas (sección 1.5.3);
- prácticas de cultivo, como la rotación o la plantación mixta;
- selección en el campo;
- tratamiento del suelo o el medio de crecimiento;
- aislamiento geográfico o temporal;
- saneamiento o desinfección del agua.

Antes de la cosecha:

- medidas de higiene, por ejemplo, desinfección de las manos y el calzado de los trabajadores, el equipo, la maquinaria y los aperos agrícolas;
- inspección en el campo y, cuando proceda, realización de pruebas para detectar si se observan síntomas;
- saneamiento del campo, por ejemplo, eliminación de plantas sintomáticas y de malas hierbas;
- análisis de la planta madre;
- tratamiento de los cultivos;
- ambientes protegidos, como invernaderos o cámaras de crecimiento;
- saneamiento o desinfección del agua.

Cosecha y manipulación poscosecha:

- medidas de higiene, por ejemplo, desinfección de las manos y el calzado de los trabajadores, el equipo, la maquinaria y los aperos agrícolas;
- cosecha en el momento oportuno, por ejemplo: apenas la semilla madura, en años de fructificación abundante en el caso de las semillas de árboles, extraídas de los frutos en la fase anterior a la maduración;
- uso de desinfectantes durante la extracción de las semillas;
- limpieza, secado, acondicionamiento y triaje de las semillas;
- análisis de las semillas;
- almacenamiento de las semillas;
- tratamiento de las semillas (sección 1.5.3);
- saneamiento, por ejemplo, eliminación de los residuos vegetales, la tierra o las plantas y semillas visiblemente infestadas;
- embalaje y sellado de las semillas;
- tratamiento mecánico por ejemplo, separación de las semillas sanas (esto es, libres de plagas);
- tipo de cosecha, por ejemplo, empleo de mallas de recogida o lonas alquitranadas para las semillas de árboles.

1.5.1 Sistemas de certificación de semillas

Ciertos elementos de un sistema de certificación de semillas (un sistema para mejorar la calidad de las semillas) podrán influir en el riesgo de plagas de las semillas que se estén certificando. En el manejo del riesgo de plagas, las ONPF podrán considerar algunos de estos elementos, por ejemplo, la inspección para detectar la presencia de plagas o el análisis de pureza para detectar semillas de malas hierbas, y evaluarlos uno por uno.

Los sistemas de certificación de semillas deberían garantizar la rastreabilidad de las mismas. En algunas de las fuentes que se indican en el Apéndice 3 se proporciona información sobre los sistemas internacionales de certificación de semillas.

1.5.2 Variedades vegetales resistentes

Los programas modernos de mejoramiento podrán producir variedades de plantas con un alto grado de resistencia a las plagas, lo que podrá comprender la resistencia a plagas reglamentadas. Cuando la resistencia confirmada a una plaga reglamentada es tal que una variedad resistente no viene infestada por dicha plaga, la ONPF del país importador podrá considerar esta resistencia como una opción apropiada de manejo del riesgo de plagas.

El grado de resistencia de una variedad vegetal a diferentes plagas reglamentadas podrá cambiar en función de las características de resistencia presentes en la planta. Los genes de resistencia podrán ser efectivos contra todas o algunas razas, cepas, biotipos o patotipos de la plaga de que se trate, pero el grado de resistencia podrá verse afectado por la aparición de razas, cepas, biotipos o patotipos nuevos. Por consiguiente, la resistencia a las plagas debería evaluarse caso por caso. La ONPF del país importador podrá considerar la posibilidad de emplear variedades resistentes como medida fitosanitaria apropiada en el marco de un enfoque de sistemas.

En el Apéndice 3 se propone una bibliografía sobre la utilización de variedades vegetales resistentes.

1.5.3 Tratamiento de las semillas

Las semillas podrán ser tratadas a fin de eliminar una infestación por una plaga; sin embargo, podrán tratarse incluso sin estar infestadas, bien como precaución mediante una desinfección general, bien para proteger las plántulas que crecen de las semillas cuando están expuestas a plagas en el ambiente. Los tratamientos de las semillas también podrán no estar relacionados con ninguna plaga; por ejemplo, las semillas se podrán tratar con potenciadores del crecimiento de las plántulas.

Los tratamientos de las semillas comprenden, sin limitarse a estos, los siguientes:

- plaguicidas (fungicidas, insecticidas, nematocidas y bactericidas);
- desinfectantes, que generalmente se utilizan para combatir bacterias y virus; la desinfección podrá llevarse a cabo en diversas etapas del proceso al que se someten las semillas (por ejemplo, la extracción o la pregerminación¹) o durante un procedimiento de desinfección específico;
- tratamientos físicos; por ejemplo, calor seco, vapor, agua caliente, irradiación con luz ultravioleta, presión elevada o congelación profunda;
- tratamientos biológicos basados en diferentes modos de acción, como el antagonismo, la competencia y la resistencia inducida.

2. Medidas fitosanitarias

De conformidad con la NIMF 11, deberían aplicarse medidas fitosanitarias proporcionales al riesgo de plagas evaluado, solas o en forma combinada, con miras a prevenir la introducción y dispersión de plagas cuarentenarias reglamentadas y garantizar el cumplimiento de niveles de tolerancia ante plagas cuarentenarias reglamentadas, determinados mediante un ARP.

2.1 Inspección y análisis de los envíos para comprobar la ausencia de plagas

El muestreo de semillas, incluido el tamaño de las muestras (número total de semillas analizadas) debería ser apropiado para detectar plagas reglamentadas. En la NIMF 31 (*Metodologías para muestreo de envíos*) se brindan directrices generales sobre las metodologías de muestreo. Para confirmar la presencia de plagas, podrá ser necesario analizar las semillas cosechadas con síntomas visibles que sugieran la presencia de plagas reglamentadas.

2.2 Inspección de campo para detectar la presencia de plagas

La inspección de campo podrá ser una medida fitosanitaria para detectar algunas plagas reglamentadas que producen síntomas visibles.

2.3 Áreas libres de plagas, lugares de producción libres de plagas, sitios de producción libres de plagas y zonas de baja prevalencia de plagas

Se deberían establecer, reconocer y mantener áreas libres de plagas, lugares de producción libres de plagas, sitios de producción libres de plagas y zonas de baja prevalencia de plagas, de conformidad con la NIMF 4 (*Requisitos para el establecimiento de áreas libres de plagas*), la NIMF 10 (*Requisitos para el establecimiento de lugares de producción libres de plagas y sitios de producción libres de plagas*) y la NIMF 29 (*Reconocimiento de áreas libres de plagas y de áreas de baja prevalencia de plagas*).

Las áreas de baja prevalencia de plagas de conformidad con la NIMF 22 (*Requisitos para el establecimiento de áreas de baja prevalencia de plagas*) podrán emplearse solas o combinadas con otras medidas fitosanitarias en el marco de un enfoque de sistemas (NIMF 14, *Aplicación de medidas integradas en un enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas*).

2.4 Tratamientos

2.4.1 Tratamiento de los cultivos

Para prevenir la infestación de las semillas se podrá recurrir a la aplicación de plaguicidas a las plantas madre.

¹La pregerminación es el pretratamiento de las semillas con varios métodos para aumentar el porcentaje y la uniformidad de germinación.

2.4.2 Tratamiento de las semillas

Los tratamientos de las semillas podrán utilizarse como medidas fitosanitarias (sección 1.5.3).

Muchas especies de árboles tropicales y algunas de clima templado producen semillas que son sensibles a la desecación y particularmente propensas a sufrir plagas latentes o infestación por plagas. Podrán aplicarse tratamientos físicos o químicos para evitar el desarrollo de plagas latentes o la infestación por plagas en semillas que deban mantenerse en condiciones de humedad elevada.

2.5 Enfoques de sistemas

Los enfoques de sistemas permiten considerar los procedimientos anteriores y posteriores a la cosecha que podrán contribuir a un manejo eficaz del riesgo de plagas. Numerosas prácticas de gestión de plagas dirigidas a reducir el riesgo de plagas en todo el proceso de producción de semillas, desde la plantación hasta la cosecha, podrán integrarse en un enfoque de sistemas. En la NIMF 14 se proporcionan directrices para la elaboración y evaluación de medidas integradas en un enfoque de sistemas como opción para el manejo del riesgo de plagas.

2.6 Cuarentena posentrada

La ONPF del país importador podrá exigir la cuarentena posentrada de las semillas, que comprenda el confinamiento en una estación de cuarentena, cuando se trate de una plaga cuarentenaria difícil de detectar, la aparición de los síntomas requiera un cierto tiempo o sea necesario realizar análisis o tratamientos y no se disponga de medidas fitosanitarias alternativas. Las directrices relativas a las estaciones de cuarentena posentrada se proporcionan en la NIMF 34 (*Estructura y operación de estaciones de cuarentena posentrada para plantas*).

Como parte de la cuarentena posentrada, se podrá sembrar una muestra representativa del lote de semillas y realizar pruebas con las plantas que crezcan de estas semillas (este procedimiento podrá constituir una opción en el caso de pequeños lotes de semillas utilizados con fines de investigación).

La ONPF del país importador podrá considerar, basándose en las conclusiones de un ARP, que se logrará una adecuada gestión del riesgo de plagas exigiendo que las semillas importadas se planten en un área de cultivo designada. El área de cultivo debería estar aislada respecto de otras plantas hospedantes y podrán requerirse medidas de eliminación de malas hierbas, de saneamiento y de higiene de las personas, la maquinaria y el equipo.

2.7 Prohibición

Las ONPF podrán prohibir la importación de semillas de determinadas especies u orígenes cuando se establezca, mediante un ARP, que dichas semillas tienen un elevado riesgo de constituir una vía para plagas cuarentenarias y no se disponga de medidas fitosanitarias alternativas. Ello comprende las situaciones en las que las semillas pueden entrañar un riesgo elevado de constituir una vía para las plantas consideradas como plagas, como en el caso de las malas hierbas o las especies exóticas invasoras. Las directrices relativas a la prohibición de la importación pueden encontrarse en la NIMF 20 (*Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones*).

La ONPF del país importador podrá permitir —con fines de investigación y con una autorización para la importación que indique condiciones específicas dirigidas a evitar la introducción y dispersión de plagas cuarentenarias— la entrada de semillas que normalmente están prohibidas.

3. Equivalencia de las medidas fitosanitarias

La equivalencia de las medidas fitosanitarias (NIMF 1: *Principios fitosanitarios para la protección de las plantas y la aplicación de medidas fitosanitarias en el comercio internacional*) reviste especial importancia para el movimiento internacional de semillas, puesto que las empresas productoras de semillas podrán tener programas de mejoramiento y multiplicación en varios países así como exportar estas semillas a otros países, y podrá haber reexportaciones frecuentes de un mismo lote de semillas.

El país exportador podrá iniciar la determinación de la equivalencia de medidas fitosanitarias solicitando la equivalencia al país importador, tal como se describe en la NIMF 24 (*Directrices para la determinación y el reconocimiento de la equivalencia de las medidas fitosanitarias*). También podrá iniciarla el país importador. Se alienta a las ONPF a proporcionar múltiples opciones cuando establezcan los requisitos fitosanitarios de importación.

Las medidas fitosanitarias equivalentes podrán ofrecer opciones a las ONPF para que logren la protección exigida. Un ejemplo de medida fitosanitaria equivalente es la sustitución de un requisito de inspección en el campo de un cultivo para semillas, en el país de origen, por pruebas o tratamientos de las semillas apropiados para la plaga reglamentada. En la NIMF 24 se proporcionan directrices sobre la equivalencia de las medidas fitosanitarias.

Con respecto a las semillas (incluidas las orgánicas) que deban someterse a un tratamiento químico específico para la importación, si el producto químico no está permitido en el país de origen, en la exportación o la reexportación, la ONPF del país importador debería considerar una medida fitosanitaria equivalente, siempre que sea posible, a condición de que sea técnicamente viable y reduzca hasta un nivel aceptable el riesgo de plagas evaluado. Se recomienda que los requisitos fitosanitarios de importación no especifiquen productos químicos, ingredientes activos ni protocolos exactos.

4. Requisitos específicos

A continuación se exponen requisitos específicos para la inspección, el muestreo y el análisis de semillas con vistas a la certificación o verificación fitosanitaria.

4.1 Inspección

La inspección podrá realizarse en el envío de semillas o en el campo de un cultivo en crecimiento, o ambos, según proceda. En las normas NIMF 23 (*Directrices para la inspección*) y NIMF 31 se proporcionan más directrices sobre la inspección y el muestreo.

4.1.1 Inspección de envíos de semillas

Los envíos de semillas podrán inspeccionarse para detectar la presencia de semillas de plantas reglamentadas consideradas como plagas, como malas hierbas o especies exóticas invasoras; signos o síntomas de plagas reglamentadas; la presencia de artículos reglamentados, por ejemplo tierra; o la presencia de plagas contaminantes. La inspección para detectar síntomas de plagas podrá ser eficaz en los casos en que se sabe que las semillas infestadas muestran síntomas característicos, como cambios de color o ajamiento. No obstante, la presencia de la plaga debería confirmarse mediante pruebas de laboratorio. Si en relación con plagas reglamentadas asintomáticas, o con síntomas poco fiables, se exige que las semillas estén libres de la plaga o cumplan con un grado de tolerancia específico, el examen visual debería combinarse con la realización de pruebas.

La inspección de semillas puede llevarse a cabo con o sin la ayuda de dispositivos que tréan automáticamente las semillas en función de características físicas visibles. Si bien la inspección podrá ser eficaz para detectar insectos y ácaros, la mayor parte de las plagas transportadas por semillas (bacterias, hongos, nematodos, viroides y virus) no son detectables a simple vista y requieren un examen más especializado, por ejemplo con un microscopio binocular, o pruebas de laboratorio. Antes de la inspección podrá ser necesario lavar, tamizar o romper las semillas.

A la hora de inspeccionar semillas recubiertas, peletizadas, encintadas, en alfombrillas o incrustadas en otros sustratos, podrá ser necesario eliminar con agua el material de recubrimiento o romperlo, puesto que podrá reducir la capacidad de observar las semillas o los síntomas de la plaga en las mismas. En estos casos, la ONPF del país importador podrá exigir a la del país exportador que realice un muestreo sistemático de las semillas y las someta a pruebas antes de recubrirlas, peletizarlas o incrustarlas en un sustrato. A efectos del monitoreo en el momento de la importación, la ONPF del país importador podrá pedir a la del país exportador que suministre una muestra de las semillas (de tamaño proporcional al lote) antes del revestimiento, la peletización u otro tratamiento, para inspeccionarla y someterla a

pruebas; o bien, si así se hubiera acordado bilateralmente, que recoja una muestra oficial, someta a pruebas las semillas antes del revestimiento, la peletización u otro tratamiento y facilite los resultados de las pruebas.

4.1.2 Inspección de campo

La inspección del cultivo para semillas en el campo llevada a cabo por personal capacitado en el momento apropiado podrá resultar de utilidad para detectar plagas reglamentadas que se sabe que causan síntomas visibles. Una plaga observada en el campo en la planta madre no necesariamente estará presente sobre las semillas que producen estas plantas ni dentro de ellas (sección 1.2). Podrá realizarse una prueba de laboratorio con las semillas cosechadas a fin de determinar si están infestadas.

4.2.1 Muestreo de lotes

Se puede proceder al muestreo de un lote de semillas a fin de inspeccionarlo o someterlo a pruebas para confirmar la ausencia de una plaga en el lote.

La inspección para detectar plagas suele basarse en el muestreo. Los métodos de muestreo que empleen las ONPF dependerán de los objetivos de dicho muestreo, (para realizar pruebas o para inspección) y podrán basarse únicamente en criterios estadísticos o elaborarse teniendo en cuenta determinadas limitaciones operativas.

En la NIMF 31 se brindan directrices sobre el muestreo de envíos para inspección.

4.2.1 Muestreo de lotes pequeños

El análisis de muestras que se hayan tomado de conformidad con la NIMF 31 a partir de un pequeño lote podrá conllevar la destrucción de una gran parte del mismo. En estos casos, la ONPF del país importador debería considerar la posibilidad de utilizar metodologías de muestreo alternativas, como el agrupamiento de pequeñas muestras procedentes de diferentes lotes con fines de prueba, según lo previsto en la NIMF 24.

En los casos en que no sea posible extraer muestras de lotes pequeños, la ONPF del país importador podrá determinar requisitos específicos de cuarentena posentrada.

4.3 Pruebas

La inspección podrá no ser suficiente para determinar si hay presencia de una plaga reglamentada, de manera que podrán ser necesarias otras formas de detección (por ejemplo, pruebas de laboratorio). Algunas bacterias, hongos, insectos, nematodos, viroides y virus podrán no ser detectables mediante la inspección de los envíos de semillas o de plantas durante el crecimiento, pero sí mediante pruebas específicas de laboratorio que sigan protocolos validados para plagas reglamentadas.

Los métodos de diagnóstico moleculares y serológicos se consideran protocolos indirectos para detectar plagas en semillas. Estos métodos podrán dar un resultado positivo incluso en ausencia de plagas viables. Por consiguiente, cuando se analicen semillas con estos métodos, los resultados deberían interpretarse cuidadosamente. Para confirmar la presencia de una plaga viable en una muestra, podrá ser necesario realizar pruebas de confirmación o pruebas complementarias basadas en un principio biológico distinto. Con objeto de evitar falsos positivos y falsos negativos, las ONPF deberían velar por que se utilicen protocolos de diagnóstico reconocidos o validados internacionalmente.

En la NIMF 27 (*Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas*) se describen la finalidad y el uso de los protocolos de diagnóstico, y en sus anexos figuran los protocolos aprobados. En las fuentes enumeradas en el Apéndice 3 puede encontrarse información sobre varios otros protocolos, algunos de los cuales han sido validados.

4.3.1 Inspección de semillas tratadas

El tratamiento de las semillas podrá influir en la sensibilidad de las pruebas. En condiciones ideales, para determinar la eficacia del tratamiento debería utilizarse un método de detección que solo detecte plagas viables, de tal forma que cuando el tratamiento haya sido eficaz, la prueba dé negativo. Son ejemplos de estos métodos las técnicas de detección de bacterias y hongos en las que el microorganismo crece sobre el sustrato (medios de crecimiento o papel de filtro) y las técnicas para detectar virus que prevén la siembra de las semillas y la observación de los síntomas en las plantas. La mayoría de los métodos de análisis de semillas se ha elaborado y validado para su uso en semillas que no están tratadas. Si deben realizarse pruebas con semillas tratadas, el método empleado en esas pruebas debería estar validado para semillas tratadas.

Los resultados de las pruebas con semillas tratadas deberían interpretarse con precaución, ya que pueden plantearse las situaciones siguientes:

- El tratamiento inactiva la plaga pero el método de detección detecta tanto las plagas viables como las inviables. Es lo que podrá ocurrir con algunas pruebas serológicas o moleculares, o cuando la detección utilice criterios morfológicos para identificar plagas o estructuras de plagas que podrán sobrevivir al tratamiento (nematodos o esporas). En tales casos, la determinación de la eficacia del tratamiento solo es concluyente si se utiliza una prueba validada para semillas tratadas.
- El tratamiento inhibe física o químicamente el método de detección; por ejemplo, algunos métodos de detección de bacterias se ven afectados por los tratamientos con fungicidas.
- El tratamiento incide de forma negativa en el método de detección; por ejemplo, un método detecta solo las plagas presentes externamente, y las que sigan estando presentes internamente después del tratamiento no pueden detectarse. En estas situaciones, deberían utilizarse otros métodos que sean capaces de detectar la infección interna.

5. Certificación fitosanitaria

El carácter mundial y temporal del comercio de semillas (reexportación a numerosos destinos, reexportación repetida desde el mismo lote de semillas, almacenaje a largo plazo) supone, para la certificación fitosanitaria, problemas distintos de los que plantea el movimiento internacional de otros productos.

Se alienta a las ONPF a que intercambien información fitosanitaria oficial complementaria con otras ONPF en el momento de la certificación de exportaciones con vistas a permitir la certificación para la reexportación de semillas descrita en la NIMF 12 (*Certificados fitosanitarios*). En el certificado fitosanitario emitido por el país de origen se podrá incluir información fitosanitaria oficial complementaria que no haya solicitado el primer país de importación cuando así lo solicite el exportador a fin de facilitar la reexportación futura a otros países (NIMF 12).

En el momento de la producción se podrá desconocer la existencia de un requisito fitosanitario de importación que exige la inspección en el campo. Cuando corresponda, la ONPF del país importador podrá considerar medidas fitosanitarias equivalentes, como pruebas o tratamientos, con objeto de cumplir los requisitos fitosanitarios de importación para las semillas que ya se hayan cosechado, de conformidad con la NIMF 24. No obstante, la responsabilidad de cumplir los requisitos fitosanitarios de importación recae en el país exportador.

En los certificados fitosanitarios, la expresión “lugar de origen” hace referencia principalmente a los lugares donde se han cultivado las semillas. Si las semillas se reembalan, se almacenan o se trasladan, el riesgo de plagas podrá cambiar en la nueva ubicación debido a la posible infestación o contaminación por plagas reglamentadas. Asimismo, el riesgo de plagas también podrá cambiar si un tratamiento o desinfección elimina una posible infestación o contaminación. En dichos casos, cada país y lugar, de ser necesario, debería declararse con el lugar de origen inicial entre paréntesis, de conformidad con la NIMF 12. Si el envío no ha estado expuesto a infestación en el país o lugar de reexportación, esto se podrá indicar en el certificado fitosanitario para la reexportación. Si hay lotes distintos dentro de un

envío que proceden de lugares o países de origen diferentes, o si los lotes se han formado por mezcla, combinación o agrupamiento, se deberían indicar todos los países y lugares pertinentes.

6. Mantenimiento de registros

Debido a que las semillas podrán almacenarse durante muchos años antes de exportarse o reexportarse, la información fitosanitaria oficial relativa al lote de semillas, que comprende el certificado fitosanitario original de exportación en el caso de reexportaciones, debería conservarse mientras las semillas estén almacenadas.

Este apéndice se presenta únicamente como referencia y no constituye una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 1: Ejemplos de plagas transmitidas por semillas, plagas transportadas por semillas y plagas contaminantes

En este apéndice se proporcionan ejemplos de plagas pertenecientes a las categorías presentadas en la sección 1.2 (Las semillas como vías) de la norma.

Categoría 1a): Plagas transmitidas por semillas que son transportadas interna o externamente por las semillas e infestan directamente a la planta hospedante que crece a partir de ellas

- *Acidovorax citrulli* en semillas de *Citrullus lanatus*.
- *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en semillas de *Solanum lycopersicum*.
- *Ditylenchus dipsaci* en la superficie de semillas de *Vicia faba* y *Medicago sativa*
- *Fusarium circinatum* en la superficie de semillas de *Pinus* spp. y *Pseudotsuga menziesii* o dentro de ellas.
- Virus del mosaico del guisante transportado por semilla en semillas de *Pisum sativum*.
- *Squash mosaic virus* en semillas de *Cucumis melo*.
- *Tomato mosaic virus* en semillas de *S. lycopersicum*.

Categoría 1b): Plagas no transmitidas por semillas, pero que son transportadas interna y externamente por semillas y se transfieren al ambiente (por ejemplo, el agua o el suelo), donde posteriormente infestan una planta hospedante en condiciones naturales

- *D. dipsaci* en la superficie de semillas de *V. faba* y *M. sativa* o dentro de ellas
- *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* en la superficie de semillas de *S. lycopersicum*
- *Gibberella avenaceae* en la superficie de semillas de *Linum usitatissimum*
- *Megastigmus* spp. en semillas de *Abies* spp.

Categoría 1c): Plagas transportadas interna o externamente por semillas, que no se transfieren a una planta hospedante en condiciones naturales

- *Callosobruchus chinensis* y *C. maculatus* en la superficie de semillas de Fabaceae.
- Virus del moteado amarillo del arroz en la superficie de semillas de *Oryza sativa*.

Categoría 2: Plagas contaminantes

- *Cyperus iria* en lotes de semillas de *Oryza sativa*.
- *Mycosphaerella pini* en lotes de semillas de *Pinus* spp. contaminados con residuos de agujas.
- *Sclerotium cepivorum*, esclerocios en lotes de semillas de *Allium cepa*.

Este apéndice se presenta únicamente como referencia y no constituye una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 2: Directrices relativas a la probabilidad de que se transporten y se introduzcan grupos de plagas junto con semillas

En este apéndice se proporcionan directrices generales para la evaluación de la probabilidad de que distintos grupos de plagas sean transportados e introducidos con las semillas. De conformidad con la NIMF 11, se recomienda evaluar las plagas y sus huéspedes en el nivel de la especie a menos que exista una justificación técnica para utilizar un nivel taxonómico superior o inferior. Las directrices para evaluar la probabilidad de que las plagas se asocien con semillas o estén presentes en envíos de semillas, y sobre el potencial de dichas plagas para establecerse y propagarse a través de esta vía, se encuentran en la sección 1.2 de la norma y en la NIMF 11.

La información disponible sobre la transmisión de plagas a través de semillas es escasa y en ocasiones contradictoria. Además, una plaga que ha demostrado poder transmitirse a través de las semillas en un hospedante no necesariamente se transmitirá a todos los hospedantes conocidos. Debería considerarse la información relativa a la transmisión a través de semillas a otros huéspedes y el grado de infestación de los mismos antes de que se formen las semillas.

A la hora de determinar la interacción entre la plaga y el huésped, las ONPF deberían considerar que ciertas plantas que pueden hospedar determinadas plagas en condiciones experimentales podrán no ser huéspedes en condiciones naturales.

1. Artrópodos

1.1 Plagas anteriores a la cosecha

Los artrópodos presentes en el campo comprenden plagas que se alimentan en la superficie de las semillas o en su interior durante el período inicial de desarrollo de las mismas, antes de la cosecha.

Los artrópodos presentes en el campo que tienen poca probabilidad de estar presentes en los envíos de semillas comprenden:

- los que se alimentan de las partes externas: los artrópodos que se alimentan de las partes externas de las semillas suelen eliminarse durante la cosecha y la limpieza.
- los que se alimentan de las partes internas y provocan abortos de semillas: los artrópodos que se alimentan de las partes internas de las semillas suelen provocar la caída de la semilla antes de su madurez y cosecha.

Es muy probable que en los envíos de semillas haya artrópodos que se alimentan de las partes internas de semillas maduras en el campo, ya que suelen recogerse junto a estas durante la cosecha. Durante la fase del ARP relativa al manejo del riesgo de plagas es preciso prestar atención para determinar si estos artrópodos (por ejemplo, *Bruchidae*) serían visibles durante la inspección o la clasificación cualitativa y si sobrevivirían en condiciones de almacenamiento.

1.2 Plagas posteriores a la cosecha

Los artrópodos que se alimentan de productos almacenados pueden infestar semillas después de la recolección, en particular si estas se han almacenado en malas condiciones (por ejemplo, con una elevada humedad o con otras semillas almacenadas anteriormente). Si las condiciones de almacenamiento son buenas, lo que generalmente sucede con semillas de gran valor, la probabilidad de que los artrópodos se alimenten de semillas almacenadas disminuye notablemente o desaparece.

Es poco probable que en envíos de semillas haya artrópodos que se alimentan de las partes externas de semillas almacenadas. Los artrópodos que se alimentan de partes externas de semillas pero no se adhieren a ellas podrán destruir las semillas, por lo que suponen un riesgo como plagas contaminantes. También puede haber presencia de plagas secundarias como *Mycetophagus* spp., *Acarus* spp. o *Liposcelis* spp. si el saneamiento es deficiente o provoca un exceso de materia extraña.

Es muy probable que en envíos de semillas haya artrópodos que se alimentan de partes internas de productos almacenados. Por consiguiente, debería prestarse atención a la probabilidad de que se produzca infestación si las condiciones de almacenamiento son deficientes. Los artrópodos que se alimentan de las partes internas de semillas podrán infestar las semillas que queden expuestas antes del embalaje.

2. Hongos

Los hongos y los organismos similares a los hongos podrán estar asociados a semillas tanto interna como externamente sin provocar enfermedades en las plantas que crecen a partir de ellas; sin embargo, numerosas especies causan podredumbre de la semilla y necrosis, reducen la germinación e infestan las plántulas. Los hongos patógenos de las semillas pueden agruparse en patógenos de campo y patógenos de almacenaje. Los hongos pueden aparecer sobre la superficie de las semillas o mezclarse con estas como plagas contaminantes, y podrán introducirse y propagarse al cultivo hospedante o a otros cultivos, por ejemplo a través de la contaminación del medio de crecimiento. Asimismo, pueden estar presentes en los tegumentos o en la parte interna de la semilla e introducirse y propagarse al cultivo hospedante de este modo.

3. Bacterias

Si bien no todas las bacterias se transmiten a través de semillas, pueden encontrarse sobre su superficie o dentro de las mismas, como infecciones internas o externas, respectivamente.

4. Virus

No todos los virus son transmitidos por semillas. Los virus, por norma general, solo pueden transmitirse a través de semillas si el embrión de la semilla está infectado, aunque hay excepciones en el género *Tobamovirus*. Por lo que hace a los virus transmitidos por semillas, el porcentaje de plántulas infectadas suele ser inferior al de semillas infestadas.

5. Viroides

Se ha demostrado que numerosos viroides se transmiten por semillas, pero no todos.

6. Fitoplasmas y espiroplasmas

No existen pruebas sustanciales de transmisión de fitoplasmas o espiroplasmas por semillas en condiciones naturales.

7. Nematodos

La mayoría de las especies de nematodos parásitos de plantas se consideran parásitos radiculares internos o externos; no obstante, se sabe que algunas especies (*Ditylenchus dipsaci*, *Anguina tritici* y *Anguina agrostis*) atacan las partes aéreas de las plantas, incluidas las semillas. Generalmente, los nematodos que se consideran plagas transmitidas por semillas son especies conocidas por ser endoparásitos, es decir, que se alimentan de partes internas. Algunas especies ectoparásitas, esto es, que se alimentan de partes externas, como *Aphelenchoides besseyi*, tienen estadios inactivos en las semillas, los residuos vegetales y el suelo, o se transforman en endoparásitos e invaden las inflorescencias y las semillas en desarrollo (como *A. tritici*).

8. Plantas consideradas como plagas

Las semillas de plantas consideradas como plagas (malas hierbas y plantas parásitas) podrán introducirse en un país como plagas contaminantes en lotes de semillas.

Este apéndice se presenta únicamente como referencia y no constituye una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 3: Bibliografía

Las referencias que figuran en este apéndice gozan de reconocimiento general como fidedignas. La lista no es exhaustiva ni estática.

1. Las semillas como vías y las enfermedades transportadas por semillas y transmitidas por estas

- Agarwal, V.K. y Sinclair, J.B.** 1996. *Principles of seed pathology*, 2.^a ed. Boca Ratón, Florida (Estados Unidos), CRC Press. 560 págs.
- Bertaccini, A., Duduk, B., Paltrinieri, S. y Contaldo, N.** 2014. Phytoplasmas and phytoplasma diseases: A severe threat to agriculture. *American Journal of Agricultural Economics*, 5(12): 1763-1788.
- Cram, M.M. y Fraedrich, S.W.** 2009. Seed diseases and seedborne pathogens of North America (forest trees). *Tree Planter's Notes*, 53(2): 35-44.
- ISF** (Federación Internacional de Semillas), sin fecha. Base de datos de la ISF de plagas reglamentadas. Nyon (Suiza), ISF. Disponible en http://pestlist.worldseed.org/isf/pest_lists_db.html (consultado el 23 de septiembre de 2016).
- Johansen, E., Edwards, M.C. y Hampton, R.O.** 1994. Seed transmission of viruses: Current perspectives. *Annual Review of Phytopathology*, 32: 363-386.
- Mink, G.I.** 1993. Pollen- and seed-transmitted viruses and viroids. *Annual Review of Phytopathology*, 31: 375-402.
- Sastry, K.S.** 2013. *Seed-borne plant virus diseases*. Nueva Delhi, Springer Publishing. 328 págs.

2. Pruebas y protocolos de muestreo de semillas

- Agarwal, P.C., Mortensen, C.N. y Mathur, S.B.** 1989. *Seed-borne diseases and seed health testing of rice*. Copenhagen, Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries y Kew (Reino Unido), CAB International Mycological Institute.
- Albrechtsen, S.E.** 2006. *Testing methods for seed-transmitted viruses: Principles and protocols*. Wallingford (Reino Unido), CABI Publishing. 268 págs.
- Chahal, S.S., Thakur, R.P. y Mathur, S.B.** 1994. *Seed-borne diseases and seed health testing of pearl millet*. Copenhagen, Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries.
- EPPO** (Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas), sin fecha. *Diagnostic protocols for regulated pests*. París (Francia), EPPO. Disponible en <http://archives.eppo.int/EPPOStandards/diagnostics.htm> (consultado el 23 de noviembre de 2016).
- ISHI-Veg** (International Seed Health Initiative for Vegetable Crops), sin fecha. *The ISHI-Veg Manual*. Nyon (Suiza), Federación Internacional de Semillas (ISF). Disponible en http://www.worldseed.org/isf/ishi_vegetable.html (consultado el 23 de noviembre de 2016).
- ISTA** (Asociación Internacional de Análisis de Semillas). 2016. *International rules for seed testing: ISTA Rules 2016 Introduction and Chapters 1, 2 and 7, and information on how to access other chapters*. Bassersdorf (Suiza), ISTA. Disponible en <http://seedtest.org/en/ista-rules-for-2016-content---1--1449--956.html> (consultado el 23 de noviembre de 2016).
- ISTA** (Asociación Internacional de Análisis de Semillas). 2016. *International rules for seed testing 2016. Capítulo 7: Seed health testing*. Bassersdorf (Suiza), ISTA. Disponible en http://www.seedtest.org/upload/cms/user/ISTA_Rules_2016_07_seed_health.pdf (consultado el 23 de noviembre de 2016).
- Mathur, S.B. y Cunfer, B.M.**, eds. 1993. *Seed-borne diseases and seed health testing of wheat*. Copenhagen, Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries.

NSHS (National Seed Health System), sin fecha. Página web con enlaces a información sobre protocolos de diagnóstico para la inspección sanitaria de las semillas. Ames, IA, USDA-APHIS y Iowa State University Seed Science Center. Disponible en <http://www.seedhealth.org/methods-procedures> (consultado el 23 de noviembre de 2016).

Palacio-Bielsa, A., Cambra, M.A. y López, M.M. 2009. PCR detection and identification of plant-pathogenic bacteria: Updated review of protocols (1989–2007). *Journal of Plant Pathology*, 91(2): 249-297.

3. Semillas de árbol

Burgess, T. y Wingfield, M.J. 2002. Quarantine is important in restricting the spread of exotic seed-borne tree pathogens in the southern hemisphere. *International Forestry Review*, 4(1): 56-65.

Mittal, R.K., Anderson, R.L. y Mathur, S.B. 1990. *Microorganisms associated with tree seeds: World Checklist 1990*. Informe PI-X-96. Chalk River, Ontario, Petawawa National Forestry Institute, Forestry Canada. 70 págs. (en francés). Disponible en <http://cfs.nrcan.gc.ca/publications?id=10573> (consultado el 23 de noviembre de 2016).

Motta, E., Annesi, T. y Balmas, V. 1996. Seedborne fungi in Norway spruce: Testing methods and pathogen control by seed dressing. *European Journal of Forest Pathology*, 26(6): 307-314.

Jennings, P. 1977. *Seed pathology*, vol. I y vol. II. Londres, Macmillan. 1 187 págs.

Rees, A.A. y Phillips, D.H. 1986. *Detection, presence and control of seed-borne pests and diseases of trees with special reference to seeds of tropical and sub-tropical pines*. Technical Note No. 28. Humlebaek, Dinamarca, Danida Forest Seed Centre.

Richardson, M.J. 1990. *An annotated list of seed-borne diseases*, 4.^a ed. Bassersdorf (Suiza), Asociación Internacional de Análisis de Semillas.

Schmidt, L. 2000. *Guide to handling of tropical and subtropical forest seed*. Humlebaek, Dinamarca, Danida Forest Seed Centre.

Sutherland, J.R., Diekmann, M. y Berjak, P., eds. 2002. *Forest tree seed health for germplasm conservation*. Boletín técnico del IPGRI n.º 6. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma (Italia). 85 págs. Disponible en <http://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/detail/forest-tree-seed-health-for-germplasm-conservation/> (consultado el 18 de noviembre de 2016).

Willan, R.L. 1987. *A guide to forest seed handling*. Estudio FAO Montes n.º 20/2. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma (Italia).

4. Variedades vegetales resistentes

ISF (Federación Internacional de Semillas), sin fecha. *Diseases and resistance*. Nyon (Suiza), ISF. Disponible en <http://www.worldseed.org/our-work/plant-health/overview/> (consultado el 23 de noviembre de 2016).

5. Otros

NSHS (National Seed Health System), sin fecha. Página de inicio. Ames, IA, USDA-APHIS y Iowa State University Seed Science Center. Disponible en <https://www.seeds.iastate.edu/national-seed-health-system> (consultado el 23 de noviembre de 2016).

OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos). OECD seed schemes: rules and regulations. París (Francia), OCDE. Disponible en <http://www.oecd.org/tad/code/oecdseedsschemesrulesandregulations.htm> (consultado el 23 de noviembre de 2016).

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 39

NIMF 39

ESP

Movimiento internacional de madera

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NORMAS INTERNACIONALES PARA
MEDIDAS FITOSANITARIAS

NIMF 39
Movimiento internacional de madera

Producido por la Secretaría de la
Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Adoptado en 2017; publicado en 2017

© FAO 2017

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites. La mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la FAO los apruebe o recomiende de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan.

Las opiniones expresadas en este producto informativo son las de su(s) autor(es), y no reflejan necesariamente los puntos de vista o políticas de la FAO.

© FAO, 2017

La FAO fomenta el uso, la reproducción y la difusión del material contenido en este producto informativo. Salvo que se indique lo contrario, se podrá copiar, imprimir y descargar el material con fines de estudio privado, investigación y docencia, o para su uso en productos o servicios no comerciales, siempre que se reconozca de forma adecuada a la FAO como la fuente y titular de los derechos de autor y que ello no implique en modo alguno que la FAO aprueba los puntos de vista, productos o servicios de los usuarios.

Todas las solicitudes relativas a la traducción y los derechos de adaptación así como a la reventa y otros derechos de uso comercial deberán dirigirse a www.fao.org/contact-us/licence-request o a copyright@fao.org.

Los productos de información de la FAO están disponibles en el sitio web de la Organización (www.fao.org/publications) y pueden adquirirse mediante solicitud por correo electrónico a publications-sales@fao.org.

Cuando se reproduce esta NIMF, se debe mencionar que las versiones actuales de las NIMF adoptadas se encuentran disponibles para su descarga en: www.ipcc.int.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

- 2007-03: En la CMF-2 se añadió el tema *Movimiento internacional de madera* (2006-029) al programa de trabajo.
- 2007-11: El CN aprobó el proyecto de especificación para consulta a los miembros.
- 2007-12: El proyecto de especificación se presentó para consulta a los miembros.
- 2008-05: El CN aprobó la Especificación 46.
- 2008-12: El Grupo técnico sobre cuarentena forestal (GTCF) elaboró el proyecto de NIMF.
- 2009-07: El GTCF revisó el proyecto de NIMF.
- 2010-04: El CN revisó el proyecto de NIMF.
- 2010-09: El GTCF revisó el proyecto de NIMF.
- 2012-11: El CN examinó el proyecto de NIMF y solicitó observaciones de los miembros del CN, que se enviaron al administrador.
- 2013-05: El CN examinó y revisó el proyecto de NIMF y lo aprobó para consulta a los miembros.
- 2013-07: Consulta a los miembros.
- 2014-02: El administrador revisó el proyecto de NIMF.
- 2014-05: El CN-7 revisó el proyecto de NIMF y aprobó someterlo a un período para presentar cuestiones sustanciales.
- 2014-06: Período para presentar cuestiones sustanciales.
- 2014-10: El administrador revisó el proyecto de NIMF después del período para presentar cuestiones sustanciales.
- 2014-11: El CN revisó y aprobó el proyecto de NIMF para su aprobación por la CMF.
- 2015-02: Se recibieron objeciones formales 14 días antes de la CMF-10.
- 2015-05: El CN examinó las objeciones formales.
- 2015-10: El administrador revisó el proyecto de NIMF con el GTCF.
- 2015-11: El CN consideró las objeciones formales recibidas 14 días antes de la CMF-10.
- 2015-12: El administrador revisó el proyecto de NIMF después de recibir las observaciones del CN.
- 2016-02: El administrador revisó el proyecto de NIMF con el GTCF y revisó el Apéndice 1: Ilustraciones de corteza y madera.
- 2016-05: El CN aprobó el proyecto de NIMF para la tercera consulta.
- 2016-07: Tercera consulta.
- 2016-11: En su reunión de noviembre, el CN aprobó remitirlo a la CMF-12.
- 2017-04: La CMF-12 aprobó la norma.
- NIMF 39.** 2017. *Movimiento internacional de madera*. Roma, CIPF, FAO.
- Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
Ámbito de aplicación.....	5
Referencias	5
Definiciones	5
Perfil de los requisitos	5
ANTECEDENTES.....	6
EFFECTOS SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE.....	6
REQUISITOS.....	7
1. Riesgo de plagas relacionado con los productos de madera.....	7
1.1 Madera en rollo	8
1.2 Madera aserrada	9
1.3 Materiales derivados del procesamiento mecánico de la madera (excepto el aserrado)	10
1.3.1 Astillas de madera	10
1.3.2 Residuo de madera.....	10
1.3.3 Aserrín y lana de madera.....	12
2. Medidas fitosanitarias.....	12
2.1 Eliminación de la corteza	12
2.1.1 Madera libre de corteza	12
2.1.2 Madera descortezada.....	13
2.2 Tratamientos.....	13
2.3 Astillado	14
2.4 Inspección y pruebas	14
2.5 Áreas libres de plagas, lugares de producción libres de plagas y áreas de baja prevalencia de plagas.....	14
2.6 Enfoques de sistemas	15
3. Uso previsto.....	15
4. Incumplimiento.....	15
APÉNDICE 1: Ilustraciones de corteza y madera.....	16
APÉNDICE 2: Tratamientos que podrán emplearse para mitigar el riesgo de plagas de la madera.....	18
1. Fumigación	18
2. Pulverización o inmersión	18
3. Impregnación química a presión.....	18
4. Tratamiento con calor	19
5. Secado en estufa	19

6. Secado al aire.....	19
7. Irradiación.....	20
8. Tratamiento en atmósfera modificada	20
9. Referencias	20

Aprobación

La Comisión de Medidas Fitosanitarias aprobó esta norma en su duodécima reunión, celebrada en abril de 2017.

INTRODUCCIÓN

Ámbito de aplicación

La presente norma brinda orientación para la evaluación del riesgo de plagas de la madera y describe las medidas fitosanitarias que podrán utilizarse para disminuir el riesgo de introducción y dispersión de plagas cuarentenarias —en particular las que infestan los árboles— asociado con el movimiento internacional de madera.

Esta norma abarca únicamente los productos de madera en bruto y los materiales derivados del procesamiento mecánico de la madera, a saber: 1) la madera en rollo y la madera aserrada, con o sin corteza, y 2) los materiales derivados del procesamiento mecánico de la madera, como las astillas, el aserrín, la lana de madera y el residuo de madera (todos ellos con o sin corteza). La presente norma abarca la madera de las gimnospermas y las angiospermas (es decir, las dicotiledóneas y algunas monocotiledóneas, como las palmas), pero no el bambú ni el roten.

El embalaje de madera se incluye en el ámbito de la NIMF 15 (*Reglamentación del embalaje de madera utilizado en el comercio internacional*); por consiguiente, no lo abarca la presente norma.

Esta norma tampoco abarca los productos fabricados con madera (como muebles), ni el material de madera procesada (como madera tratada, encolada o calentada) ni las piezas de artesanía fabricadas con madera.

Aunque la madera también podrá transportar plagas contaminantes, estas no están comprendidas en la presente norma.

Referencias

En la presente norma se hace referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

FAO. 2009. *Global review of forest pests and diseases*. Estudio FAO: Montes 156. Roma, FAO. 222 págs.

FAO. 2011. *Guía para la aplicación de normas fitosanitarias en el sector forestal*. Estudio FAO: Montes 164. Roma, FAO. 101 págs.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios figuran en la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*).

Perfil de los requisitos

El riesgo de plagas varía entre los productos de madera como la madera en rollo, la madera aserrada y los materiales resultantes del procesamiento mecánico de madera, en función del nivel de procesamiento al que haya sido sometida la madera.

Las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) deberían utilizar el análisis de riesgo de plagas (ARP) para proporcionar la justificación técnica de los requisitos fitosanitarios de importación aplicables a las plagas cuarentenarias asociadas con el movimiento internacional de madera.

Deberían aplicarse medidas fitosanitarias para gestionar el riesgo de plagas relacionado con la madera, como la eliminación de la corteza, el tratamiento, el astillado y la inspección, en medida proporcional al riesgo de plagas determinado.

La ONPF del país importador podrá exigir como requisito fitosanitario de importación que se aplique una medida fitosanitaria o una combinación de medidas fitosanitarias con arreglo a un enfoque de sistemas.

ANTECEDENTES

La madera producida a partir de árboles o plantas leñosas infestados podrá contener plagas. Estas plagas podrán posteriormente infestar árboles en el área del ARP. Este es el principal riesgo de plagas que se aborda en la presente norma.

La madera también podrá resultar infestada por algunas plagas después de su extracción. El riesgo de tal infestación está estrechamente relacionado con la condición de la madera (el tamaño, la presencia o ausencia de corteza o el contenido de humedad) y la exposición a plagas después de la extracción.

Las plagas que históricamente se ha comprobado que se mueven asociadas con la madera en el comercio internacional y se establecen en nuevas áreas incluyen: insectos que ponen huevos en la corteza, como escarabajos de la corteza, avispas de la madera, insectos taladradores de la madera, nematodos que habitan en la madera y ciertos hongos que en sus estados de dispersión pueden ser transportados con la madera. Por lo tanto, la madera (con o sin corteza) que circula en el comercio internacional es una vía potencial de introducción y dispersión de plagas cuarentenarias.

La madera generalmente se mueve en forma de madera en rollo, madera aserrada y madera sometida a procesamiento mecánico. El riesgo de plagas que presenta un producto de madera depende de una amplia serie de características, como el tipo de producto, el nivel de procesamiento o la presencia o ausencia de corteza, y de factores tales como el origen de la madera, la edad, la especie y el uso previsto, así como cualquier tratamiento aplicado a la madera.

La madera que circula en el comercio internacional tiene habitualmente un destino y un uso previsto específicos. Dada la frecuencia con que grupos clave de plagas se asocian con productos clave de madera, es importante proporcionar orientación sobre medidas fitosanitarias. La presente norma brinda orientación para la evaluación eficaz del riesgo de plagas cuarentenarias y la armonización del uso de medidas fitosanitarias apropiadas.

La publicación de la FAO *Global review of forest pests and diseases* (Examen mundial de las plagas y enfermedades de los bosques), de 2009, proporciona información sobre algunas de las principales plagas forestales del mundo. La publicación de la FAO *Guía para la aplicación de normas fitosanitarias en el sector forestal*, de 2012, proporciona información sobre las mejores prácticas de gestión que reducen el riesgo de plagas durante el crecimiento, la extracción y el transporte de madera.

Para diferenciar los significados de los términos “madera” y “corteza”, según se utilizan en la presente norma, se presentan en el Apéndice 1 un dibujo y fotografías de una sección transversal de madera en rollo y de madera aserrada.

EFFECTOS SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE

Se considera que la aplicación de esta norma reducirá en medida apreciable la probabilidad de introducción y dispersión de plagas cuarentenarias y contribuirá, por consiguiente, a la salud de los árboles y la protección de la biodiversidad de los bosques. Ciertos tratamientos podrán ser perjudiciales para el medio ambiente; se exhorta a los países a promover el uso de medidas fitosanitarias cuyos efectos negativos en el medio ambiente sean mínimos.

REQUISITOS

1. Riesgo de plagas relacionado con los productos de madera

El riesgo de plagas de los productos que son objeto de la presente norma varía dependiendo del origen y la especie de la madera; características como el nivel de procesamiento o el tratamiento al que se haya sometido y la presencia o ausencia de corteza, y el uso previsto.

La presente norma describe el riesgo de plagas general relacionado con cada producto de madera indicando los principales grupos de plagas asociados con cada uno. Además de los factores de riesgo mencionados, el riesgo de plagas asociado con un producto de madera podrá depender también de factores como la edad, el tamaño, el contenido de humedad, la condición de una plaga en el origen y el destino, y la duración y el medio de transporte.

Las medidas fitosanitarias no deberían establecerse sin una justificación técnica adecuada basada en un ARP (según se describe en la NIMF 2 [*Marco para el análisis de riesgo de plagas*] y en la NIMF 11 [*Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias*]), teniendo en cuenta lo siguiente:

- la condición de la plaga en el área de origen de la madera;
- el grado de procesamiento de la madera antes de su exportación;
- la capacidad de la plaga de sobrevivir sobre la madera o dentro de ella;
- el uso previsto de la madera;
- la probabilidad de establecimiento de la plaga en el área de ARP, en particular la presencia de un vector en caso de que sea necesario para la dispersión de la plaga.

La madera podrá ser infestada por plagas presentes en el área de origen durante su crecimiento o en el momento de la extracción. Varios factores pueden influir en la capacidad de la plaga para infestar los árboles o la madera. Estos factores también pueden afectar a la supervivencia de la plaga sobre la madera extraída o dentro de ella, lo que a su vez repercutirá en el riesgo de que la plaga se asocie con la madera. Dichos factores son: los brotes de plagas en el área de origen; las prácticas de gestión forestal; las condiciones durante el transporte; el tiempo, el lugar y las condiciones de almacenamiento, y los tratamientos aplicados a la madera extraída. Estos factores deberían tenerse en cuenta a la hora de evaluar la probabilidad de introducción y dispersión de plagas cuarentenarias.

En general, cuanto mayor sea el nivel de procesamiento o de tratamiento de la madera después de la extracción, más se reducirá el riesgo de plagas. Sin embargo, debería tenerse en cuenta que el procesamiento podrá alterar la naturaleza del riesgo de plagas. Por ejemplo, la operación física del astillado de la madera es en sí misma letal para algunas plagas de insectos, sobre todo cuando se producen astillas de pequeño tamaño, pero el aumento de la superficie de la madera podrá facilitar su colonización por hongos. El tamaño de las astillas varía según las especificaciones de la industria y, por lo general, está relacionado con su uso previsto. El riesgo que comportan las plagas asociadas con tejidos específicos de la madera (por ejemplo, la corteza o la albura externa) es virtualmente nulo cuando los tejidos en los que viven se eliminan durante el procesamiento. Si el material eliminado va a circular en el comercio como un producto distinto (por ejemplo, corcho, biocombustible o mantillo de corteza), el riesgo de plagas asociado debería evaluarse por separado.

En el Cuadro 1 figuran los grupos de plagas que se sabe que circulan con productos de madera y han mostrado capacidad para establecerse en nuevas áreas.

Cuadro 1. Grupos de plagas que podrán estar asociados con el movimiento internacional de madera

Grupo de plagas	Ejemplos dentro del grupo de plagas
Áfidos y pulgones	Adelgidae, Aphididae
Escarabajos de la corteza	Molytinae, Scolytinae
Avispas y polillas no taladradoras de la madera	Diprionidae, Lasiocampidae, Lymantriinae, Saturniidae, Tenthredinidae
Cochinillas	Diaspididae
Termitas y hormigas carpinteras	Formicidae, Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Termitidae
Escarabajos taladradores de la madera	Anobiidae, Bostrichidae, Buprestidae, Cerambycidae, Curculionidae, Lyctidae, Oedemeridae, Platypodinae
Polillas taladradoras de la madera	Cossidae, Hepialidae, Sesiidae
Moscas de la madera	Pantophthalmidae
Avispas de la madera	Siricidae
Hongos del chancro	Cryphonectriaceae, Nectriaceae
Hongos xilófagos patógenos	<i>Heterobasidion</i> spp.
Hongos manchadores patógenos	Ophiostomataceae
Hongos de la roya	Cronartiaceae, Pucciniaceae
Hongos causantes del marchitamiento vascular	Ceratocystidaceae, Ophiostomataceae
Nematodos	<i>Bursaphelenchus cocophilus</i> , <i>B. xylophilus</i>

Hay algunos grupos de plagas entre los mohos acuáticos, las bacterias, los virus y los fitoplasmas que, si bien se sabe que están asociados con la madera, es poco probable que se establezcan en nuevas áreas por transferencia desde madera importada a huéspedes.

1.1 Madera en rollo

La mayoría de la madera en rollo, con o sin corteza, circula a escala internacional para su posterior procesamiento en el lugar de destino. La madera podrá ser serrada para su utilización como material de construcción (por ejemplo, en estructuras de madera) o para fabricar materiales de madera (por ejemplo, astillas de madera, lana de madera, astillas de corteza, pasta, leña, biocombustibles y productos de madera manufacturados).

La eliminación de la corteza de la madera en rollo reduce la probabilidad de introducción y dispersión de algunas plagas cuarentenarias. El nivel de reducción depende de la medida en que se hayan eliminado la corteza y la madera subyacente y del grupo de plagas de que se trate. Por ejemplo, la eliminación total de la corteza reducirá considerablemente el riesgo de infestación por la mayoría de los escarabajos de la corteza en la madera. Sin embargo, es poco probable que la eliminación de la corteza influya en la incidencia de insectos taladradores de zonas profundas de la madera, de algunas especies de hongos o de nematodos que habitan en la madera.

La cantidad total de corteza remanente en la madera descortezada —que a su vez depende en buena medida de la forma de la madera en rollo, la maquinaria empleada para eliminar la corteza y, en menor medida, la especie arbórea— influye considerablemente en el riesgo de plagas de la madera en rollo. En particular, las zonas más anchas de la base del árbol, especialmente cuando hay grandes raíces tabulares, y alrededor de los nudos de las ramas, son los lugares preferidos por los escarabajos para la infestación y la oviposición.

En el Cuadro 2 se enumeran los grupos de plagas que es probable que se asocien a la madera en rollo.

Cuadro 2. Probabilidad de que determinados grupos de plagas se asocien a la madera en rollo

Producto	Probable	Menos probable
Madera en rollo con corteza	Áfidos y pulgones, escarabajos de la corteza, polillas no xilófagas, cochinillas, termitas y hormigas carpinteras, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos, hongos manchadores patógenos, hongos de la roya, hongos causantes del marchitamiento vascular; nematodos	
Madera en rollo sin corteza	Termitas y hormigas carpinteras, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos, hongos manchadores patógenos, hongos causantes del marchitamiento vascular; nematodos	Áfidos y pulgones, escarabajos de la corteza [†] , polillas no xilófagas, cochinillas; hongos de la roya

[†] Algunos escarabajos de la corteza se encuentran, en ciertas fases de su ciclo de vida, en la madera situada bajo la superficie de la corteza y en el cámbium y, por tanto, podrán estar presentes tras el descortezado o la eliminación completa de la corteza.

1.2 Madera aserrada

La mayoría de la madera aserrada, con o sin corteza, circula a escala internacional para la construcción de edificios y la fabricación de muebles, así como para la producción de embalaje, listones, adhesivos y separadores de madera, traviesas de ferrocarril (durmientes) y otros productos de madera fabricados. La madera aserrada podrá comprender piezas de madera sin corteza perfectamente escuadradas o escuadradas parcialmente con una o más esquinas redondeadas, que podrán contener o no corteza. El grosor de la pieza de madera aserrada podrá influir en el riesgo de plagas.

La madera aserrada de la que se ha eliminado toda la corteza o parte de ella presenta un riesgo de plagas mucho menor que el de la madera aserrada con corteza. Reducir el tamaño de los trozos de corteza remanente sobre la madera reduce el riesgo de plagas.

El riesgo de plagas de organismos asociados con la corteza depende también del contenido de humedad de la madera. La madera extraída de árboles vivos recién talados tiene un contenido de humedad alto que disminuye con el tiempo hasta ajustarse a las condiciones de humedad ambientales, en las que es menos probable que puedan sobrevivir los organismos asociados con la corteza. En el Apéndice 2 se proporciona más información sobre la manera de hacer frente al riesgo de plagas mediante una combinación de tratamiento y reducción de la humedad.

En el Cuadro 3 se enumeran los grupos de plagas que es probable que se asocien a la madera aserrada.

Cuadro 3. Probabilidad de que determinados grupos de plagas se asocien a la madera aserrada

Producto	Probable	Menos probable
Madera aserrada con corteza	Escarabajos de la corteza, termitas y hormigas carpinteras, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos [†] , hongos manchadores patógenos, hongos de la roya, hongos causantes de marchitamiento vascular; nematodos	Áfidos y pulgones, polillas xilófagas, cochinillas [‡]
Madera aserrada sin corteza	Termitas y hormigas carpinteras, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos [†] , hongos manchadores patógenos, hongos causantes del marchitamiento vascular; nematodos	Áfidos y pulgones, escarabajos de la corteza, polillas no xilófagas, cochinillas [‡] ; hongos de la roya

[†] Aunque en la madera aserrada podrá haber hongos xilófagos patógenos, la mayoría suponen un riesgo de establecimiento bajo debido al uso previsto de la madera y al escaso potencial de los hongos para producir esporas en la madera.

[‡] Muchas especies de cochinilla son eliminadas durante el escuadrado de la madera, pero la corteza remanente podrá presentar una superficie suficiente para que algunas especies sobrevivan después del aserrado.

1.3 Materiales derivados del procesamiento mecánico de la madera (excepto el aserrado)

Los procesos mecánicos que reducen el tamaño de las piezas de madera reducen el riesgo de algunas plagas. No obstante, en relación con otras, es necesario adoptar medidas alternativas de manejo del riesgo de plagas.

1.3.1 Astillas de madera

Además de los factores de riesgo de plagas mencionados en la Sección 1 relativos a la madera en general, el riesgo de plagas de las astillas de madera varía en función del tamaño y la uniformidad de las mismas, así como de las condiciones de almacenamiento. El riesgo de plagas se reduce cuando se elimina la corteza y el tamaño de las astillas es menor de 3 cm en al menos dos dimensiones (tal y como se describe en el Cuadro 4 y la Sección 2.3). La operación física del astillado de la madera es, en sí misma, letal para algunas plagas de insectos, sobre todo cuando se producen astillas de pequeño tamaño. El tamaño de las astillas varía según las especificaciones de la industria y, por lo general, está relacionado con su uso previsto (por ejemplo, como biocombustible, para la producción de papel, para la horticultura o para confeccionar lechos de animales). En la producción de algunas astillas de madera se aplican estrictas normas de calidad para reducir al mínimo la corteza y los finos (partículas muy pequeñas).

En función del tamaño de las astillas, en las astillas de madera con corteza podrán estar presentes plagas de insectos que normalmente se encuentran bajo de la corteza. En las astillas de madera —con o sin corteza— también podrán estar presentes muchas especies de hongos xilófagos patógenos, hongos del chancro y nematodos. La dispersión de las esporas de los hongos de la roya que habitan en la madera sería muy improbable después de la producción de astillas.

1.3.2 Residuo de madera

Normalmente se considera que el residuo de madera presenta un riesgo de plagas alto, ya que su tamaño es muy variable y podrá incluir o no corteza. Por lo general, el residuo de madera es un subproducto del desecho de la madera sometida a procesamiento mecánico durante la producción de un artículo deseado; sin embargo, el residuo de madera podrá circular como producto.

En el Cuadro 4 se enumeran los grupos de plagas que es probable que se asocien a las astillas de madera y el residuo de madera.

Cuadro 4. Grupos de plagas que es probable que se asocien a las astillas de madera y el residuo de madera

Producto	Probable	Menos probable
Astillas de madera con corteza y mayores de 3 cm en al menos dos dimensiones	Escarabajos de la corteza, termitas y hormigas carpinteras, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos [†] , hongos manchadores patógenos, hongos de la roya [†] , hongos causantes de marchitamiento vascular; nematodos	Áfidos y pulgones, polillas no xilófagas, cochinillas
Astillas de madera sin corteza y mayores de 3 cm en al menos dos dimensiones	Termitas y hormigas carpinteras, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos [†] , hongos manchadores patógenos, hongos causantes del marchitamiento vascular; nematodos	Áfidos y pulgones, escarabajos de la corteza, polillas no xilófagas, cochinillas; hongos de la roya [†]
Astillas de madera con corteza y menores de 3 cm en al menos dos dimensiones	Escarabajos de la corteza, termitas y hormigas carpinteras; hongos de la roya, hongos xilófagos patógenos [†] , hongos manchadores patógenos, hongos de la roya [†] , hongos causantes del marchitamiento vascular; nematodos	Áfidos y pulgones, polillas no xilófagas, cochinillas, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera
Astillas de madera sin corteza y menores de 3 cm en al menos dos dimensiones	Termitas y hormigas carpinteras; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos [†] , hongos manchadores patógenos, hongos causantes del marchitamiento vascular; nematodos	Áfidos y pulgones, escarabajos de la corteza, polillas no xilófagas, cochinillas, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos de la roya [†]
Residuo de madera con o sin corteza	Áfidos y pulgones, escarabajos de la corteza, polillas no xilófagas, cochinillas, termitas y hormigas carpinteras, escarabajos taladradores de la madera, polillas xilófagas, moscas de la madera, avispas de la madera; hongos del chancro, hongos xilófagos patógenos [†] , hongos manchadores patógenos, hongos de la roya [†] , hongos causantes del marchitamiento vascular; nematodos	

[†] Aunque podrá haber presencia de hongos de la roya y hongos xilófagos patógenos en envíos de astillas de madera o residuo de madera, es improbable que dichos hongos se establezcan o se dispersen.

1.3.3 Aserrín y lana de madera

El aserrín y la lana de madera presentan un menor riesgo de plagas que los productos anteriores. En determinados casos, podrán asociarse con el aserrín hongos y nematodos. Se considera que la lana de madera presenta un riesgo de plagas similar al del aserrín.

2. Medidas fitosanitarias

Las medidas fitosanitarias descritas en la presente norma solo deberían requerirse si están técnicamente justificadas, sobre la base de un ARP. Un elemento específico que deberá considerarse mediante el ARP es la forma en que el uso previsto del producto podrá mitigar el riesgo de plagas. Ciertas medidas fitosanitarias podrán aplicarse para proteger la madera que se haya producido en áreas libres de plagas pero que pueda estar expuesta a riesgo de infestación (por ejemplo, durante el almacenamiento y el transporte). Deberían considerarse distintos métodos de protección frente a la infestación después de la aplicación de una medida fitosanitaria; por ejemplo, cubrir el producto de madera con una lona alquitranada para su almacenamiento o usar un medio de transporte cerrado.

La ONPF del país importador podrá establecer límites con respecto al período de importación. Asimismo, podrá gestionar el riesgo de plagas asociado con la madera que circula en el comercio estableciendo un período determinado durante el cual podrá realizarse la expedición o la importación de un envío (por ejemplo, durante un período en el que la plaga esté inactiva).

La ONPF del país importador podrá requerir la aplicación de métodos específicos de procesamiento, manejo y eliminación adecuada de los desechos después de la importación.

Si fuera necesario para cumplir con los requisitos fitosanitarios de importación, la ONPF del país exportador debería comprobar la aplicación y la eficacia de las medidas fitosanitarias antes de la exportación, de conformidad con la NIMF 23 (*Directrices para la inspección*) y la NIMF 31 (*Metodologías para muestreo de envíos*).

Muchas plagas asociadas con la madera son específicas de determinados géneros o especies de árboles y, por ende, los requisitos fitosanitarios de importación aplicables a la madera a menudo son específicos a cada género o especie. Por consiguiente, la ONPF del país exportador debería verificar que el género o la especie de la madera del envío cumpla con los requisitos fitosanitarios de importación, cuando existan requisitos aplicables al género o a la especie en cuestión.

En las siguientes secciones se describen las medidas fitosanitarias empleadas generalmente.

2.1 Eliminación de la corteza

Algunas plagas cuarentenarias habitualmente se encuentran en la corteza o inmediatamente debajo de esta. A fin de reducir el riesgo de plagas, la ONPF del país importador podrá exigir la eliminación de la corteza (para producir madera libre de corteza o madera descortezada) como requisito fitosanitario de importación y, en el caso de la madera descortezada, podrá establecer niveles de tolerancia respecto de la corteza remanente. Cuando la corteza permanezca en la madera, podrán utilizarse tratamientos para reducir el riesgo de plagas asociadas con la corteza.

2.1.1 Madera libre de corteza

La eliminación completa de la corteza de la madera en rollo y de otros productos de madera supone la eliminación física de una capa de material en que podrán desarrollarse numerosas plagas y elimina grandes áreas de superficie irregular que proporcionan escondites a otras plagas.

La eliminación de la corteza elimina las plagas presentes sobre todo en la superficie de la corteza, como los áfidos, los pulgones, las cochinillas y las polillas no xilófagas en algunas etapas de su desarrollo. También elimina la mayoría de los escarabajos de la corteza y, además, previene la infestación, después de la extracción de la madera, por otras plagas como las avispas de la madera y los grandes insectos taladradores de la madera (por ejemplo, *Monochamus* spp.).

Cuando la ONPF del país importador exija que la madera esté libre de corteza, el producto debería cumplir la definición de madera libre de corteza establecida en la NIMF 5 (véase una ilustración del entrecasco y las bolsas de corteza en el Apéndice 1). La corteza que está completamente rodeada de cámbium presenta un riesgo de plagas mucho menor que la corteza superficial. En muchos casos, la madera podrá presentar indicios del cámbium, por ejemplo, en forma de una mancha de tejido marrón en la superficie de la madera, pero esto no debería considerarse como presencia de corteza y no supone un riesgo de plagas asociadas con la corteza. La verificación de que la madera está libre de corteza simplemente debería confirmar que no hay restos de la capa de tejido situada encima del cámbium.

2.1.2 Madera descortezada

El proceso mecánico empleado en el descortezado comercial de la madera podrá no eliminar por completo toda la corteza y podrán quedar algunos trozos. El número y el tamaño de los trozos de corteza remanente determinan la medida en que se reduce el riesgo de plagas asociadas con la corteza (por ejemplo, escarabajos de la corteza, áfidos, pulgones, cochinillas).

Algunos países especifican en sus reglamentaciones los grados de tolerancia respecto de la corteza en madera importada. El descortezado hasta los grados de tolerancia indicados a continuación reduce el riesgo de que las plagas terminen su ciclo de vida en la madera sin tratar.

Cuando estén técnicamente justificados y la ONPF del país importador los haya prescrito como requisitos fitosanitarios de importación, la ONPF del país exportador debería cerciorarse de que se hayan cumplido los requisitos aplicables a la madera descortezada que se indican a continuación.

Por ejemplo, a efectos de mitigar el riesgo de presencia de escarabajos de la corteza, podrá quedar cualquier número de trozos pequeños de corteza visualmente separados y claramente distinguibles que midan:

- menos de 3 cm de ancho (independientemente de la longitud) o
- más de 3 cm de ancho, a condición de que la superficie total de cada trozo de corteza sea inferior a 50 cm².

2.2 Tratamientos

Los tratamientos aceptados internacionalmente, que figuran en los anexos de la NIMF 28 (*Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas*), podrán emplearse como requisitos fitosanitarios de importación para algunos productos de madera.

La eficacia de todos los tratamientos químicos depende de la profundidad de penetración, que varía en función del protocolo de tratamiento (por ejemplo, la dosificación o la temperatura), la especie de la que procede la madera y el grado de humedad de esta, así como la presencia de corteza. La eliminación de la corteza a menudo mejora la penetración del tratamiento químico y podrá reducir la incidencia de la infestación de la madera tratada.

Los tratamientos deberían aplicarse bajo la supervisión o con la autorización de la ONPF del país exportador para que cumplan con los requisitos fitosanitarios de importación. La ONPF del país exportador debería adoptar disposiciones para asegurarse de que los tratamientos se apliquen según lo prescrito y, cuando proceda, debería verificar que la madera esté libre de las plagas de que se trate realizando inspecciones o pruebas antes de emitir la certificación fitosanitaria. Para verificar la aplicación del tratamiento se podrán utilizar instrumentos específicos (como termómetros electrónicos, cromatógrafos de gases o humidímetros conectados a aparatos registradores).

La presencia de plagas cuarentenarias vivas debería considerarse un incumplimiento del envío, a excepción de la madera tratada con irradiación, como resultado de la cual podrán quedar plagas vivas, pero estériles. Asimismo, el hallazgo de organismos indicadores adecuados (o deyecciones frescas) pone de manifiesto la ineficacia del tratamiento o el incumplimiento, dependiendo del tipo de tratamiento.

Algunos tipos de tratamientos podrán no ser eficaces contra todas las plagas. En el Apéndice 2 se proporciona más orientación sobre los tratamientos que podrán utilizarse para reducir el riesgo de plagas de la madera.

2.3 Astillado

La acción mecánica de astillar o moler la madera puede destruir eficazmente la mayoría de las plagas que habitan en ella. La reducción del tamaño de las astillas hasta un máximo de 3 cm en al menos dos dimensiones podrá mitigar el riesgo de plagas planteado por la mayoría de insectos. Sin embargo, los hongos, nematodos y pequeños insectos como algunos escolítidos o pequeños anóbidos, bostríquidos o buprestidos podrán seguir planteando un riesgo de plagas.

2.4 Inspección y pruebas

La inspección o las pruebas se podrán utilizar para detectar plagas específicas asociadas con la madera. En función de cuál sea el producto de madera, la inspección podrá utilizarse para detectar signos o síntomas específicos de plagas. Por ejemplo, la inspección podrá utilizarse para detectar la presencia de escarabajos de la corteza, insectos taladradores de la madera y hongos xilófagos en la madera en rollo y la madera aserrada. Asimismo, podrá llevarse a cabo en varios puntos del proceso de producción, a fin de determinar si las medidas fitosanitarias aplicadas han resultado eficaces.

Cuando se apliquen, los métodos de inspección deberían permitir detectar signos o síntomas de plagas cuarentenarias. La detección de ciertos otros organismos podrá indicar la ineficacia del tratamiento. Los signos podrán incluir deyecciones frescas de insectos, galerías o túneles de insectos taladradores de la madera, manchas en la superficie de la madera causadas por hongos y huecos u otros signos de descomposición de la madera. Son signos de descomposición de la madera la presencia de chancros sangrantes; de largas rayas marrones discontinuas en la albura externa y alteraciones del color de la misma; de zonas blandas en la madera; de hinchazón sin causa explicable; de flujo de resina en los troncos, y de grietas, anelación y heridas en la madera aserrada. Cuando la corteza está presente, esta podrá desprenderse para buscar galerías y otros signos de la alimentación de los insectos, así como manchas o estrías en la madera subyacente; estos signos podrán indicar la presencia de plagas. También se podrán utilizar métodos acústicos, organolépticos y de otra índole para la detección. Debería realizarse un examen más detallado para verificar la presencia de plagas cuarentenarias u organismos indicadores vivos. En el examen deberían buscarse, por ejemplo, ejemplares de insectos en diversas etapas de su ciclo de vida, como posturas de huevos o pupas.

Podrán realizarse pruebas para verificar la aplicación de otras medidas fitosanitarias, como los tratamientos, o sus efectos. Las pruebas se limitarán, en general, a la detección de hongos y nematodos. Por ejemplo, la presencia de nematodos que son plagas cuarentenarias podrá determinarse mediante una combinación de técnicas de microscopía y moleculares en muestras de madera tomadas de los envíos.

En la NIMF 23 y la NIMF 31 se proporciona orientación sobre inspección y muestreo.

2.5 Áreas libres de plagas, lugares de producción libres de plagas y áreas de baja prevalencia de plagas

Se podrán establecer áreas libres de plagas, lugares de producción libres de plagas y áreas de baja prevalencia de plagas, siempre que sea viable, con objeto de gestionar el riesgo de plagas asociadas con la madera. La orientación pertinente se presenta en la NIMF 4 (*Requisitos para el establecimiento de áreas libres de plagas*), la NIMF 8 (*Determinación de la situación de una plaga en un área*), la NIMF 10 (*Requisitos para el establecimiento de lugares de producción libres de plagas y sitios de producción libres de plagas*), la NIMF 22 (*Requisitos para el establecimiento de áreas de baja prevalencia de plagas*) y la NIMF 29 (*Reconocimiento de áreas libres de plagas y de áreas de baja prevalencia de plagas*). No obstante, el uso de lugares de producción libres de plagas o sitios de producción libres de plagas podrá estar limitado a casos específicos, como las plantaciones forestales situadas dentro de áreas agrícolas o suburbanas. Podrá utilizarse el control biológico como opción para el cumplimiento de los requisitos de un área de baja prevalencia de plagas.

2.6 Enfoques de sistemas

El riesgo de plagas asociado al movimiento internacional de madera podrá gestionarse eficazmente por medio del desarrollo de enfoques de sistemas que integren las medidas para el manejo del riesgo de plagas (NIMF 14, *Aplicación de medidas integradas en un enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas*). Los sistemas de ordenación forestal existentes, tanto anteriores como posteriores a la extracción, que comprenden el procesamiento, almacenamiento y transporte, podrán incluir actividades como la selección de sitios en áreas libres de plagas, inspecciones para comprobar que la madera está libre de plagas, tratamientos, barreras físicas (como envolver la madera) y otras medidas que resulten eficaces en el manejo del riesgo de plagas si se integran en un enfoque de sistemas.

Una parte del riesgo de plagas asociado con la madera en rollo (en particular el de los insectos taladradores de zonas profundas de la madera y ciertos nematodos) es difícil de manejar aplicando una única medida fitosanitaria. En estas situaciones, podrá aplicarse una combinación de medidas fitosanitarias en un enfoque de sistemas.

De conformidad con la NIMF 14, la ONPF del país importador podrá aplicar medidas complementarias dentro de su territorio en relación con el transporte, el almacenamiento o el procesamiento de la madera después de su importación. Por ejemplo, la entrada al país importador de madera en rollo con corteza, en la que podrán alojarse escarabajos de la corteza que son plagas cuarentenarias, podrá permitirse únicamente durante un período en el que los escarabajos de la corteza no estén activos. En tal caso se podrá requerir, para eliminar el riesgo de plagas, que el procesamiento de la madera en el país importador tenga lugar antes de que los organismos se desarrollen y lleguen a la fase activa. Para prevenir en medida suficiente el riesgo de introducción y dispersión de escarabajos de la corteza que son plagas cuarentenarias podrá establecerse el requisito de descortezar la madera y utilizar la corteza o el residuo de madera como biocombustible, o destruirla de alguna otra forma, antes de que comience el período activo de los escarabajos.

El riesgo de plagas asociado con los hongos podrá gestionarse eficazmente mediante la selección de madera procedente de áreas libres de plagas o lugares de producción libres de plagas, la aplicación de medidas apropiadas en la extracción (por ejemplo, la selección visual de la madera que no presente signos de infestación) y el procesamiento y de tratamientos (por ejemplo, fungicidas superficiales).

3. Uso previsto

El uso previsto de la madera podrá influir en el riesgo de plagas que presenta, porque algunos usos previstos (por ejemplo, el uso de la madera en rollo como leña o de las astillas de madera como biocombustible o para la horticultura) podrán influir en la probabilidad de introducción y dispersión de plagas cuarentenarias (NIMF 32, *Categorización de productos según su riesgo de plagas*). Por consiguiente, en la evaluación o el manejo del riesgo de plagas asociado con el movimiento internacional de madera debería tenerse en cuenta el uso previsto.

4. Incumplimiento

En la NIMF 13 (*Directrices para la notificación del incumplimiento y acción de emergencia*) y la NIMF 20 (*Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones*) se proporciona información de interés sobre la notificación del incumplimiento y la acción de emergencia.

Este apéndice se presenta únicamente como referencia y no constituye una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 1: Ilustraciones de corteza y madera

A continuación, se proporcionan ilustraciones para ayudar a diferenciar mejor la madera y el cámbium de la corteza.

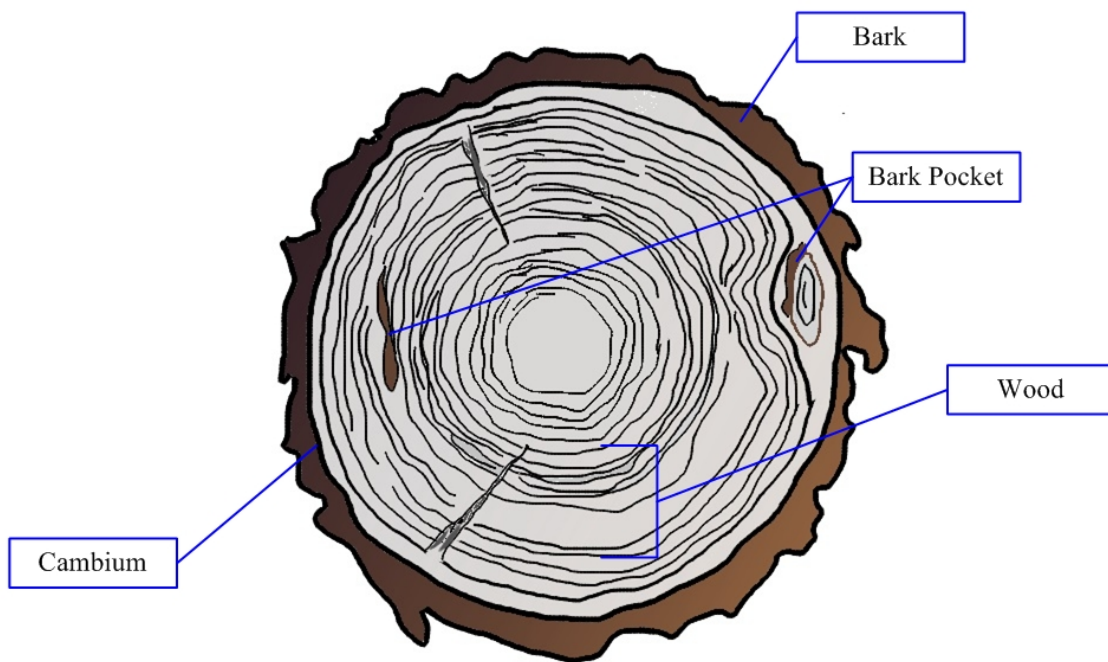


Figura 1. Sección transversal de madera en rollo.
Dibujo por gentileza de S. Sela, del Organismo Canadiense de Inspección de Alimentos.

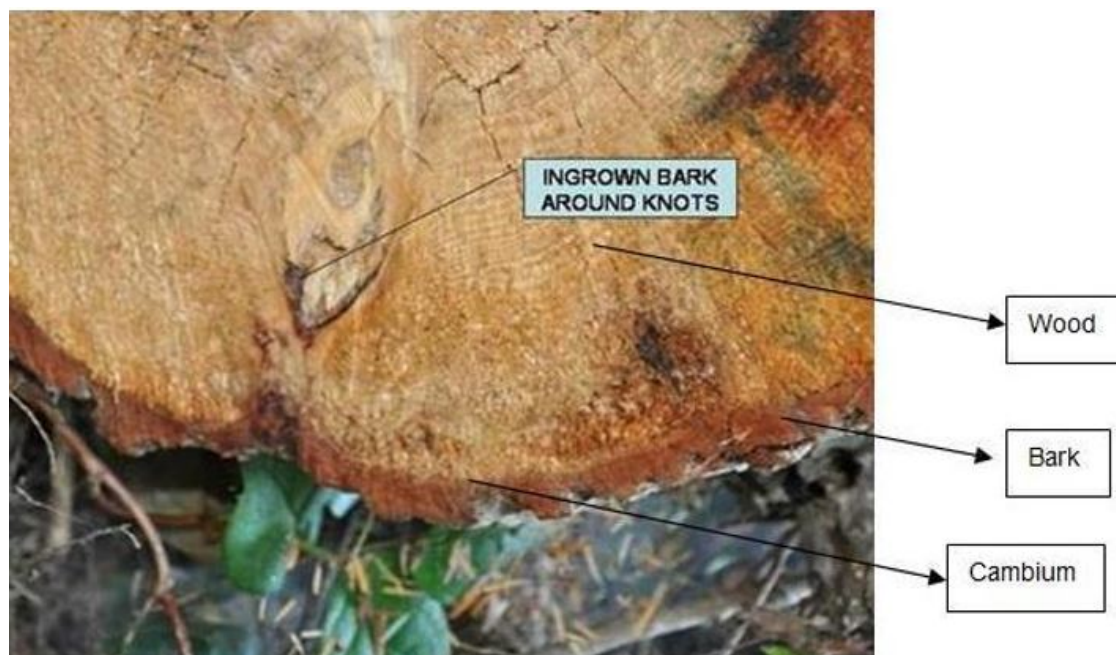


Figura 2. Sección transversal de madera en rollo.
Fotografía por gentileza de S. Sela, del Organismo Canadiense de Inspección de Alimentos.



Figura 3. Madera aserrada

Fotografía por gentileza de C. Dentelbeck, de la Canadian Lumber Standards Accreditation Board (Junta Canadiense de Acreditación de Normas para la Madera), Ottawa.

APÉNDICE 2: Tratamientos que podrán emplearse para mitigar el riesgo de plagas de la madera

1. Fumigación

Se podrá utilizar la fumigación para controlar las plagas asociadas con la madera.

A pesar de la eficacia comprobada de algunos fumigantes contra ciertas plagas, su uso para reducir el riesgo de plagas tiene limitaciones. Los diferentes fumigantes tienen distinta capacidad para penetrar en la madera y, por tanto, algunos solo son eficaces contra las plagas presentes en la superficie de la corteza o inmediatamente debajo de esta. La profundidad de penetración de algunos fumigantes podrá estar limitada a unos 10 cm de la superficie de la madera. La penetración es mayor en la madera seca que en la madera recién cortada.

En el caso de determinados fumigantes, la eliminación de la corteza antes de la fumigación podrá aumentar la eficacia del tratamiento.

Antes de elegir la fumigación como medida fitosanitaria, las ONPF deberían tener en cuenta la recomendación de la CMF titulada *Reemplazo o reducción del uso de bromuro de metilo como medida fitosanitaria* (CMF, 2008).

2. Pulverización o inmersión

La pulverización con sustancias químicas o la inmersión en estas se podrá utilizar para controlar las plagas asociadas con la madera, excepto en las astillas de madera, el aserrín, la lana de madera, la corteza y el residuo de madera.

En el proceso de pulverización o inmersión se aplican a la madera sustancias químicas —líquidas o disueltas— a presión ambiente. La capacidad de penetración en la albura de este tratamiento es escasa. La penetración depende de la especie de madera, del tipo de madera (albura o duramen) y de las propiedades del producto químico. Tanto la eliminación de la corteza como la aplicación de calor aumentan la profundidad de penetración en la albura. Cabe que el ingrediente activo del producto químico no impida la aparición de plagas que ya han infestado la madera. La protección de la madera tratada frente a la infestación posterior por plagas depende de la capa protectora de producto químico que permanezca intacta. Si la madera se sierra después del tratamiento y el producto químico no ha impregnado una parte de la sección transversal, podrá producirse una infestación por ciertas plagas (por ejemplo, insectos taladradores de la madera seca) posterior al tratamiento.

3. Impregnación química a presión

La impregnación química a presión se podrá utilizar para controlar las plagas asociadas con la madera, excepto en las astillas de madera, el aserrín, la lana de madera, la corteza y el residuo de madera.

La aplicación de un conservante por medio de vacío, presión o tratamientos térmicos permite que el producto químico aplicado en la superficie de la madera penetre a una gran profundidad.

La impregnación química a presión se utiliza habitualmente para proteger la madera de la infestación por plagas tras otros tratamientos. También podrá tener algún efecto para evitar la aparición en la superficie de la madera de plagas que hayan sobrevivido al tratamiento. La penetración del producto químico en la madera es mucho mayor que la que se logra mediante la pulverización o la inmersión, pero depende de la especie de madera y de las propiedades del producto químico. Por lo general, el producto químico penetra toda la albura, pero solo alcanza a una parte reducida del duramen. Se podrá aumentar la penetración del producto químico mediante el descortezado o la perforación mecánica de la madera. La penetración depende también del contenido de humedad de la madera y, por tanto, el secado de la madera antes de la impregnación química a presión también podrá aumentar la penetración. La impregnación química a presión es eficaz contra algunos insectos taladradores de la madera. En algunos procesos de impregnación, la sustancia química se aplica a una temperatura lo suficientemente alta como

para que sea equivalente a un tratamiento térmico. La protección de la madera tratada frente a la infestación posterior depende de la capa protectora del producto químico que permanezca intacta. Si la madera se sierra después del tratamiento y el producto químico no ha impregnado una parte de la sección transversal, podrá producirse una infestación por ciertas plagas (por ejemplo, insectos taladradores de la madera seca) posterior al tratamiento.

4. Tratamiento con calor

El tratamiento con calor se podrá utilizar para controlar plagas asociadas a todos los productos de madera. La presencia o ausencia de corteza no tiene ningún efecto sobre la eficacia del tratamiento con calor, pero debería tenerse en cuenta cuando en el protocolo de tratamiento térmico se especifiquen unas dimensiones máximas para la madera que se deba tratar.

El tratamiento con calor consiste en calentar la madera (con o sin control de la humedad) hasta una temperatura y durante un período específicos según la plaga objetivo. La duración mínima de tratamiento en la cámara de calor que se necesita para que todo el perfil de la madera alcance la temperatura requerida depende de las dimensiones de la madera, de la especie, de su densidad y del contenido de humedad, así como de la capacidad de la cámara y de otros factores. El calor podrá producirse en una cámara convencional de tratamiento con calor o mediante calentamiento dieléctrico, solar o por otros medios.

La temperatura necesaria para matar las plagas asociadas con la madera varía porque la tolerancia al calor difiere de una especie a otra. La madera tratada con calor podrá seguir siendo vulnerable a los mohos saprófitos, especialmente si el contenido de humedad sigue siendo alto; sin embargo, el moho no debería considerarse motivo de preocupación desde el punto de vista fitosanitario.

5. Secado en estufa

El secado en estufa se podrá aplicar a la madera aserrada y a muchos otros productos de madera.

El secado en estufa es un procedimiento industrial que consiste en reducir el contenido de humedad de la madera, mediante la aplicación de calor, hasta alcanzar el contenido de humedad prescrito para el uso previsto de la madera. Si la temperatura y duración del tratamiento son suficientes, podrá considerarse un tratamiento con calor. Si no se consiguen temperaturas letales en todas las capas de madera pertinentes, el secado en estufa por sí solo no debería considerarse un tratamiento fitosanitario.

Ciertas especies de los grupos de plagas asociados con los productos de madera son dependientes de la humedad y, por tanto, podrán inactivarse durante el secado en estufa. Este procedimiento también altera permanentemente la estructura física de la madera, lo cual evita la posterior reabsorción de una cantidad de humedad suficiente para sustentar a las plagas existentes y reduce la incidencia de la infestación después de la extracción. Sin embargo, algunos ejemplares de ciertas especies podrán ser capaces de terminar su ciclo vital en el nuevo ambiente con contenido de humedad reducido. Si se restablecen las condiciones de humedad favorables, muchos hongos y nematodos, así como algunas especies de insectos, podrán ser capaces de continuar su ciclo vital o de infestar la madera después del tratamiento.

6. Secado al aire

A diferencia del secado en estufa, el secado al aire reduce el contenido de humedad de la madera solamente hasta los niveles de humedad ambientales y es, por tanto, menos eficaz frente a una gran variedad de plagas. El riesgo de plagas remanente después del tratamiento depende de la duración del secado y el contenido de humedad y del uso previsto de la madera. La reducción del contenido de humedad únicamente mediante el secado al aire no debería considerarse una medida fitosanitaria.

Si bien la reducción del contenido de humedad mediante el secado al aire o el secado en estufa no podrán considerarse, por sí solos, medidas fitosanitarias, la madera secada hasta un contenido de humedad inferior al de saturación de las fibras podrá no ser susceptible de infestación por muchas plagas. Por consiguiente, la probabilidad de infestación de la madera seca es muy baja en relación con muchas plagas.

7. Irradiación

La exposición de la madera a radiación ionizante (por ejemplo, electrones acelerados, rayos X, rayos gamma) podrá ser suficiente para matar, esterilizar o inactivar plagas (NIMF 18, *Directrices para utilizar la irradiación como medida fitosanitaria*).

8. Tratamiento en atmósfera modificada

Los tratamientos en atmósfera modificada podrán aplicarse a la madera en rollo, la madera aserrada, las astillas de madera y la corteza.

En estos tratamientos, la madera se expone a atmósferas modificadas (por ejemplo, con una concentración de oxígeno baja y una concentración alta de dióxido de carbono) durante períodos largos para matar o inactivar las plagas. Las atmósferas modificadas podrán generarse artificialmente en cámaras de gases, o bien se puede dejar que se generen naturalmente, por ejemplo, durante el almacenamiento de la madera en agua o envolviéndola herméticamente en plástico.

9. Referencias

CMF. 2008. *Reemplazo o reducción del uso de bromuro de metilo como medida fitosanitaria*. Recomendación de la CIPF. En: *Informe de la tercera reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias*. Roma, 7-11 de abril de 2008, Apéndice 6. Roma, CIPF, FAO. Disponible en <https://www.ippc.int/publications/500/> (consultado el 21 de noviembre de 2016).

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 40

NIMF 40

ESP

Movimiento de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar que son objeto de comercio internacional

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NORMAS INTERNACIONALES PARA
MEDIDAS FITOSANITARIAS

NIMF 40

**Movimiento internacional de medios de
crecimiento en asociación con plantas para
plantar**

Documento elaborado por la Secretaría de la
Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Adoptado en 2017; publicado en 2017

© FAO 2017

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites. La mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la FAO los apruebe o recomiende de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan.

Las opiniones expresadas en este producto informativo son las de su(s) autor(es), y no reflejan necesariamente los puntos de vista o políticas de la FAO.

© FAO, 2017

La FAO fomenta el uso, la reproducción y la difusión del material contenido en este producto informativo. Salvo que se indique lo contrario, se podrá copiar, imprimir y descargar el material con fines de estudio privado, investigación y docencia, o para su uso en productos o servicios no comerciales, siempre que se reconozca de forma adecuada a la FAO como la fuente y titular de los derechos de autor y que ello no implique en modo alguno que la FAO aprueba los puntos de vista, productos o servicios de los usuarios.

Todas las solicitudes relativas a la traducción y los derechos de adaptación así como a la reventa y otros derechos de uso comercial deberán dirigirse a www.fao.org/contact-us/licence-request o a copyright@fao.org.

Los productos de información de la FAO están disponibles en el sitio web de la Organización (www.fao.org/publications) y pueden adquirirse mediante solicitud por correo electrónico a publications-sales@fao.org.

Cuando se reproduce esta NIMF, se debe mencionar que las versiones actuales de las NIMF adoptadas se encuentran disponibles para su descarga en: www.ippc.int.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2004-11: El CN recomendó añadir el tema *Tierra y medios de crecimiento (2005-004)* al programa de trabajo.

2005-04: En la CMF-7 se añadió el tema *Tierra y medios de crecimiento (2005-004)*.

2007-05: El CN aprobó la Especificación 43.

2010-06: El GTE redactó la NIMF.

2011-05: El CN devolvió el proyecto al administrador para su examen en consulta con un pequeño grupo de miembros del CN.

2011-11: El CN debatió el tema brevemente porque no se contaba con un proyecto revisado.

2013-01: El administrador revisó el proyecto en consulta con un pequeño grupo de miembros del CN.

2013-05: El CN revisó el proyecto y aprobó presentarlo para consulta a los miembros.

2013-07: Consulta a los miembros.

2014-05: El CN-7 revisó y aprobó el proyecto para el período para presentar cuestiones sustanciales.

2014-06: Período para presentar cuestiones sustanciales.

2014-10: El administrador revisó el proyecto después del período para presentar cuestiones sustanciales.

2014-11: El CN revisó y aprobó el proyecto para su aprobación por la CMF.

2015-03: Se recibieron objeciones formales 14 días antes de la CMF-10.

2015-05: El CN examinó la objeción formal (se formó un pequeño grupo de miembros del CN).

2015-11: El CN revisó el proyecto y lo aprobó para el período de 2016 para presentar cuestiones sustanciales (tercera consulta).

2016-07: Tercera consulta.

2016-11: El CN revisó el proyecto y recomendó su aprobación en la CMF-12 (2017).

2017-04: La CMF-12 aprobó la norma.

NIMF 40. 2017. *Movimiento internacional de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar* Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

ÍNDICE

Aprobación.....	4
INTRODUCCIÓN	4
Ámbito de aplicación	4
Referencias.....	4
Definiciones	4
Perfil de los requisitos.....	4
ANTECEDENTES	4
EFFECTOS SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE	5
REQUISITOS	5
1. Análisis de riesgo de plagas	5
2. Factores que influyen sobre el riesgo de plagas de los medios de crecimiento.....	5
3. Opciones de manejo del riesgo de plagas.....	6
3.1 Medios de crecimiento libres de plagas cuarentenarias.....	6
3.2 Tratamientos	7
3.3 Inspección, muestreo y pruebas	7
3.4 Cuarentena	8
3.5 Prohibición.....	8
ANEXO 1: Componentes comunes de los medios de crecimiento ordenados de menor a mayor riesgo de plagas relativo.....	9
ANEXO 2: Ejemplos de medios de crecimiento y las medidas con las que se podrá manejar eficazmente su riesgo de plagas cuando están asociados con plantas para plantar	11
APÉNDICE 1: Ejemplos de combinaciones comunes de plantas para plantar y medios de crecimiento que circulan a escala internacional.....	12

Aprobación

La Comisión de Medidas Fitosanitarias aprobó esta norma en su duodécima reunión, celebrada en abril de 2017.

INTRODUCCIÓN

Ámbito de aplicación

La presente norma brinda orientación para evaluar el riesgo de plagas derivado de los medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar y describe medidas fitosanitarias para manejar el riesgo de plagas de los medios de crecimiento asociados con las plantas para plantar en circulación internacional.

No se consideran en esta norma los medios de crecimiento que circulan en forma de producto independiente, que contaminan un producto o que se utilizan como material de embalaje.

Referencias

En la presente norma se hace referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios utilizados en la presente norma figuran en la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*).

Perfil de los requisitos

El análisis de riesgo de plagas (ARP) debería proporcionar la justificación técnica de los requisitos fitosanitarios de importación aplicables a los medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar.

El origen y el método de producción de los componentes de los medios de crecimiento pueden afectar al riesgo de plagas de los medios de crecimiento asociados con plantas para plantar. Los medios de crecimiento deberían producirse, almacenarse y conservarse en condiciones que prevengan su contaminación o infestación. Estas condiciones dependerán del tipo de medio de crecimiento usado. Podrá ser preciso tratar los medios de crecimiento adecuadamente antes de utilizarlos.

Los métodos de producción de las plantas para plantar podrán afectar al riesgo de plagas de los medios de crecimiento asociados con dichas plantas.

En la presente norma se describen diversas opciones de manejo del riesgo de plagas relacionado con los medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar, en particular medidas fitosanitarias como el tratamiento, la inspección, el muestreo, las pruebas, la cuarentena y la prohibición.

ANTECEDENTES

La tierra como medio de crecimiento se considera una vía de alto riesgo porque puede albergar numerosas plagas cuarentenarias; asimismo, se reconoce que otros medios de crecimiento son vías de introducción y dispersión de plagas cuarentenarias. El riesgo de plagas de los medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar depende de factores relacionados con la producción tanto de los medios de crecimiento como de las plantas, así como con la interacción entre ambos.

Muchos países cuentan con legislación que regula el movimiento de medios de crecimiento, en particular de la tierra o de la tierra como componente de medios de crecimiento, pero no necesariamente respecto de los medios de crecimiento asociados con plantas para plantar. Con frecuencia se prohíbe importar medios de crecimiento, en particular tierra. Aunque en algunas plantas para plantar es posible eliminar el

medio de crecimiento, podrá ser difícil evitar por completo el movimiento de medios de crecimiento en asociación con todas ellas. Algunas plantas solo pueden sobrevivir al transporte si este se realiza con el medio de crecimiento.

EFFECTOS SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE

Las plagas asociadas con el movimiento internacional de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar podrán producir efectos perjudiciales sobre la biodiversidad. La aplicación de la presente norma podría reducir significativamente la introducción y la dispersión de plagas cuarentenarias asociadas con los medios de crecimiento y, en consecuencia, reducir sus efectos negativos. Además, la aplicación de medidas fitosanitarias de conformidad con la presente norma también podría reducir la probabilidad de introducción y dispersión de otros organismos que podrán convertirse en especies exóticas invasoras en el país importador y, por tanto, afectar a la biodiversidad.

Ciertas medidas fitosanitarias (por ejemplo, algunos tratamientos con fumigantes) podrán tener un efecto negativo sobre el medio ambiente. Se alienta a los países a que promuevan la aplicación de medidas fitosanitarias con efectos negativos mínimos sobre el medio ambiente.

REQUISITOS

1. Análisis de riesgo de plagas

La presente norma se ocupa del riesgo de plagas cuarentenarias en los medios de crecimiento, y exclusivamente en los que están asociados con plantas para plantar. Sin embargo, en algunos casos podrá ser preciso considerar también en el ARP las plagas no cuarentenarias reglamentadas asociadas con estos medios de crecimiento.

Los requisitos fitosanitarios de importación aplicables a los medios de crecimiento deberían estar técnicamente justificados y basarse en un ARP de conformidad con la NIMF 2 (*Marco para el análisis de riesgo de plagas*), la NIMF 11 (*Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias*) y la NIMF 21 (*Análisis de riesgo de plagas para plagas no cuarentenarias reglamentadas*). En el ARP deberían considerarse también los factores que afectan al riesgo de plagas de los medios de crecimiento, descritos en esta norma, y los factores relacionados con la producción de plantas para plantar, descritos en el Anexo 1 de la NIMF 36 (*Medidas integradas para plantas para plantar*). Deberían evaluarse juntos el riesgo de plagas que plantean las plantas para plantar y el riesgo de plagas de los medios de crecimiento asociados en los que se cultivaron las plantas.

Debería señalarse que las plagas cuarentenarias transportadas con el medio de crecimiento en asociación con una planta podrán ser plagas de otras plantas, o podrán actuar como vectores de otras plagas.

2. Factores que influyen sobre el riesgo de plagas de los medios de crecimiento

Los métodos de producción de plantas para plantar podrán influir sobre el riesgo de plagas de los medios de crecimiento utilizados. Aunque el riesgo de plagas de algunos medios de crecimiento podrá ser bajo debido a la naturaleza de su producción, podrán contaminarse o infestarse, dependiendo del tipo y la composición del medio de crecimiento, durante el proceso de producción del producto (es decir, los medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar).

La organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) del país importador podrá tener en cuenta el riesgo de plagas de los medios de crecimiento (descrito en el Anexo 1, el Anexo 2 y el Apéndice 1) cuando realice un ARP para determinar qué medidas fitosanitarias son pertinentes. Sobre la base de las plagas reglamentadas por el país importador, en el ARP debería considerarse también la condición de las plagas en los países importador y exportador. Además, el riesgo de plagas podrá depender también de:

- si los medios de crecimiento son nuevos o reutilizados;
- el origen de los medios de crecimiento;
- los componentes de los medios de crecimiento;

- las medidas empleadas para la producción de los medios de crecimiento, y en particular el grado de procesamiento y los posibles tratamientos aplicados;
- las medidas destinadas a prevenir la contaminación o infestación de los medios de crecimiento antes de plantar, por ejemplo durante el transporte y almacenamiento, así como durante la propagación y producción de la planta (por ejemplo, usar cultivos iniciadores limpios, tratar el agua de riego y evitar la exposición a medios de crecimiento de alto riesgo);
- la duración del ciclo de producción de la planta;
- la cantidad de medio de crecimiento presente en asociación con todas las plantas para plantar de un envío.

En la evaluación del riesgo de plagas, podrá ser de utilidad la información sobre la importación actual o en el pasado de medios de crecimiento y su origen geográfico.

El origen y el método de producción de los componentes de los medios de crecimiento afectan al riesgo de plagas de los medios de crecimiento. En el Anexo 1 se enumeran los componentes comunes de los medios de crecimiento y se indica su riesgo de plagas relativo en el supuesto de que no se hayan utilizado previamente como medios de crecimiento y de que se hayan manejado y almacenado de forma tal que se prevenga su contaminación o recontaminación.

Los medios de crecimiento que contienen componentes orgánicos (como restos vegetales) podrán tener una probabilidad mayor de albergar plagas, por lo que generalmente presentan un riesgo de plagas mayor que los medios de crecimiento puramente minerales o sintéticos. Si el medio de crecimiento está formado por componentes orgánicos, podrá ser especialmente difícil evaluar plenamente el riesgo de plagas debido a la presencia probable de organismos desconocidos, por lo que debería procesarse de manera tal que se trate adecuadamente el riesgo de plagas.

3. Opciones de manejo del riesgo de plagas

Las medidas siguientes podrán usarse, de forma aislada o combinadas, para garantizar que el riesgo de plagas de los medios de crecimiento se maneja correctamente.

3.1 Medios de crecimiento libres de plagas cuarentenarias

Podrán lograrse medios de crecimiento libres de plagas cuarentenarias:

- usando medios de crecimiento producidos mediante un proceso que los mantiene libres de plagas;
- usando medios de crecimiento o componentes de estos medios obtenidos en un área libre de plagas o un sitio de producción libre de plagas;
- aplicando tratamientos adecuados, antes de su uso, a los medios de crecimiento que no estén libres de plagas.

Los medios de crecimiento deberían producirse siguiendo un sistema que permita el seguimiento adecuado hasta el origen y hasta el destino tanto de los medios como de sus componentes, en caso pertinente.

Los medios de crecimiento libres de plagas deberían almacenarse y conservarse en condiciones que los mantengan libres de plagas cuarentenarias. Los medios de crecimiento no deberían exponerse a plantas, plagas, tierra no tratada, otros medios de crecimiento no tratados o agua contaminada. Si lo anterior no se ha logrado, los medios de crecimiento deberían tratarse adecuadamente antes de su uso.

Las plantas que se prevea plantar en los medios de crecimiento libres de plagas deberían estar libres de las plagas cuarentenarias pertinentes.

Podrán aplicarse las medidas siguientes para prevenir la contaminación o infestación de los medios de crecimiento después de plantar las plantas:

- usar, entre otras cosas, herramientas limpias, equipo limpio y contenedores limpios;
- mantener los medios de crecimiento asociados con las plantas en un área libre de plagas o un lugar de producción libre de plagas;
- utilizar agua libre de plagas cuarentenarias;
- recurrir al aislamiento físico (por ejemplo, mantener en condiciones protegidas, prevenir la transmisión de plagas por el viento, cultivar en bancos sin contacto con el suelo).

En la NIMF 36 se recogen ejemplos de las medidas de lucha contra las plagas para reducir el riesgo de plagas que podrían ser adecuadas para los medios de crecimiento.

3.2 Tratamientos

Podrán aplicarse tratamientos en diversas etapas del ciclo de producción para mitigar el riesgo de plagas en los medios de crecimiento. Los tratamientos que podrán aplicarse, de forma aislada o en combinación, incluyen:

- el tratamiento de los medios de crecimiento antes o después de plantar (por ejemplo, tratamiento por vapor, tratamiento con calor, tratamiento químico o una combinación de tratamientos);
- el tratamiento de los campos o los semilleros destinados a la producción de plantas para plantar;
- el tratamiento (por ejemplo, la filtración o esterilización) del agua o de la solución acuosa de nutrientes utilizada para el riego o como medio de crecimiento;
- el tratamiento de las plantas o de las partes propagativas de las plantas (por ejemplo, semillas, bulbos o esquejes) antes de plantarlas;
- la eliminación de los medios de crecimiento¹ (por ejemplo, mediante el lavado de las raíces o sacudiendo las plantas).

Factores como la temperatura podrán afectar a los resultados de los tratamientos. Además, algunos plaguicidas podrán únicamente suprimir, en lugar de erradicar, las poblaciones de plagas. Podrá ser necesario verificar la eficacia de un tratamiento tras su aplicación.

Después del tratamiento deberían tomarse medidas adecuadas para evitar la recontaminación o reinfestación.

3.3 Inspección, muestreo y pruebas

Los lugares de producción de medios de crecimiento y su procesamiento o procedimientos de tratamiento podrán ser inspeccionados, monitoreados o aprobados por la ONPF del país exportador, que debería cerciorarse de que se cumplen los requisitos fitosanitarios de importación.

Podrá ser necesario inspeccionar las plantas para plantar y los medios de crecimiento asociados para determinar la presencia de plagas o el cumplimiento de los requisitos fitosanitarios de importación (NIMF 23, *Directrices para la inspección*). No obstante, la mayoría de las plagas en los medios de crecimiento no pueden detectarse mediante la inspección por sí sola y podrá ser preciso realizar pruebas.

¹ En algunos casos, tras la eliminación de los medios de crecimiento se podrá replantar, en medios de crecimiento no utilizados previamente y libres de plagas, poco antes de la exportación, si lo acepta la ONPF del país importador.

La ONPF del país importador podrá realizar o exigir la realización de un muestreo y pruebas de los medios de crecimiento asociados con plantas para plantar (NIMF 20, *Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones*; NIMF 31, *Metodologías para muestreo de envíos*). Sin embargo, el muestreo y las pruebas podrán no detectar algunos tipos de plagas, en particular cuando la contaminación o infestación de los medios de crecimiento sea baja. A fin de verificar que se han aplicado las medidas requeridas, entre las pruebas se podrá incluir la detección de organismos indicadores (organismos fácilmente detectables cuya presencia indica que las medidas requeridas no se aplicaron o no fueron eficaces).

3.4 Cuarentena

La ONPF de un país importador podrá exigir la cuarentena de los medios de crecimiento adheridos a las plantas para plantar a fin de reducir el riesgo de plagas. La cuarentena permite opciones como las pruebas, la observación para detectar signos o síntomas y el tratamiento de las plantas para plantar y los medios de crecimiento adheridos a las plantas durante el período de cuarentena.

También podrá usarse la cuarentena para el monitoreo cuando no se cuente con conocimientos completos sobre el riesgo de plagas o cuando haya algún indicio de que las medidas tomadas en el país exportador han fallado (por ejemplo, un número importante de intercepciones).

3.5 Prohibición

En casos en los que se estime que las medidas descritas en la presente norma no son aplicables, viables o suficientes para los medios de crecimiento en asociación con ciertas plantas para plantar, podrá prohibirse la entrada de medios de crecimiento en asociación con plantas para plantar.

Este anexo es una parte prescriptiva de la norma.

ANEXO 1: Componentes comunes de los medios de crecimiento ordenados de menor a mayor riesgo de plagas relativo

En el presente cuadro, el orden aproximado de los componentes corresponde a medios de crecimiento que no han sido utilizados anteriormente para plantar y que han sido manejados y almacenados de manera que se prevenga la contaminación o infestación (por ejemplo, libres de tierra).

En el cuadro se refleja el riesgo de plagas relativo que ocasionan diferentes componentes de los medios de crecimiento, pero no en asociación con plantas para plantar.

Componentes de medios de crecimiento	Facilita la supervivencia de plagas	Observaciones
Gránulos de arcilla cocidos	No	Material inerte
Medios sintéticos (por ejemplo, lana de vidrio, lana de roca, poliestireno, espuma floral, partículas de plástico, polietileno, polímero de almidón estabilizado, poliuretano, polímeros higroscópicos)	No	Material inerte
Vermiculita, perlita, piedra volcánica, zeolita, escoria	No	El tratamiento térmico aplicado en su producción hace que la vermiculita y la perlita sean prácticamente estériles.
Arcilla	No	
Grava o arena	No	
Papel, incluidos cartones ondulados	Sí	Nivel de procesamiento alto
Medio de cultivo tisular (de tipo agar)	Sí	En autoclave o esterilizado antes de su uso
Fibras de coco (fibra/turba de coco)	Sí	El riesgo de plagas depende del nivel de procesamiento
Aserrín, virutas de madera (excelsior)	Sí	El tamaño de las partículas y el tratamiento con calor podrán afectar a la probabilidad de supervivencia de las plagas
Agua	Sí	El riesgo de plagas depende de la fuente y el tratamiento
Astillas de madera	Sí	El tamaño de las partículas podrá afectar a la probabilidad de supervivencia de las plagas
Corcho	Sí	El riesgo de plagas depende del nivel de procesamiento
Turba (excluido el suelo turboso)	Sí	El riesgo de plagas es menor cuando la turba procede de lugares que no han estado

		expuestos a actividades agrícolas (por ejemplo, de ciénagas certificadas). La turba podrá contener semillas de plantas como plagas
Musgo no viable (esfagno)	Sí	El riesgo de plagas depende del nivel de procesamiento. El musgo vivo (esfagno) podrá contener semillas de plantas como plagas
Otras materias vegetales (por ejemplo, cáscara o paja de arroz, salvado de cereales, cáscaras de café, hojas caídas, desechos de caña de azúcar, orujo de uva, vainas de cacao, carbón vegetal de cáscara de palma de aceite)	Sí	El riesgo de plagas se reduce si se trata y es menor si procede de una fuente limpia y no infestada
Corteza de árbol	Sí	El riesgo de plagas depende de la fuente (puede albergar plagas forestales) y del grado de procesamiento o fermentación
Residuos biológicos	Sí	El riesgo de plagas depende de la fuente y del grado de procesamiento
Compost (por ejemplo, compost hecho con residuos municipales o agrícolas, humus o mantillo de hojas)	Sí	El riesgo de plagas depende de la fuente y del grado de procesamiento o fermentación. Es común la presencia de semillas de plantas como plagas.
Tierra	Sí	El riesgo de plagas se puede reducir si se trata
Losas de helechos arborescentes	Sí	El riesgo de plagas depende de la fuente y el tratamiento
Humus de lombriz	Sí	Podrá contener restos de materia orgánica no digerida. El humus de lombriz debería prepararse con anticipación según sea necesario y tratarse para eliminar todo organismo antes de utilizarlo como medio de crecimiento

Este anexo es una parte prescriptiva de la norma.

ANEXO 2: Ejemplos de medios de crecimiento y las medidas con las que se podrá manejar eficazmente su riesgo de plagas cuando están asociados con plantas para plantar

Medio de crecimiento	Agua y nutrientes	Medidas	Ejemplos
Medio de crecimiento que ha sido esterilizado (por ejemplo, mediante tratamiento con calor a una temperatura especificada durante un tiempo especificado)	Abastecimiento de agua esterilizada, tratada o filtrada (libre de plagas)	Conservación en condiciones que prevengan la infestación por plagas	Plantas cultivadas a partir de semillas en condiciones protegidas
Material inerte como la perlita o la vermiculita	Solución acuosa de nutrientes esterilizada	Conservación en condiciones que prevengan la infestación por plagas	Plantas para cultivo hidropónico, en el que se puede verificar la ausencia de plagas
Medio de cultivo tisular	Incorporado en medio estéril	Conservación en condiciones asépticas	Plantas cultivadas en medio de cultivo tisular transportadas en contenedores cerrados
Agua	Agua o solución acuosa de nutrientes	Podrá ser necesario utilizar agua esterilizada, tratada o filtrada	Plantas enraizadas en agua

El presente apéndice constituye únicamente una referencia y no una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 1: Ejemplos de combinaciones comunes de plantas para plantar y medios de crecimiento que circulan a escala internacional

Tipo de planta	Medio de crecimiento	Observaciones
Plantas de vivero con desarrollo frenado artificialmente	Tierra	Suele ser muy difícil lavar las raíces de estas plantas para eliminar la tierra adherida a las mismas. Las plantas se podrán trasplantar a medios de crecimiento libres de tierra y cultivarse en invernaderos utilizando medidas integradas de mitigación del riesgo con el fin de reducir al mínimo el riesgo de plagas asociado a las mismas
Plantas de vivero a raíz desnuda	Tierra o ninguno	La raíz desnuda es una técnica de arboricultura que consiste en extraer un árbol o arbusto cultivado en el campo para inducir un estado latente. La planta de vivero se podrá sacudir para eliminar parte de la tierra adherida, o se podrá lavar para liberarla de todo resto de tierra y medios de crecimiento. El tamaño de la planta y la estructura de su raíz, así como el tipo de suelo, influyen en gran medida en la posibilidad de eliminar la tierra adherida al sistema radicular
Bulbos y tubérculos, raíces tuberosas y raíces perennes herbáceas en estado latente	Tierra, turba o ninguno	Los bulbos, los tubérculos (incluidos los cormos y rizomas), las raíces tuberosas y las raíces perennes herbáceas generalmente se propagan y cultivan en campos de cultivo, pero se transportan en estado latente y sin medios de crecimiento. No obstante, los bulbos en estado latente se podrán embalar como "lotes de crecimiento", con medios de crecimiento. Estos medios de crecimiento podrán considerarse como un producto independiente (material de embalaje), siempre que las plantas no estén enraizadas en el medio
Plantas epífitas	Losas de helechos arborescentes, corteza, musgo no viable (esfagno), ceniza volcánica, roca	Las plantas epífitas, como las bromelias y las orquídeas, se transportan a menudo asociadas con losas de helechos arborescentes, corteza, madera, cáscara de coco, fibra de coco, musgo no viable (esfagno), ceniza volcánica, roca, etc. Estos materiales no son verdaderos medios de crecimiento, sino que se utilizan generalmente con fines de soporte y ornamentación
Plántulas, plantones	Diversos medios (en particular: turba, vermiculita, suelo como contaminante)	Estas plantas jóvenes generalmente están enraizadas en tierra o en un medio de crecimiento libre de tierra dispuesto en contenedores o bandejas
Plantas de interior ornamentales y floridas	Diversos medios (en particular: medios sintéticos, vermiculita, perlita, turba de coco)	Las plantas se podrán cultivar en el suelo (en el campo), en contenedores (en viveros) o en maceta (en invernaderos), en medios de crecimiento libres de tierra
Plantas cultivadas a partir de semillas	Diversos medios (en particular: turba, vermiculita, perlita)	Las plantas anuales y bienales se cultivan generalmente, a partir de semillas, en medios de crecimiento y se transportan enraizadas en los medios de crecimiento
Plantas enraizadas en agua o en una solución acuosa de nutrientes	Agua o solución acuosa de nutrientes	Algunas plantas podrán cultivarse, a partir de esquejes, en agua o en una solución acuosa de nutrientes, con o sin medios de crecimiento sintéticos

Tipo de planta	Medio de crecimiento	Observaciones
Esquejes herbáceos enraizados	Diversos medios (en particular: turba, turba de coco, medios sintéticos, musgo no viable [esfagno])	Los esquejes herbáceos enraizados generalmente se enraízan en medios de crecimiento libres de tierra; como recipiente podrán utilizarse macetas de turba o de coco. Las raíces son delicadas y los medios de crecimiento no pueden eliminarse sin dañar a las plantas
Plantas cultivadas en medio de cultivo tisular	Estéril, de tipo agar	La producción de plantas cultivadas en medio de cultivo tisular está asociada con medios de crecimiento estériles de tipo agar. Podrán transportarse en contenedores asépticos sellados o ex agar
Árboles y arbustos	Tierra	Los árboles y arbustos más viejos, en particular los árboles singulares, a menudo se trasladan en el sector de los viveros como árboles excavados o "en cepellón con arpillera"
Tepes de césped	Tierra	Los tepes de césped contienen una gran cantidad de tierra

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 41

NIMF 41

ESP

Movimiento internacional de vehículos, maquinaria y equipos usados

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NORMAS INTERNACIONALES PARA
MEDIDAS FITOSANITARIAS

NIMF 41

**Movimiento internacional de vehículos, maquinaria y
equipos usados**

Documento elaborado por la Secretaría de la
Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Adoptado en 2017; publicado en 2017

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites. La mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la FAO los apruebe o recomiende de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan.

Las opiniones expresadas en este producto informativo son las de su(s) autor(es), y no reflejan necesariamente los puntos de vista o políticas de la FAO.

© FAO, 2017

La FAO fomenta el uso, la reproducción y la difusión del material contenido en este producto informativo. Salvo que se indique lo contrario, se podrá copiar, imprimir y descargar el material con fines de estudio privado, investigación y docencia, o para su uso en productos o servicios no comerciales, siempre que se reconozca de forma adecuada a la FAO como la fuente y titular de los derechos de autor y que ello no implique en modo alguno que la FAO aprueba los puntos de vista, productos o servicios de los usuarios.

Todas las solicitudes relativas a la traducción y los derechos de adaptación así como a la reventa y otros derechos de uso comercial deberán dirigirse a www.fao.org/contact-us/licence-request o a copyright@fao.org.

Los productos de información de la FAO están disponibles en el sitio web de la Organización (www.fao.org/publications) y pueden adquirirse mediante solicitud por correo electrónico a publications-sales@fao.org.

Cuando se reproduzca la presente NIMF, debería mencionarse que las versiones actualmente aprobadas de las NIMF pueden obtenerse en: www.ippc.int.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2006-04: En la CMF-1 se añadió el tema *Directrices para el movimiento de maquinaria y equipos usados* (2006-004).

2007-11: El CN aprobó el proyecto de especificación para consulta a los miembros.

2007-12: El proyecto de especificación se presentó para consulta a los miembros.

2009-05: El CN aprobó la especificación 48.

2013-05: El GTE se reunió y redactó la NIMF.

2014-05: El CN aprobó el proyecto de NIMF para consulta.

2014-07: Primera consulta.

2016-01: El administrador examinó las observaciones y revisó el proyecto de NIMF.

2016-05: El CN7 examinó las observaciones de los miembros, revisó el proyecto de NIMF y lo aprobó para la segunda consulta.

2016-07: Segunda consulta.

2016-11: El CN revisó el proyecto y lo recomendó a la CMF-12 (2017) para su adopción.

2017-04: Objeción recibida.

2017-04: La CMF-12 retiró la objeción y aprobó la norma.

Última actualización de la historia de la publicación: 12/04/2017

ÍNDICE

Aprobación.....	4
INTRODUCCIÓN	4
Ámbito de aplicación.....	4
Referencias	4
Definiciones	4
Perfil de los requisitos	4
ANTECEDENTES.....	4
IMPACTO SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE	5
REQUISITOS.....	5
1. Riesgo de plagas	5
1.1 Elementos de la categorización del riesgo de plagas	5
2. Medidas fitosanitarias.....	6
2.1.1 Limpieza y tratamiento.....	6
2.2 Prevención de la contaminación.....	6
2.3 Requisitos para las instalaciones y la eliminación de residuos	7
3. Procedimientos de verificación.....	7
4. Incumplimiento y acciones fitosanitarias	7
ANEXO 1: Orientación sobre la circulación internacional de vehículos, maquinaria y equipos militares usados	8
1. Antecedentes.....	8
2. Objetivo	8
3. Orientación	8
APÉNDICE 1: Ejemplos de plagas que podrán contaminar vehículos, maquinaria y equipos usados.....	10
APÉNDICE 2: Ejemplos de vehículos, maquinaria y equipos usados, en orden decreciente de riesgo de plagas, junto con ejemplos de posibles medidas fitosanitarias y procedimientos de verificación	11

Aprobación

La Comisión de Medidas Fitosanitarias aprobó esta norma en su duodécima reunión, celebrada en abril de 2017.

INTRODUCCIÓN

Ámbito de aplicación

Esta norma identifica y divide en categorías el riesgo de plagas asociado con vehículos, maquinaria y equipos usados (VME) utilizados para fines agrícolas, forestales, hortícolas, de remoción de tierras, en la minería a cielo abierto y en la gestión de residuos, así como por las fuerzas armadas, que se mueven internacionalmente y señala las medidas fitosanitarias apropiadas para ello.

Esta norma no abarca los vehículos de pasajeros y transporte comercial que se desplazan por su propia fuerza motriz.

Referencias

En la presente norma se hace referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios utilizados en la presente norma figuran en la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*).

Perfil de los requisitos

La presente norma describe las medidas fitosanitarias que podrán aplicarse a los VME usados: limpieza y tratamiento, prevención de la contaminación, requisitos para las instalaciones y eliminación de residuos, y procedimientos de verificación.

La norma también proporciona orientación a las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) que trabajen con las fuerzas armadas en cuanto a las medidas fitosanitarias aplicables al despliegue internacional de VME militares usados.

ANTECEDENTES

Los VME usados son objeto frecuente de transacción o se desplazan por otros motivos entre países. Podrán haberse utilizado en la agricultura y la actividad forestal, así como para la construcción, fines industriales, la minería y la gestión de residuos. También puede tratarse de VME militares usados que hayan sido objeto de despliegue internacional. En función de su utilización, almacenamiento o transporte previos a la exportación, los VME usados podrán haberse contaminado con plagas cuarentenarias o artículos reglamentados. Cuando se mueven a escala internacional, ya sea como producto comercializado o debido a una reubicación operativa (por ejemplo, en el caso de las cosechadoras), los VME usados podrán portar tierra, plagas, restos vegetales o semillas y podrán, por lo tanto, entrañar un riesgo de plagas para el país de destino. Según el uso que se les haya dado en el país de destino, podrán introducir plagas cuarentenarias en zonas agrícolas, boscosas, silvestres o de otro tipo.

Los VME nuevos también podrán haberse contaminado por plagas pero no están regulados por esta norma. No obstante, esto no excluye la opción, si está técnicamente justificado, de que las ONPF de los países importadores podrán establecer, para evitar la contaminación, requisitos fitosanitarios de importación de vehículos nuevos similares a los indicados en la sección 2.2.

En el Apéndice 1 se proporcionan ejemplos de plagas susceptibles de contaminar los VME usados.

Es necesario proporcionar orientación específica para las ONPF acerca de los riesgos de plagas asociados al movimiento y almacenamiento de VME usados y las medidas fitosanitarias que podrán ser necesarias para facilitar su movimiento seguro. Las medidas fitosanitarias podrán aplicarse con el fin de reducir al mínimo su efecto negativo sobre el comercio.

IMPACTO SOBRE LA BIODIVERSIDAD Y EL MEDIO AMBIENTE

La descontaminación de VME usados podrá suponer un medio para prevenir la entrada a nuevas áreas de organismos que podrían tener importancia para la biodiversidad de tales áreas (especies exóticas invasoras).

REQUISITOS

1. Riesgo de plagas

El principal riesgo de plagas asociado a los VME usados es la contaminación con tierra, plagas, restos vegetales y semillas y otras partes de plantas con capacidad reproductiva. Las semillas y otras partes de plantas con capacidad reproductiva podrán constituir un riesgo porque la propia planta pueda ser una plaga o pueda alojar plagas. Son preocupantes en particular las plagas que tienen una fase vital resistente o latente que les permite sobrevivir al transporte a áreas en peligro.

El riesgo de plagas procedente de la contaminación de VME usados es difícil de evaluar. Por ende, podrá resultar imposible realizar el proceso normal del análisis de riesgo de plagas con el fin de determinar la necesidad de adoptar medidas fitosanitarias y la intensidad con que han de aplicarse. Por esta razón, a fin de reducir el riesgo de introducción y dispersión de plagas cuarentenarias, los VME usados que se desplacen a escala internacional deberían estar libres de contaminación de acuerdo con la presente norma.

1.1 Elementos de la categorización del riesgo de plagas

Los siguientes elementos de los VME usados podrán afectar al nivel de riesgo de plagas:

- distancia de movimiento: los VME usados que se desplacen por su propia fuerza motriz a lo largo de distancias cortas más allá de las fronteras para el uso inmediato podrán suponer un riesgo bajo de plagas
- tipo: los VME usados que tengan una estructura más compleja tienen más áreas que podrán contaminarse
- origen y uso previo: los VME usados en granjas, terrenos de cultivo, bosques, en estrecha proximidad de la vegetación o para el transporte de material orgánico tienen más posibilidades de estar contaminados
- almacenamiento: los VME usados que se hayan almacenado al aire libre y en estrecha proximidad de la vegetación o de luces que atraigan a los insectos tienen más posibilidades de estar contaminados
- ubicación o uso pretendidos: los VME usados que se emplearán en superficies agrícolas, en bosques o en estrecha proximidad de la vegetación tienen más posibilidades de proporcionar una vía para la introducción de plagas.

En el caso de VME militares usados, la exposición a fuerzas cinéticas y los rigores de las operaciones de combate podrán conllevar daños externos y la penetración interna de contaminación.

En el Apéndice 2 figuran ejemplos de VME usados, por orden decreciente de riesgo de plagas, junto con ejemplos de posibles medidas fitosanitarias y procedimientos de verificación.

2. Medidas fitosanitarias

Los VME usados que se mueven a escala internacional deberían estar libres de contaminación.

Los principales grupos de medidas fitosanitarias que podrán aplicarse a los VME usados se describen en las secciones siguientes.

Se alienta a las ONPF a colaborar con las autoridades militares en el desarrollo de procedimientos ajustados a la orientación sobre la circulación internacional de VME militares usados proporcionada en el Anexo 1.

2.1.1 Limpieza y tratamiento

Algunos de los métodos de limpieza son los siguientes:

- vaciado de depósitos de agua
- eliminación de residuos o filtros
- aplicación de abrasivo a presión
- lavado a presión
- limpieza con vapor
- barrido y aspiración
- limpieza con aire comprimido.

Los tratamientos que podrán utilizarse como complemento de la limpieza son los siguientes:

- tratamiento químico (por ejemplo, fumigación o desinfección)
- tratamiento térmico.

Para que la limpieza o el tratamiento resulten eficaces, podrá ser necesario desmontar en parte o por completo los VME usados. Podrá ser necesario limpiar o tratar los VME usados mientras funcionan para asegurar que sean accesibles todas sus partes móviles (por ejemplo, el equipo agrícola con partes móviles como transportadores o rodillos).

2.2 Prevención de la contaminación

En el caso de que los VME limpios usados se trasladen a una zona de almacenamiento o de embalaje o a un puerto de carga, o bien cuando transiten por otro país, podrán tomarse medidas fitosanitarias para prevenir la contaminación. Estas podrán incluir, según proceda, las siguientes:

- almacenamiento en áreas adecuadas con riesgo reducido de contaminación
- almacenamiento y manipulación en superficies que impidan el contacto con la tierra
- mantener corta la vegetación que rodee las áreas de almacenamiento o embalaje o los puertos de carga mediante la siega o eliminando las malas hierbas con el fin de reducir el riesgo de contaminación por semillas aéreas y otras plagas; podrá estudiarse la elevación de barreras para limitar el movimiento de semillas en torno a las áreas de almacenamiento y carga.

Durante los períodos de aparición de plagas estacionales o cuando se produzcan brotes de plagas ocasionales, se podrá considerar en particular la posibilidad de aplicar medidas fitosanitarias que eviten la atracción de las plagas hacia las áreas de almacenamiento y carga (por ejemplo, limitar el uso de luces artificiales durante las operaciones nocturnas).

2.3 Requisitos para las instalaciones y la eliminación de residuos

El tipo de equipo y la naturaleza de las instalaciones necesarias para la limpieza y el tratamiento de VME usados dependen del lugar en el que tengan lugar estos procedimientos. La inspección, limpieza y el tratamiento normalmente tendrán lugar en el país exportador con el fin de cumplir los requisitos fitosanitarios de importación del país de destino. En instalaciones situadas en el país exportador podrán no necesitarse sistemas complejos de gestión de residuos sólidos y aguas residuales, dado que la contaminación podrá ser de origen local.

Entre las instalaciones requeridas para la inspección, la limpieza y el tratamiento de los VME usados, podrán incluirse las siguientes:

- superficies que impidan el contacto con la suciedad como trampas de suciedad y sistemas de gestión de aguas residuales
- instalaciones de tratamiento térmico
- instalaciones de fumigación o tratamiento químico.

La suciedad y el agua de lavado contaminada deberían eliminarse de conformidad con la normativa nacional o local.

Los métodos de contención y eliminación deberían ser suficientes para evitar la propagación de plagas. Podrán utilizarse los siguientes: trampas de suciedad, ensacado, enterramiento profundo, incineración, fumigación, tratamiento químico, compostaje y sistemas de gestión de aguas residuales.

3. Procedimientos de verificación

La ONPF del país de destino debería determinar los requisitos de documentación para certificar que los envíos se han limpiado, tratado o inspeccionado (por ejemplo, una declaración de limpieza, certificado de tratamiento, declaración de inspección, certificado fitosanitario) y estos deberían guardar proporción con el riesgo identificado de plaga y ser apropiados para las medidas fitosanitarias requeridas.

La ONPF de un país de destino podrá realizar inspecciones de importación a fin de comprobar que los VME están limpios. Las inspecciones de importación podrán incluir el desmontaje parcial o completo de los VME usados y, en algunos casos, la recogida de especímenes para su identificación. La verificación de la limpieza podrá consistir en la revisión y el lavado de las zonas ocultas (por ejemplo, con agua a presión alta o aire comprimido).

La ONPF del país exportador podrá autorizar a entidades para el tratamiento de los VME usados. La limpieza de los VME usados podrá también ser realizada por entidades diferentes de las ONPF.

La limpieza de VME militares usados podrá ser realizada y verificada por personal militar cuando lo solicite la ONPF o de conformidad con un acuerdo entre la ONPF y las autoridades militares.

4. Incumplimiento y acciones fitosanitarias

En los casos en que se produzca un incumplimiento, la ONPF del país de destino podrá tomar una acción fitosanitaria según se expone en la NIMF 20 (*Directrices sobre un sistema fitosanitario de reglamentación de importaciones*) y debería notificarlo al país exportador (NIMF 13 *Directrices para la notificación del incumplimiento y acción de emergencia*).

Pueden citarse como ejemplos de las acciones fitosanitarias que podrán tomarse la detención, la limpieza, el tratamiento o el reenvío de los VME usados que se observe están contaminados. En los casos en que sea necesario transportar VME usados a otro lugar para la limpieza y el tratamiento, la ONPF debería asegurar el adecuado contenimiento de la contaminación (por ejemplo, mediante la contenedorización), con arreglo a la reglamentación nacional o local.

Este anexo es una parte prescriptiva de la norma.

ANEXO 1: Orientación sobre la circulación internacional de vehículos, maquinaria y equipos militares usados

1. Antecedentes

El movimiento internacional de VME militares usados podrá suponer un riesgo de introducción de plagas con tierra, plagas, restos vegetales y semillas tanto en los países de despliegue como en aquellos donde sean objeto de nuevo despliegue. En el Apéndice 1 de esta norma se proporcionan ejemplos de plagas susceptibles de contaminar los VME militares usados. El movimiento de VME militares usados es continuo en todo el mundo y comprende muchos tipos diferentes de transporte y de condiciones de almacenamiento de la carga.

El movimiento internacional de VME militares usados podrá suponer un problema práctico para las ONPF. En muchos países, el acceso de las ONPF al ámbito militar es limitado o nulo, por cuestiones de seguridad. Por esta razón, el enfoque adoptado para la gestión de los riesgos de plagas relacionados con el transporte comercial y privado de VME usados podrá no ser aplicable en el ámbito militar. En consecuencia, se alienta a las autoridades militares a comprometerse a emplear la presente orientación.

2. Objetivo

El objetivo de esta orientación consiste en que los VME militares usados estén limpios de tierra, plagas, restos vegetales y semillas antes de su desplazamiento internacional (por ejemplo, para entrenamiento, misiones y despliegue).

3. Orientación

Las autoridades militares deberían asegurar que los VME usados se limpien de acuerdo con los requisitos fitosanitarios de importación elaborados por la ONPF del país de destino. Podrán aplicarse, por ejemplo, los siguientes métodos de limpieza:

- vaciado de depósitos de agua
- eliminación de residuos o filtros
- aplicación de abrasivo a presión
- lavado a presión
- limpieza con vapor
- barrido y aspiración
- limpieza con aire comprimido.

Podrá ser necesario que estos métodos de limpieza se combinen con el desmontaje parcial o total de los VME usados para asegurarse de que su limpieza es óptima. Se alienta a las autoridades militares a elaborar procedimientos y manuales específicos para los VME militares especializados.

Podrán necesitarse tratamientos adicionales como los siguientes:

- tratamiento químico (por ejemplo, fumigación o desinfección)
- tratamiento térmico.

El embalaje de madera asociado con VME militares usados debería ajustarse a la NIMF 15 (*Reglamentación del embalaje de madera utilizado en el comercio internacional*).

Se alienta a las autoridades militares a que se coordinen con las ONPF en sus respectivos países. También se alienta a las autoridades militares a que se coordinen con la ONPF del país de despliegue, cuando sea posible. La información de contacto de las ONPF está disponible en el PFI (<https://www.ippc.int>).

Se alienta a las autoridades militares a aplicar procedimientos de verificación con el fin de asegurar que se han llevado a cabo con anterioridad al despliegue la limpieza y el tratamiento adecuados para los VME militares usados.

Este apéndice se presenta únicamente como referencia y no constituye una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 1: Ejemplos de plagas que podrán contaminar vehículos, maquinaria y equipos usados

- *Achatina fulica*, en forma adulta en letargo estival
- *Virus de la vena amarilla necrótica de la remolacha*, que se transmite por vía edáfica a través de las esporas de su vector, *Polymyxa betae*
- *Chromolaena odorata*, en forma de semillas o en la tierra
- *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, en residuos vegetales
- *Coptotermes formosanus*, en madera y tierra
- *Fusarium guttiforme*, en tierra y residuos de plantas huéspedes
- *Fusarium oxysporum*, en tierra y residuos de plantas huéspedes
- *Globodera* spp., en suelo y residuos de plantas huéspedes
- *Halyomorpha halys*, en forma adulta hibernante
- *Lymantria dispar*, en forma de puestas de huevos en diapausa
- *Miconia calvescens*, en forma de semillas en la tierra
- *Orgyia thyellina*, en forma de pupas en diapausa
- *Phytophthora ramorum*, en tierra
- *Solenopsis invicta*, en forma de huevos, larvas y adultos, y nidos
- *Sorghum halepense*, en forma de rizomas y semillas
- *Tilletia indica*, en forma de esporas en la tierra y en residuos de semillas de trigo

Este apéndice se presenta únicamente como referencia y no constituye una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 2: Ejemplos de vehículos, maquinaria y equipos usados, en orden decreciente de riesgo de plagas, junto con ejemplos de posibles medidas fitosanitarias y procedimientos de verificación

Categoría	Notas de contaminación	Medidas fitosanitarias	Procedimientos de verificación
<p>VME usados con fines agrícolas, forestales y hortícolas, tales como:</p> <ul style="list-style-type: none"> - cosechadoras - maquinaria de aserradero - camiones madereros - vehículos de transporte de animales - remolques para compost y estiércol - tractores - herramientas. <p>Se incluyen los VME usados reacondicionados o probados sobre el terreno.</p> <p>Esta categoría suele considerarse de alto riesgo de plagas.</p>	<p>Contaminantes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - tierra - plagas - restos vegetales - semillas 	<p>Aplicación de abrasivo a presión</p> <p>Vaciamiento de los depósitos abiertos de agua y eliminación de los residuos</p> <p>Lavado a presión</p> <p>Limpieza con vapor</p> <p>Barrido y aspirado</p> <p>Limpieza con aire comprimido.</p> <p>Tratamiento químico (por ejemplo, fumigación o desinfección)</p> <p>Tratamiento térmico</p>	<p>Declaración de limpieza</p> <p>Certificado de tratamiento</p> <p>Inspección (puede incluir el desmontaje y análisis)</p> <p>Certificado fitosanitario</p> <p>Autorización y auditoría</p>
<p>VME usados de remoción de tierras como los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - excavadoras - niveladoras - equipos para minería a cielo abierto. <p>Se incluyen los VME usados reacondicionados o probados sobre el terreno.</p> <p>El riesgo de plagas es variable, pero pueden darse niveles altos de contaminación en esta categoría.</p>	<p>La tierra es el principal contaminante; también puede haber presencia de plagas, restos vegetales y semillas.</p>	<p>Aplicación de abrasivo a presión</p> <p>Vaciamiento de los depósitos abiertos de agua y eliminación de los residuos</p> <p>Lavado a presión</p> <p>Limpieza con vapor</p> <p>Barrido y aspirado</p> <p>Limpieza con aire comprimido.</p> <p>Tratamiento químico (por ejemplo, fumigación o desinfección)</p>	<p>Declaración de limpieza</p> <p>Certificado de tratamiento</p> <p>Inspección (puede incluir el desmontaje y análisis)</p> <p>Certificado fitosanitario</p> <p>Autorización y auditoría</p>
<p>VME militares usados, como los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - camiones - carros de combate - vehículos de transporte de tropas - material rodante. <p>El riesgo es variable, pero los VME militares usados se utilizan a menudo a campo traviesa y se estacionan al aire libre, lo que conduce a un mayor riesgo.</p>	<p>Contaminantes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - tierra - plagas - restos vegetales - semillas 	<p>Vaciamiento de los depósitos abiertos de agua y eliminación de los residuos</p> <p>Lavado a presión</p> <p>Limpieza con vapor</p> <p>Limpieza con aire comprimido</p> <p>Tratamiento químico (por ejemplo, fumigación o desinfección)</p>	<p>(Véase el Anexo 1 de esta norma)</p>
<p>VME usados para la gestión de residuos como los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - camiones de basura 	<p>El principal contaminante son los residuos orgánicos, entre</p>	<p>Aplicación de abrasivo a presión</p> <p>Vaciamiento de los depósitos abiertos de agua</p>	<p>Declaración de limpieza</p> <p>Certificado de</p>

Categoría	Notas de contaminación	Medidas fitosanitarias	Procedimientos de verificación
<p>- equipo de clasificación de residuos. Se incluyen los VME usados reacondicionados. Las excavadoras usadas en los vertederos se consideran pertenecientes a la categoría de VME de remoción de tierras</p>	<p>los que pueden citarse los siguientes: - tierra - plagas - restos vegetales</p>	<p>y eliminación de los residuos Lavado a presión Limpieza con vapor Barrido y aspirado Tratamiento químico (por ejemplo, fumigación o desinfección)</p>	<p>tratamiento Inspección (puede incluir el desmontaje y análisis) Certificado fitosanitario Autorización y auditoría</p>
<p>VME usados para minería profunda</p> <p>Los contaminantes más probables son la tierra y, en menor medida, las plagas. El riesgo de plagas es generalmente bajo salvo que los VME usados estén contaminados con tierra de superficie. Puede ser difícil determinar el uso anterior y establecer si los VME usados se han utilizado en la minería a cielo abierto.</p>		<p>Aplicación de abrasivo a presión Vaciamiento de los depósitos abiertos de agua y eliminación de los residuos Lavado a presión Limpieza con vapor</p>	<p>Declaración de limpieza Inspección (puede incluir el desmontaje y análisis)</p>
<p>VME industriales usados al aire libre, como los siguientes: - grúas - carretillas elevadoras.</p> <p>El riesgo de plagas es variable, pero en general bajo, a no ser que los VME usados se utilicen en estrecha proximidad de la vegetación o estén contaminados con tierra.</p>		<p>Aplicación de abrasivo a presión Vaciamiento de los depósitos abiertos de agua y eliminación de los residuos Lavado a presión Limpieza con vapor</p>	<p>Declaración de limpieza Inspección</p>
<p>Vehículos usados, como los siguientes: - automóviles, furgonetas, camiones, autobuses - vehículos todo terreno (por ejemplo, motocicletas, <i>quads</i>, vehículos de tracción a cuatro ruedas). - locomotoras y motores - piezas usadas - remolques - neumáticos adosados.</p> <p>Riesgo muy variable de plagas; algunos vehículos usados comportan un riesgo más alto, pero muchos tienen un riesgo bajo. En esta categoría existe un gran volumen de vehículos usados que son objeto de transacción.</p>	<p>Contaminantes: - tierra - plagas - restos vegetales - semillas</p>	<p>Aplicación de abrasivo a presión Vaciamiento de los depósitos abiertos de agua y eliminación de los residuos Lavado a presión Limpieza con vapor Barrido y aspirado</p> <p>Tratamiento químico (por ejemplo, fumigación o desinfección)</p> <p>Tratamiento térmico</p>	<p>Declaración de limpieza Certificado de tratamiento Inspección (puede incluir el desmontaje y análisis)</p>

VME, vehículos, maquinaria y equipo.

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NIMF 28
ANEXO 22

ESP

TF 22: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra insectos en madera descortezada

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 22: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra insectos en madera descortezada

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

El presente tratamiento describe la fumigación de madera descortezada con fluoruro de sulfurilo para reducir el riesgo de introducción y dispersión de plagas de insectos¹.

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento de fumigación para insectos con fluoruro de sulfurilo en madera descortezada
Ingrediente activo	Fluoruro de sulfurilo (también denominado oxifluoruro de sulfúrico, difluoruro de sulfurilo)
Tipo de tratamiento	Fumigación
Plagas objetivo	Etapas de desarrollo en la madera de los siguientes insectos: <i>Anoplophora glabripennis</i> (Motschulsky, 1853) (Coleoptera: Cerambycidae), <i>Anobium punctatum</i> (De Geer, 1774) (Coleoptera: Anobiidae) y <i>Arhopalus tristis</i> (Fabricius, 1787) (Coleoptera: Cerambycidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Madera descortezada con sección transversal de no más de 20 cm en su dimensión más pequeña y contenido de humedad no superior al 75 % (base seca).

Protocolo de tratamiento

Fumigación de madera descortezada con sección transversal de no más de 20 cm en su dimensión más pequeña y contenido de humedad no superior al 75 % (base seca), aplicando un protocolo con el que se alcance el mínimo producto de concentración x tiempo (CT) en un solo período de 24 horas a la temperatura y la concentración residual final especificadas en el Cuadro 1.

¹ El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en su territorio.

Cuadro 1. Producto de concentración x tiempo (CT) mínimo en un solo período de 24 horas para la madera descortezada fumigada con fluoruro de sulfuro

Temperatura	CT mínimo exigido (g·h/m ³)	Concentración mínima (g/m ³)
15 °C o mayor	3 200	93
20 °C o mayor	2 300	67
25 °C o mayor	1 500	44
30 °C o mayor	1 400	41

El presente protocolo de tratamiento es eficaz contra todas las etapas de desarrollo de las plagas de insectos. Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento realizado conforme a este protocolo alcance las tasas de mortalidad que se detallan a continuación para las etapas de desarrollo en la madera de las siguientes plagas de insectos:

- *Anoplophora glabripennis* (larvas y pupas): 99,99683 %, como mínimo²
- *Anobium punctatum* (todas las etapas de desarrollo): 99,7462 %, como mínimo
- *Arhopalus tristis* (todas las etapas de desarrollo): 99 %, como mínimo.

La temperatura medida en el producto (incluso en el centro de la madera) o en el aire ambiental (el más bajo entre ambos valores) se utilizará para calcular la dosis del fluoruro de sulfuro y debe ser por lo menos de 15 °C por toda la duración del tratamiento.

Otra información pertinente

En el Cuadro 2 figura un ejemplo de un protocolo de tratamiento que alcanza el CT mínimo exigido para la madera descortezada tratada con fluoruro de sulfuro.

Cuadro 2. Ejemplo de un protocolo de tratamiento que alcanza el producto de concentración x tiempo (CT) mínimo exigido para la madera descortezada tratada con fluoruro de sulfuro.

Temperatura mínima durante el tratamiento	CT mínimo exigido (g·h/m ³)	Dosis de fluoruro de sulfuro [†] (g/m ³)	Concentración mínima (g/m ³) al cabo de (horas)				
			0,5	2	4	12	24
15 °C o mayor	3 200	183	188	176	163	131	93
20 °C o mayor	2 300	131	136	128	118	95	67
25 °C o mayor	1 500	88	94	83	78	62	44
30 °C o mayor	1 400	82	87	78	73	58	41

[†] En condiciones de sorción o drenaje elevados podrán necesitarse dosis iniciales superiores.

² La tasa de mortalidad mínima conseguida mediante el tratamiento en esta especie se ha estimado por extrapolación a partir de un modelo ajustado a los datos experimentales.

El Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios basó la evaluación de este tratamiento para *A. glabripennis* en la investigación publicada por Barak *et al.* (2006).

La eficacia general de este tratamiento contra otras plagas ha sido respaldada por Barak *et al.* (2010), Binker *et al.* (1999), Ducom *et al.* (2003), La Fage *et al.* (1982), Mizobuchi *et al.* (1996), Osbrink *et al.* (1987), Soma *et al.* (1996, 1997), Williams y Sprenkel (1990) y Zhang (2006).

Si no se alcanza el CT en un solo período de 24 horas (aunque se consiga la concentración mínima), será necesario tomar medidas correctivas. El tratamiento puede prolongarse un máximo de dos horas sin añadir más fluoruro de sulfuro o puede iniciarse de nuevo.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

- Barak, A., Messenger, M., Neese, P., Thoms, E. y Fraser, I.** 2010. Sulfuryl fluoride treatment as a quarantine treatment for emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae) in ash logs. *Journal of Economic Entomology*, 103(3): 603-611.
- Barak, A., Wang, Y., Zhan, G., Wu, Y., Xu, L. y Huang, Q.** 2006. Sulfuryl fluoride as a quarantine treatment for *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) in regulated wood packing material. *Journal of Economic Entomology*, 99(5): 1628-1635.
- Binker, G., Binker, J., Fröba, G., Graf, E. y Lanz, B.** 1999. Laboratory study on *Anobium punctatum*, number 130377/A and 403972 (bioassay 11–15), no publicado, Binker Materialschutz, Alemania. En: *Inclusion of active substances in Annex I to Directive 98/8/EC* Assessment report: Sulfuryl fluoride, PT8, Appendix IV (List of studies), pág. 29, septiembre de 2006.
- Ducom, P., Roussel, C. y Stefanini, V.** 2003. Efficacy of sulfuryl fluoride on European house borer eggs, *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae), proyecto de investigación por contrato. Laboratoire National de la Protection des Végétaux, Station d'Etude des Techniques de fumigation et de Protection des Denrées Stockées, Chemin d'Artigues 33150 Cenon, Francia. En: *Inclusion of active substances in Annex I to Directive 98/8/EC* Assessment report: Sulfuryl fluoride, PT8, Appendix IV (List of studies), pág. 31, septiembre de 2006.
- La Fage, J.P., Jones, M. y Lawrence, T.** 1982. A laboratory evaluation of the fumigant, sulfuryl fluoride (Vikane), against the Formosan termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. International Research Group on Wood Protection (IRGWP), 13.ª reunión anual. Estocolmo, mayo de 1982. Estocolmo, Secretaría del IRGWP.
- Mizobuchi, M., Matsuoka, I., Soma, Y., Kishino, H., Yabuta, S., Imamura, M., Mizuno, T., Hirose, Y. y Kawakami, F.** 1996. Susceptibility of forest insect pests to sulfuryl fluoride. 2. Ambrosia beetles. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 32: 77-82.
- Osbrink, W.L.A., Scheffrahn, R.H., Su, N.-Y. y Rust, M.K.** 1987. Laboratory comparisons of sulfuryl fluoride toxicity and mean time of mortality among ten termite species (Isoptera: Hodotermitidae, Kalotermitidae, Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 80: 1044-1047.
- Soma, Y., Mizobuchi, M., Oogita, T., Misumi, T., Kishono, H., Akagawa, T. y Kawakami, F.** 1997. Susceptibility of forest insect pests to sulfuryl fluoride. 3. Susceptibility to sulfuryl fluoride at 25 °C. *Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan*, 33: 25-30.
- Soma, Y., Yabuta, S., Mizoguti, M., Kishino, H., Matsuoka, I., Goto, M., Akagawa, T., Ikeda, T. y Kawakami, F.** 1996. Susceptibility of forest insect pests to sulfuryl fluoride. 1. Wood borers and bark beetles. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 32: 69-76.
- Williams, L.H. y Sprenkel, R.J.** 1990. Ovicidal activity of sulfuryl fluoride to anobiid and lyctid beetle eggs of various ages. *Journal of Entomological Science*, 25(3): 366-375.
- Zhang, Z.** 2006. Use of sulfuryl fluoride as an alternative fumigant to methyl bromide in export log fumigation. *New Zealand Plant Protection*, 59: 223-227.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2006-04: En la CMF-1 (2006) se añadió el tema *Revisión de la NIMF 15 (Reglamentación del embalaje de madera utilizado en el comercio internacional)* (2006-011).

2006-09: El tratamiento se presentó en respuesta a la solicitud de tratamientos de 2006-08.

2006-12: El Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios (GTTF) revisó el tratamiento.

2007-07: El Grupo técnico sobre cuarentena forestal (GTFCF) examinó el proyecto revisado.

2007-12: La nueva revisión del proyecto se presentó al GTTF.

2008-12: Debate por el GTFCF.

2009-01: El GTTF revisó el tratamiento.

2009-07: El GTFCF examinó el texto enmendado.

2010-07: El proyecto se actualizó y se recomendó al CN.

2010-09: Debate por el GTFCF.

2011-04: Decisión por vía electrónica del CN.

2011-05: El CN decidió, por conducto de su foro electrónico, devolver el texto al GTTF.

2011-07: El GTTF revisó el proyecto basándose en las observaciones del CN.

2011-10: El GTTF revisó el proyecto.

2012-02: Debate por el GTFCF.

2012-12: El GTTF revisó el proyecto.

2013-07: El GTTF revisó el proyecto teniendo en cuenta la información adicional aportada por el proponente.

2014-01: El GTTF pospuso la revisión del proyecto a la espera de recibir información de los especialistas.

2014-06: El GTTF revisó el proyecto teniendo en cuenta la información aportada por los especialistas; el GTTF recomendó dividir el tema *Fumigación del embalaje de madera con fluoruro de sulfuro* (2007-101) en dos temas distintos (uno relativo a los insectos y otro a nematodos e insectos); el GTTF recomendó presentar los proyectos al CN para consulta.

2014-09: El CN aprobó, mediante decisión por vía electrónica, el proyecto de protocolo para consulta (2014_eSC_Nov_09).

2014-11: El CN convino en dividir el tema *Fumigación del embalaje de madera con fluoruro de sulfuro* (2007-101) en temas independientes: *Fumigación de insectos en madera descortezada con fluoruro de sulfuro* (2007-101A) y *Fumigación de nematodos e insectos en madera descortezada con fluoruro de sulfuro* (2007-101B).

2015-07: Primera consulta.

2016-09: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción mediante decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_15).

2017-04: La CMF-12 aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 22. *Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfuro contra insectos en madera descortezada* (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

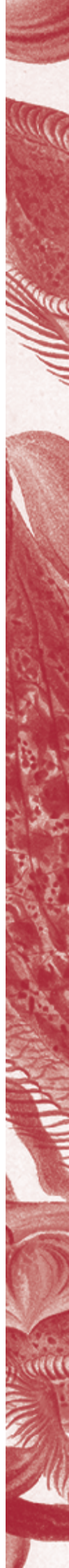
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NIMF 28
ANEXO 23

ESP

TF 23: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra nematodos e insectos en madera descortezada

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 23: Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra nematodos e insectos en madera descortezada

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

El presente tratamiento describe la fumigación de madera descortezada con fluoruro de sulfurilo para reducir el riesgo de introducción y dispersión de *Bursaphelenchus xylophilus* y plagas de insectos¹.

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento de fumigación de nematodos e insectos en madera descortezada con fluoruro de sulfurilo
Ingrediente activo	Fluoruro de sulfurilo (también denominado oxifluoruro de sulfúrico, difluoruro de sulfurilo)
Tipo de tratamiento	Fumigación
Plagas objetivo	Estados de desarrollo en la madera de <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> (Steiner y Buhner, 1934) Nickle, 1970 (Nematoda: Aphelenchoididae) e insectos, en particular <i>Anoplophora glabripennis</i> (Motschulsky, 1853) (Coleoptera: Cerambycidae), <i>Anobium punctatum</i> (De Geer, 1774) (Coleoptera: Anobiidae) y <i>Arhopalus tristis</i> (Fabricius, 1787) (Coleoptera: Cerambycidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Madera descortezada con sección transversal de no más de 20 cm en su dimensión más pequeña y contenido de humedad no superior al 75% (base seca)

Protocolo de tratamiento

Fumigación de madera descortezada con sección transversal de no más de 20 cm en su dimensión más pequeña y contenido de humedad no superior al 75 % (base seca), aplicando un protocolo con el que se alcance el mínimo producto de concentración x tiempo (CT) en un solo período de 24 o 48 horas a la temperatura y la concentración residual final especificadas en el Cuadro 1.

¹ El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Cuadro 1. Producto de concentración x tiempo (CT) mínimo en un solo período de 24 o 48 horas para la madera descortezada fumigada con fluoruro de sulfurilo

Temperatura	Duración (horas)	CT mínimo exigido (g·h/m ³)	Concentración mínima (g/m ³)
20 °C o mayor	48	3 000	29
30 °C o mayor	24	1 400	41

El presente protocolo de tratamiento es eficaz contra todas las etapas de desarrollo de las plagas de nematodos e insectos. Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento realizado conforme a este protocolo alcance las tasas de mortalidad que se detallan a continuación para las etapas de desarrollo en la madera de las siguientes plagas de nematodos e insectos:

- *Bursaphelenchus xylophilus*: 99,99683 %, como mínimo
- *Anoplophora glabripennis* (larvas y pupas): 99,99683 % como mínimo²
- *Anobium punctatum* (todas las etapas de desarrollo): 99,7462 %, como mínimo
- *Arhopalus tristis* (todas las etapas de desarrollo): 99 %, como mínimo.

La temperatura medida en el producto (incluso en el centro de la madera) o en el aire ambiental (el más bajo entre ambos valores) se utilizará para calcular la dosis del fluoruro de sulfurilo y debe ser por lo menos de 20 °C por toda la duración del tratamiento.

Otra información pertinente

En el Cuadro 2 figura un ejemplo de un protocolo de tratamiento que alcanza el CT mínimo exigido para la madera descortezada tratada con fluoruro de sulfurilo.

Cuadro 2. Ejemplo de un protocolo de tratamiento que alcanza el producto de concentración x tiempo (CT) mínimo exigido para la madera descortezada tratada con fluoruro de sulfurilo.

Temperatura mínima durante el tratamiento	CT mínimo exigido (g·h/m ³)	Dosis de fluoruro de sulfurilo [†] (g/m ³)	Concentración mínima (g/m ³) al cabo de (horas)						
			0,5	2	4	12	24	36	48
20 °C o mayor	3 000	120	124	112	104	82	58	41	29
30 °C o mayor	1 400	82	87	78	73	58	41	n/a	n/a

[†] En condiciones de sorción o drenaje elevados podrán necesitarse dosis iniciales superiores.

n/a: no se aplica

El Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios basó su evaluación de este tratamiento para *B. xylophilus* e insectos en la investigación publicada por Barak *et al.* (2006), Bonifacio *et al.* (2013) y Sousa *et al.* (2010, 2011).

La eficacia general de este tratamiento ha sido respaldada por Barak *et al.* (2010), Binker *et al.* (1999), Bonifacio *et al.* (2013), Ducom *et al.* (2003), Dwinell *et al.* (2005), La Fage *et al.* (1982), Mizobuchi

² La tasa de mortalidad mínima conseguida mediante el tratamiento en esta especie se ha estimado por extrapolación, a partir de un modelo ajustado a los datos experimentales.

et al. (1996), Osbrink *et al.* (1987), Soma *et al.* (1996, 1997, 2001), Williams y Sprenkel (1990) y Zhang (2006).

Si no se alcanza el CT en un solo período de 24 o 48 horas (aunque se consiga la concentración mínima), será necesario tomar medidas correctivas. El tratamiento puede prolongarse un máximo de dos horas sin añadir más fluoruro de sulfuro o puede iniciarse de nuevo.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

- Barak, A., Messenger, M., Neese, P., Thoms, E. y Fraser, I.** 2010. Sulfuryl fluoride treatment as a quarantine treatment for emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae) in ash logs. *Journal of Economic Entomology*, 103(3): 603-611.
- Barak, A., Wang, Y., Zhan, G., Wu, Y., Xu, L. y Huang, Q.** 2006. Sulfuryl fluoride as a quarantine treatment for *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) in regulated wood packing material. *Journal of Economic Entomology*, 99(5): 1628-1635.
- Binker, G., Binker, J., Fröba, G., Graf, E. y Lanz, B.** 1999. Laboratory study on *Anobium punctatum*, number 130377/A and 403972 (bioassay 11–15), no publicado, Binker Materialschutz, Alemania. En: *Inclusion of active substances in Annex I to Directive 98/8/EC* Assessment report: Sulfuryl fluoride, PT8, Appendix IV (List of studies), pág. 29, septiembre de 2006.
- Bonifacio L., Inácio, M.L., Sousa, E., Buckley, S. y Thoms, E M.** 2013. *Complementary studies to validate the proposed fumigation schedules of sulfuryl fluoride for inclusion in ISPM No. 15 for the eradication of pine wood nematode (Bursaphelenchus xylophilus) from wood packaging material.* Informe. Lisboa, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (ex-INRB). 60 págs.
- Ducom, P., Roussel, C. y Stefanini, V.** 2003. Efficacy of sulfuryl fluoride on European house borer eggs, *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae), proyecto de investigación por contrato. Laboratoire National de la Protection des Végétaux, Station d'Etude des Techniques de fumigation et de Protection des Denrées Stockées, Chemin d'Artigues - 33150 Cenon, Francia. En: *Inclusion of active substances in Annex I to Directive 98/8/EC* Assessment report: Sulfuryl fluoride, PT8, Appendix IV (List of studies), pág. 31, septiembre de 2006.
- Dwinell, L.D., Thoms, E. y Prabhakaran, S.** 2005. Sulfuryl fluoride as a quarantine treatment for the pinewood nematode in unseasoned pine. En: *Proceedings of the 2005 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction.* San Diego, CA (Estados Unidos), 31 de octubre a 3 de noviembre de 2005, págs. 1–12. Fresno, CA, Methyl Bromide Alternatives Outreach.
- La Fage, J.P., Jones, M. y Lawrence, T.** 1982. A laboratory evaluation of the fumigant, sulfuryl fluoride (Vikane), against the Formosan termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. International Research Group on Wood Protection (IRGWP), 13.^a reunión anual. Estocolmo, mayo de 1982. Estocolmo, Secretaría del IRGWP.
- Mizobuchi, M., Matsuoka, I., Soma, Y., Kishino, H., Yabuta, S., Imamura, M., Mizuno, T., Hirose, Y. y Kawakami, F.** 1996. Susceptibility of forest insect pests to sulfuryl fluoride. 2. Ambrosia beetles. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 32: 77-82.
- Osbrink, W.L.A., Scheffrahn, R.H., Su, N.-Y. y Rust, M.K.** 1987. Laboratory comparisons of sulfuryl fluoride toxicity and mean time of mortality among ten termite species (Isoptera: Hodotermitidae, Kalotermitidae, Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 80: 1044-1047.
- Soma, Y., Mizobuchi, M., Oogita, T., Misumi, T., Kishono, H., Akagawa, T. y Kawakami, F.** 1997. Susceptibility of forest insect pests to sulfuryl fluoride. 3. Susceptibility to sulfuryl fluoride at 25 °C. *Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan*, 33: 25-30.
- Soma, Y., Naito, H., Misumi, T., Mizobuchi, M., Tsuchiya, Y., Matsuoka, I., Kawakami, F., Hirata, K. y Komatsu, H.** 2001. Effects of some fumigants on pine wood nematode, *Bursaphelenchus*

- xylophilus* infecting wooden packages. 1. Susceptibility of pine wood nematode to methyl bromide, sulfuryl fluoride and methyl isothiocyanate. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 37: 19-26.
- Soma, Y., Yabuta, S., Mizoguti, M., Kishino, H., Matsuoka, I., Goto, M., Akagawa, T., Ikeda, T. y Kawakami, F.** 1996. Susceptibility of forest insect pests to sulfuryl fluoride. 1. Wood borers and bark beetles. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 32: 69-76.
- Sousa, E., Bonifácio, L., Naves, P., Lurdes Silva Inácio, M., Henriques, J., Mota, M., Barbosa, P., Espada, M., Wontner-Smith, T., Cardew, S., Drinkall, M.J., Buckley, S. y Thoms, M.E.** 2010. *Studies to validate the proposed fumigation schedules of sulfuryl fluoride for inclusion in ISPM No. 15 for the eradication of pine wood nematode (Bursaphelenchus xylophilus) from wood packaging material.* Informe. Lisboa, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (ex-INRB). 20 págs.
- Sousa, E., Naves, P., Bonifácio, L., Henriques, J., Inácio, M.L. y Evans, H.** 2011. Assessing risks of pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* transfer between wood packaging by simulating assembled pallets in service. *EPPO Bulletin*, 41: 423-431.
- Williams, L.H. y Sprenkel, R.J.** 1990. Ovicidal activity of sulfuryl fluoride to anobiid and lyctid beetle eggs of various ages. *Journal of Entomological Science*, 25(3): 366-375.
- Zhang, Z.** 2006. Use of sulfuryl fluoride as an alternative fumigant to methyl bromide in export log fumigation. *New Zealand Plant Protection*, 59: 223-227.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2006-04: En la CMF-1 (2006) se añadió el tema *Revisión de la NIMF 15 (Reglamentación del embalaje de madera utilizado en el comercio internacional)* (2006-011).

2006-09: El tratamiento se presentó en respuesta a la solicitud de tratamientos de 2006-08.

2006-12: El Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios (GTTF) revisó el tratamiento.

2007-07: El Grupo técnico sobre cuarentena forestal (GTCF) examinó el proyecto revisado.

2007-12: La nueva revisión del proyecto se presentó al GTTF.

2008-12: Debate por el GTCF.

2009-01: El GTTF revisó el proyecto.

2009-07: El GTCF examinó el texto enmendado.

2010-07: El proyecto se actualizó y se recomendó al CN.

2010-09: Debate por el GTCF.

2011-04: Decisión por vía electrónica del CN.

2011-05: El CN decidió, por conducto de su foro electrónico, devolver el texto al GTTF.

2011-07: El GTTF revisó el proyecto basándose en las observaciones del CN.

2011-10: El GTTF revisó el proyecto.

2012-02: Debate por el GTCF.

2012-12: El GTTF revisó el proyecto.

2013-07: El GTTF revisó el proyecto teniendo en cuenta la información adicional aportada por el proponente.

2014-01: El GTTF pospuso la revisión del proyecto a la espera de recibir información de los especialistas.

2014-06: El GTTF revisó el proyecto teniendo en cuenta la información aportada por los especialistas; el GTTF recomendó dividir el tema *Fumigación del embalaje de madera con fluoruro de sulfurilo* (2007-101) en dos temas distintos (uno relativo a los insectos y otro a nematodos e insectos); el GTTF recomendó presentar el proyecto al CN para consulta a los miembros.

2014-09: El CN aprobó, mediante decisión por vía electrónica, el proyecto de protocolo para consulta a los miembros (2014_eSC_Nov_09).

2014-11: El CN convino en dividir el tema *Fumigación del embalaje de madera con fluoruro de sulfurilo* (2007-101) en dos temas: *Fumigación de insectos en madera descortezada con fluoruro de sulfurilo* (2007-101A) y *Fumigación de nematodos e insectos en madera descortezada con fluoruro de sulfurilo* (2007-101B).

2015-07: Primera consulta.

2016-09: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_16).

2017-04: La CMF-12 aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 23. Tratamiento de fumigación con fluoruro de sulfurilo contra nematodos e insectos en madera descortezada (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

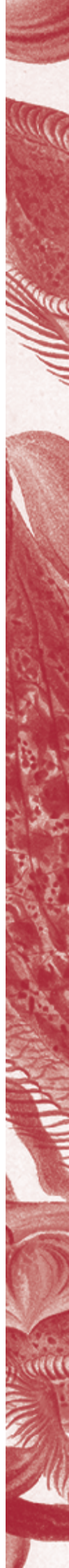
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

NIMF 28
ANEXO 24

ESP

TF 24: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus sinensis*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 24: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus sinensis*

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de frío a frutos de *Citrus sinensis*¹ (naranja) para inducir la mortalidad de los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* con la eficacia indicada².

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento de frío contra <i>Ceratitis capitata</i> en <i>Citrus sinensis</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (frío)
Plaga objetivo	<i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Citrus sinensis</i>

Protocolo de tratamiento

Protocolo 1: 16 días consecutivos a 2 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9937% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

Protocolo 2: 18 días consecutivos a 2 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,999% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

Protocolo 3: 20 días consecutivos a 3 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9989% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

La fruta debe alcanzar la temperatura de tratamiento antes de que comience el tiempo de exposición. Debería controlarse y registrarse la temperatura de la fruta, que no debería superar el nivel especificado en toda la duración del tratamiento.

¹ Las denominaciones aquí empleadas para las especies y los híbridos de *Citrus* se ajustan a la nomenclatura adoptada en Cottin, R. 2002. *Citrus of the world: A citrus directory*, version 2.0. France, SRA INRA-CIRAD.

² El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Otra información pertinente

Al evaluar este tratamiento, el Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios consideró cuestiones relativas a los regímenes de temperaturas y el acondicionamiento térmico, teniendo en cuenta el trabajo de Hallman y Mangan (1997).

El protocolo 1 se basa en el trabajo de Laborda *et al.* (1997) y Santaballa *et al.* (1995), utilizando la mortalidad larval.

Los protocolos 2 y 3, que se basan en los trabajos de De Lima *et al.* (2007), midiendo la mortalidad por la ausencia de desarrollo del pupario.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

De Lima, C.P.F., Jessup, A.J., Cruickshank, L., Walsh, C.J. y Mansfield, E.R. 2007. Cold disinfestation of citrus (*Citrus* spp.) for Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and Queensland fruit fly (*Bactrocera tryoni*) (Diptera: Tephritidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35: 39-50.

Hallman, G. J. y Mangan, R. L. 1997. Concerns with temperature quarantine treatment research. En: G.L. Obenauf, ed. *1997 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction*. San Diego, CA (Estados Unidos), 3-5 de noviembre de 1997, págs. 79-1–79-4.

Cerdá, M., Santaballa, E. y Dalmau, A. 1997. *Report of quarantine cold treatment to control Ceratitis capitata (Wied) to export Salustiana oranges to Japan*. Valencia (España), Universidad Politécnica de Valencia. 16 págs.

Santaballa, E., Laborda, R. y Dalmau, A. 1995. *Report of quarantine cold treatment to control Ceratitis capitata (Wied) to export oranges to Japan*. Valencia (España), Universidad Politécnica de Valencia. 22 págs.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2007-09: Presentación del tratamiento.

2007-12: El GTTF combinó los documentos *Tratamientos de frío contra Ceratitis capitata en Citrus sinensis* (2007-GTTF-106) y 2007-GTTF-109 para crear el tratamiento 2007-206A.

2008-04: En la CMF-3 se añadió este asunto al tema *Tratamientos para las moscas de la fruta*.

2008-09: El CN aprobó mediante decisión por vía electrónica el envío del texto a consulta con los miembros.

2009-06: Consulta a los miembros.

2010-07: En la reunión del GTTF se revisó el proyecto y se recomendó el mismo al CN para su adopción.

2011-11: El CN formuló sus observaciones por vía electrónica (2011_SC_Nov_03).

2012-12: El GTTF revisó el proyecto y recomendó el texto al CN para su adopción.

2013-11: El CN recomendó el texto a la CMF-9 para su adopción mediante decisión por medios electrónicos (2013_eSC_Nov_01).

2014-04: El tratamiento recibió una objeción formal antes de la CMF-9.

2015-11: El CN le asignó la condición de “pendiente”.

2016-09: El GTTF acordó que no hay diferencias en la población de moscas de la fruta por lo que respecta al tratamiento de frío ni efectos varietales o de los cultivares para *Citrus*, por lo que recomendó fusionar el proyecto de anexo a la NIMF 28 2010-103 con 2007-206A; el GTTF acordó que no hay diferencias en la población de moscas de la fruta por lo que respecta al tratamiento de frío ni efectos varietales o de los cultivares.

2016-09: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_05).

2017-04: La CMF-12 aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 24. Tratamiento de frío contra Ceratitis capitata en Citrus reticulata (2017) Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

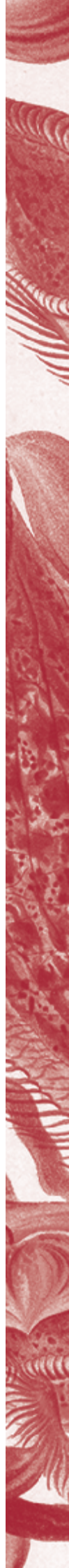
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NIMF 28
ANEXO 25

ESP

TF 25: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata* x *C. sinensis*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 25: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata* × *C. sinensis*

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de frío a frutos de *Citrus reticulata* × *Citrus sinensis*¹ para inducir la mortalidad de los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* con la eficacia indicada².

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento de frío contra <i>Ceratitis capitata</i> en <i>Citrus reticulata</i> × <i>Citrus sinensis</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (frío)
Plaga objetivo	<i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Citrus reticulata</i> × <i>Citrus sinensis</i>

Protocolo de tratamiento

Protocolo 1: 18 días consecutivos a 2 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9987% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

Protocolo 2: 20 días consecutivos a 3 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9987% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

La fruta debe alcanzar la temperatura de tratamiento antes de que comience el tiempo de exposición. Debería controlarse y registrarse la temperatura de la fruta, que no debería superar el nivel especificado en toda la duración del tratamiento.

¹ Las denominaciones aquí empleadas para las especies y los híbridos de *Citrus* se ajustan a la nomenclatura adoptada en Cottin, R. 2002. *Citrus of the world: A citrus directory*, version 2.0. France, SRA INRA-CIRAD.

² El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Otra información pertinente

Al evaluar este tratamiento, el Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios consideró cuestiones relativas a los regímenes de temperaturas y el acondicionamiento térmico, teniendo en cuenta el trabajo de Hallman y Mangan (1997).

Los protocolos 1 y 2, que se basan en el trabajo de De Lima *et al.* (2007), se elaboraron utilizando los cultivares “Ellendale” y “Murcott” midiendo la mortalidad por la ausencia de desarrollo del pupario.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

De Lima, C.P.F., Jessup, A.J., Cruickshank, L., Walsh, C.J. y Mansfield, E.R. 2007. Cold disinfestation of citrus (*Citrus* spp.) for Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*) and Queensland fruit fly (*Bactrocera tryoni*) (Diptera: Tephritidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35: 39-50.

Hallman, G. J. y Mangan, R. L. 1997. Concerns with temperature quarantine treatment research. En: G.L. Obenauf, ed. *1997 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction*. San Diego, CA (Estados Unidos), 3-5 de noviembre de 1997, págs. 79-1-79-4.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2007-09: Presentación del tratamiento.

2007-12: El GTTF combinó los documentos *Tratamiento de frío contra Ceratitidis capitata en Citrus reticulata x C. sinensis* (2007-106) y 2007-206D para crear el tratamiento 2007-206B.

2008-04: En la CMF-3 se añadió este asunto al tema *Tratamientos para las moscas de la fruta*.

2008-09: El CN aprobó mediante decisión por vía electrónica el envío del texto a consulta con los miembros.

2009-06: Consulta a los miembros.

2010-07: El GTTF revisó el proyecto y recomendó el texto al CN para su adopción.

2011-11: El CN formuló sus observaciones por vía electrónica.

2012-12: El GTTF revisó el proyecto y recomendó el texto al CN para su adopción.

2013-06: El CN recomendó el texto a la CMF-9 para su adopción.

2014-04: El tratamiento recibió una objeción formal antes de la CMF-9.

2015-11: El CN le asignó la condición de “pendiente”.

2016-09: El GTTF observó que los protocolos presentados para adopción eran para la variedad “Murcott” y convino en que no hay diferencias varietales en *C. reticulata*, por lo que recalculó los niveles de eficacia para abarcar ambas variedades (según lo presentado); el GTTF acordó que no hay diferencias en la población de moscas de la fruta por lo que respecta al tratamiento de frío.

2016-11: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_06).

2017-04: La CMF aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 25. Tratamiento de frío contra Ceratitidis capitata en Citrus reticulata x C. sinensis (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

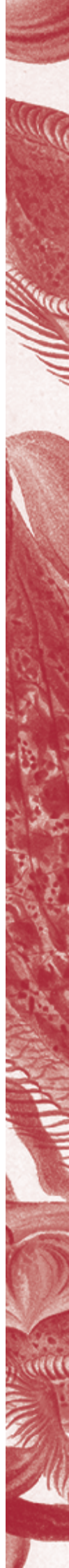
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NIMF 28
ANEXO 26

ESP

TF 26: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus limon*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 26: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus limon*

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de frío a frutos de *Citrus limon*¹ para inducir la mortalidad de los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* con la eficacia indicada².

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento de frío contra <i>Ceratitis capitata</i> en <i>Citrus limon</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (frío)
Plaga objetivo	<i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Citrus limon</i>

Protocolo de tratamiento

Protocolo 1: 16 días consecutivos a 2 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9975% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

Protocolo 2: 18 días consecutivos a 3 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9973% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

La fruta debe alcanzar la temperatura de tratamiento antes de que comience el tiempo de exposición. Debería controlarse y registrarse la temperatura de la fruta, que no debería superar el nivel especificado en toda la duración del tratamiento.

¹ Las denominaciones aquí empleadas para las especies y los híbridos de *Citrus* se ajustan a la nomenclatura adoptada en Cottin, R. 2002. *Citrus of the world: A citrus directory*, version 2.0. France, SRA INRA-CIRAD.

² El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Otra información pertinente

Se considera que *C. limon* es un hospedante condicional de *C. capitata*.

Al evaluar este tratamiento, el Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios examinó las cuestiones relacionadas con los regímenes de temperaturas y el acondicionamiento térmico teniendo en cuenta el trabajo de Hallman y Mangan (1997).

Los protocolos 1 y 2, que se basan en los trabajos de De Lima *et al.* (2007) se elaboraron utilizando el cultivar “Lisboa” y midiendo la mortalidad por la ausencia de desarrollo del pupario.

El GTTF también examinó las cuestiones relacionadas con los daños ocasionados a los limones por la refrigeración (GTTF, 2012).

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

De Lima, C.P.F., Jessup, A.J., Cruickshank, L., Walsh, C.J. y Mansfield, E.R. 2007. Cold disinfestation of citrus (*Citrus* spp.) for Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and Queensland fruit fly (*Bactrocera tryoni*) (Diptera: Tephritidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35: 39-50.

Hallman, G. J. y Mangan, R. L. 1997. Concerns with temperature quarantine treatment research. En: G.L. Obenauf, ed. *1997 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction*. San Diego, CA (Estados Unidos), 3-5 de noviembre de 1997, págs. 79-1–79-4.

GTTF (Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios). 2012. TPPT response to SC’s concerns about chilling injury in lemons during in-transit cold disinfestation. Apéndice 9 del informe de la reunión del GTTF, diciembre de 2012, pp. 55–57.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2007-09: Presentación del tratamiento.

2007-12: El GTTF separó el *Tratamiento de frío contra Ceratitis capitata en Citrus limon* del 2007-TPPT-106 para crear el tratamiento 2007-206C.

2008-04: En la CMF-3 se añadió este asunto al tema *Tratamientos para las moscas de la fruta*.

2008-09: El CN aprobó mediante decisión por vía electrónica el envío del texto a consulta con los miembros.

2009-06: Consulta a los miembros.

2010-07: El GTTF revisó el proyecto y recomendó el texto al CN para su adopción.

2011-11: El CN formuló sus observaciones por vía electrónica.

2012-12: El GTTF finalizó la respuesta a la preocupación sobre los daños causados por la refrigeración, revisó el proyecto y lo recomendó al CN para su adopción.

2013-06: El CN no logró el consenso durante el foro de debate y acordó examinar el proyecto en la reunión del CN de noviembre de 2013.

2013-11: El CN recomendó el texto a la CMF-9 para su adopción.

2014-04: El tratamiento recibió una objeción formal antes de la CMF-9.

2015-11: El CN le asignó la condición de "pendiente".

2016-09: El GTTF acordó que no existen diferencias de las poblaciones de mosca de la fruta en relación al tratamiento de frío y que no hay efectos de los varietales o cultivares.

2016-09: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_07).

2017-04: La CMF aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 26. *Tratamiento de frío contra Ceratitis capitata en Citrus limon* (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

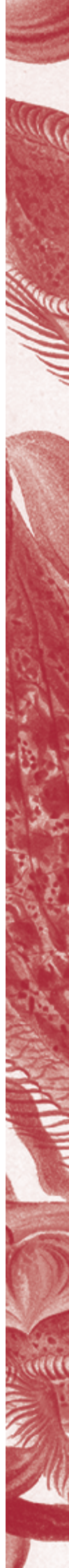
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

NIMF 28
ANEXO 27

ESP

TF 27: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus paradisi*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 27: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus paradisi*

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de frío a frutos de *Citrus paradisi*¹ para inducir la mortalidad de los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* con la eficacia indicada².

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento de frío contra <i>Ceratitis capitata</i> en <i>Citrus paradisi</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (frío)
Plaga objetivo	<i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Citrus paradisi</i>

Protocolo de tratamiento

Protocolo 1: 19 días consecutivos a 2 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9917 % de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

Protocolo 2: 23 días consecutivos a 3 °C o temperatura inferior

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9916% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

La fruta debe alcanzar la temperatura de tratamiento antes de que comience el tiempo de exposición. Debería controlarse y registrarse la temperatura de la fruta, que no debería superar el nivel especificado en toda la duración del tratamiento.

¹ Las denominaciones aquí empleadas para las especies y los híbridos de *Citrus* se ajustan a la nomenclatura adoptada en Cottin, R. 2002. *Citrus of the world: A citrus directory*, versión 2.0. France, SRA INRA-CIRAD.

² El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Otra información pertinente

Al evaluar este tratamiento, el Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios consideró cuestiones relativas a los regímenes de temperaturas y el acondicionamiento térmico, teniendo en cuenta el trabajo de Hallman y Mangan (1997).

Los protocolos 1 y 2 se basan en los trabajos de un autor anónimo (2007a, 2007b), Gastaminza *et al.* (2007) y Willink *et al.* (2007), utilizando la mortalidad larval.

El protocolo 1 se elaboró utilizando los cultivares “Marsh Seedless”, “Star Ruby”, “Henninger’s Ruby” y “Rouge la Toma”.

El protocolo 2 se elaboró utilizando el cultivar “Henninger’s Ruby”.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

Anónimo. 2007a. Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios – 110a. Quarantine cold treatment of grapefruit for medfly (*Ceratitis capitata* Wied). Documento proporcionado por la Organización nacional de protección fitosanitaria de la Argentina.

Anónimo. 2007b. Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios – 111a. Quarantine cold treatment of grapefruit for medfly (*Ceratitis capitata* Wied). Documento proporcionado por la Organización nacional de protección fitosanitaria de la Argentina.

Gastaminza, G., Willink, E., Gramajo, M.C., Salvatore, A., Villagrán, M.E., Carrizo, B., Macián, A., Avila, R., Favre, P., Toledo, S., García Degano, M.F., Socias, M.G. y Oviedo, A. 2007. Tratamientos con frío para el control de *Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus* para la exportación de cítricos. En: Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del Noroeste Argentino: once años de investigaciones 1996–2007. E. Willink, G. Gastaminza, L. Augier y B. Stein editores. Centro de Investigaciones Cuarentenarias, Sección Zoología Agrícola, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Las Talitas, Tucumán, Argentina. Disponible en <http://www.eeaoc.org.ar> (consultado por última vez el 1 de septiembre de 2016).

Hallman, G. J. y Mangan, R. L. 1997. Concerns with temperature quarantine treatment research. En: G.L. Obenauf, ed. *1997 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction*. San Diego, CA (Estados Unidos), 3-5 de noviembre de 1997, págs. 79-1–79-4.

Willink, E., Gastaminza, G., Gramajo, M.C., Salvatore, A., Villagrán, M.E., Carrizo, B., Macián, A., Avila, R. y Favre, P. 2007. Estudios básicos para el desarrollo de tratamientos cuarentenarios con frío para *Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus* en cítricos de Argentina. En: Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del Noroeste Argentino: once años de investigaciones 1996–2007. E. Willink, G. Gastaminza, L. Augier y B. Stein editores. Centro de Investigaciones Cuarentenarias, Sección Zoología Agrícola, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Las Talitas, Tucumán, Argentina. Disponible en <http://www.eeaoc.org.ar> (consultado por última vez el 1 de septiembre de 2016).

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2007-09: Presentación del tratamiento.

2007-12: El GTTF revisó el proyecto del Tratamiento de frío contra *Ceratitits capitata* en *Citrus paradisi*.

2008-04: En la CMF-3 se añadió este asunto al tema *Tratamientos para las moscas de la fruta*.

2008-09: El CN aprobó mediante decisión por vía electrónica el envío del texto a consulta con los miembros.

2009-06: Consulta a los miembros.

2010-07: El GTTF revisó el proyecto y recomendó el texto al CN para su adopción.

2011-11: El CN recomendó el texto a la CMF-7 para su adopción.

2012-03: El tratamiento recibió objeciones formales.

2012-09: El GTTF redactó la respuesta a las objeciones formales (sin recomendar revisión alguna en relación con estas).

2012-12: El GTTF revisó el proyecto (sin cambios) y recomendó el texto al CN para su adopción.

2013-06: El CN recomendó el texto a la CMF-9 para su adopción.

2014-04: El tratamiento recibió objeciones formales antes de la CMF-9.

2014-06: El GTTF revisó el proyecto.

2014-09: El GTTF respondió a algunas objeciones formales.

2015-11: El CN le asignó la condición de "pendiente".

2016-09: El GTTF acordó que no existen diferencias de las poblaciones de mosca de la fruta en relación al tratamiento de frío y que no hay efectos de los varietales o cultivares.

2016-09: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_08).

2017-04: La CMF aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 27. *Tratamiento de frío contra Ceratitits capitata en Citrus paradisi* (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

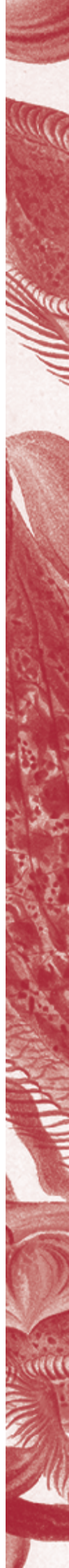
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

NIMF 28
ANEXO 28

ESP

TF 28: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 28: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus reticulata*

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de frío a frutos de *Citrus reticulata*¹ para inducir la mortalidad de los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* con la eficacia indicada².

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento de frío contra <i>Ceratitis capitata</i> en <i>Citrus reticulata</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (frío)
Plaga objetivo	<i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Citrus reticulata</i>

Protocolo de tratamiento

23 días consecutivos a 2 °C o temperatura inferior.

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9918 % de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

La fruta debe alcanzar la temperatura de tratamiento antes de que comience el tiempo de exposición. Debería controlarse y registrarse la temperatura de la fruta, que no debería superar el nivel especificado en toda la duración del tratamiento.

Otra información pertinente

Al evaluar este tratamiento, el Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios consideró cuestiones relativas a los regímenes de temperaturas y el acondicionamiento térmico, teniendo en cuenta el trabajo de Hallman y Mangan (1997).

¹ Las denominaciones aquí empleadas para las especies y los híbridos de *Citrus* se ajustan a la nomenclatura adoptada en Cottin, R. 2002. *Citrus of the world: A citrus directory*, version 2.0. France, SRA INRA-CIRAD.

² El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Este protocolo se basa en el trabajo de Gastaminza *et al.* (2007) y Willink *et al.* (2007) y se elaboró utilizando el cultivar “Nova” (*C. reticulata*) y la mortalidad larval.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

- Gastaminza, G., Willink, E., Gramajo, M.C., Salvatore, A., Villagrán, M.E., Carrizo, B., Macián, A., Avila, R., Favre, P., Toledo, S., García Degano, M.F., Socias, M.G. y Oviedo, A.** 2007. Tratamientos con frío para el control de *Ceratitidis capitata* y *Anastrepha fraterculus* para la exportación de cítricos. En: Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del Noroeste Argentino: once años de investigaciones 1996–2007. E. Willink, G. Gastaminza, L. Augier y B. Stein editores. Centro de Investigaciones Cuarentenarias, Sección Zoología Agrícola, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Las Talitas, Tucumán, Argentina. Disponible en <http://www.eeaoc.org.ar> (consultado por última vez el 1 de septiembre de 2016).
- Hallman, G. J. y Mangan, R. L.** 1997. Concerns with temperature quarantine treatment research. En: G.L. Obenauf, ed. *1997 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction*. San Diego, CA (Estados Unidos), 3-5 de noviembre de 1997, págs. 79-1–79-4.
- Willink, E., Gastaminza, G., Gramajo, M.C., Salvatore, A., Villagrán, M.E., Carrizo, B., Macián, A., Avila, R. y Favre, P.** 2007. Estudios básicos para el desarrollo de tratamientos cuarentenarios con frío para *Ceratitidis capitata* y *Anastrepha fraterculus* en cítricos de Argentina. En: Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del Noroeste Argentino: once años de investigaciones 1996–2007. E. Willink, G. Gastaminza, L. Augier y B. Stein editores. Centro de Investigaciones Cuarentenarias, Sección Zoología Agrícola, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Las Talitas, Tucumán, Argentina. Disponible en <http://www.eeaoc.org.ar> (consultado por última vez el 1 de septiembre de 2016).

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

- 2007-09: Tratamiento presentado en respuesta a la solicitud de tratamientos.
- 2007-12: El GTTF revisó el proyecto de *Tratamiento de frío contra Ceratitidis capitata en Citrus reticulata x C. sinensis* (2007-212).
- 2008-04: En la CMF-3 se añadió este asunto al tema *Tratamientos para las moscas de la fruta*.
- 2008-09: El CN aprobó mediante decisión por vía electrónica el envío del texto a consulta con los miembros.
- 2009-06: Consulta a los miembros.
- 2010-07: El GTTF revisó el proyecto y recomendó el texto al CN para su adopción.
- 2011-11: El CN recomendó el texto a la CMF-7 para su adopción.
- 2012-03: El tratamiento recibió objeciones formales.
- 2012-09: El GTTF redactó la respuesta a las objeciones formales (sin recomendar revisión alguna en relación con estas).
- 2012-12: El GTTF revisó el proyecto (sin cambios) y recomendó el texto al CN para su adopción.
- 2013-06: El CN no logró el consenso durante el foro de debate y acordó examinar el proyecto en la reunión del CN de noviembre de 2013.
- 2013-11: El CN acordó pedir al GTTF que abordara las preocupaciones del CN.
- 2015-11: El CN le asignó la condición de “pendiente”.
- 2016-09: El GTTF acordó que no existen diferencias de las poblaciones de mosca de la fruta en relación al tratamiento de frío y que no hay efectos de los varietales o cultivares, por lo que el GTTF recomendó que se modificara el título.
- 2016-09: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.
- 2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_09).
- 2017-04: La CMF-12 aprobó el tratamiento fitosanitario.
- NIMF 28. Anexo 28. Tratamiento de frío contra Ceratitidis capitata en Citrus reticulata** (2017) Roma, CIPF, FAO.
- Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

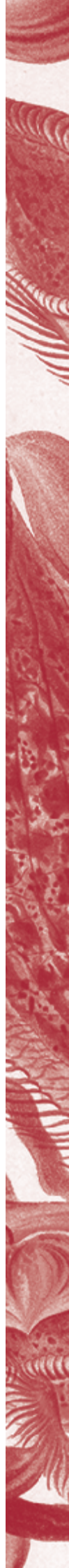
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

NIMF 28
ANEXO 29

ESP

TF 29: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus clementina*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 29: Tratamiento con frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus clementina*

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de frío a frutos de *Citrus clementina*¹ para provocar la mortalidad de los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* con la eficacia indicada².

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento con frío contra <i>Ceratitis capitata</i> en <i>Citrus clementina</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (frío)
Plaga objetivo	<i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Citrus clementina</i> Hort. ex Tanaka

Protocolo de tratamiento

16 días consecutivos a 2 °C (temperatura máxima del corazón de la fruta) o temperatura inferior.

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9900 % de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

La fruta debe alcanzar la temperatura de tratamiento antes de que comience el tiempo de exposición. Debería controlarse y registrarse la temperatura de la fruta, que no debería superar el nivel especificado en toda la duración del tratamiento.

Otra información pertinente

Este protocolo se basa en el trabajo de Santaballa *et al.* (2009) y se elaborado utilizando la variedad *Clemenules* y la mortalidad larval.

¹ Las denominaciones aquí empleadas para las especies y los híbridos de *Citrus* se ajustan a la nomenclatura adoptada en Cottin, R. 2002. *Citrus of the world: A citrus directory*, version 2.0. France, SRA INRA-CIRAD.

² El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la dirección <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

Santaballa, E., Laborda, R. y Cerdá, M. 2009. Quarantine cold treatment against *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) to export clementine mandarins to Japan. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 35: 501–512 (en inglés).

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2010-04: Tratamiento de frío contra *Ceratitis capitata* en *Citrus clementina* var. *Clemenules*. Tratamiento presentado (2010-102).

2010-07: El Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios (GTTF) examinó el tratamiento y solicitó información adicional.

2012-05: El GTTF recibió información adicional.

2012-12: El GTTF pidió información adicional al proponente.

2013-02: El GTTF envió una carta al proponente por conducto de la Secretaría.

2013-05: El proponente respondió.

2013-07: El GTTF recomendó al CN el envío para consulta a los miembros únicamente del tratamiento relativo a la var. *Clemenules*.

2013-09: El GTTF aprobó el protocolo de tratamiento (en una reunión virtual).

2014-02: El Comité de Normas (CN) aprobó mediante decisión por medios electrónicos el envío para consulta a los miembros.

2014-06: Consulta a los miembros.

2015-02: El GTTF examinó las observaciones de la consulta a los miembros.

2015-11: El CN le asignó la condición de “pendiente”.

2016-07: El administrador principal (EW) realizó modificaciones en respuesta a las observaciones de los países.

2016-09: En la reunión del GTTF se acordó modificar el título eliminando “variedades” y se invitó al CN a tomar nota del cambio en el título de *Tratamiento de frío contra Ceratitis capitata en Citrus clementina var. Clemenules (2010-102)* a *Tratamiento con frío contra Ceratitis capitata en Citrus clementina (2010-102)*; el GTTF acordó que no hay diferencias en la población de moscas de la fruta por lo que respecta al tratamiento con frío.

2016-09: El GTTF recomendó el texto al CN para su adopción.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_11).

2017-04: La CMF-12 aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 29. *Tratamiento de frío contra Ceratitis capitata en Citrus clementina* (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

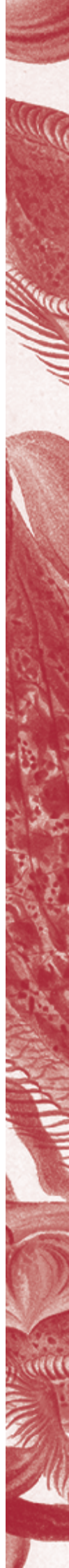
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NIMF 28
ANEXO 30

ESP

TF 30: Tratamiento térmico mediante vapor contra *Ceratitis capitata* en *Mangifera indica*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 30: Tratamiento con vapor caliente contra *Ceratitis capitata* en *Mangifera indica*.

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de tratamiento con vapor caliente a frutos de *Mangifera indica* para inducir la mortalidad de los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* con la eficacia indicada¹.

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento térmico mediante vapor contra <i>Ceratitis capitata</i> en <i>Mangifera indica</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (aplicación de calor mediante vapor)
Plaga objetivo	<i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Mangifera indica</i> L.

Protocolo de tratamiento

Exposición al calor en una cámara de vapor:

- con una humedad relativa del 95 % como mínimo;
- con una temperatura del aire en ascenso desde temperatura ambiente hasta 47 °C como mínimo;
- durante dos horas al menos o hasta que la temperatura en el corazón del fruto alcance los 46,5 °C;
- seguida de 10 minutos a una humedad relativa de 95 % como mínimo, una temperatura del aire mínima de 47 °C y una temperatura mínima de 46,5 °C en el corazón de la fruta (del fruto de mayor tamaño).

A la conclusión del tratamiento, se podrá enfriar la fruta con agua hasta llegar a la temperatura ambiente.

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo mate a no menos del 99,9968% de los huevos y las larvas de *Ceratitis capitata*.

¹ El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Otra información pertinente

Al evaluar este tratamiento, el Grupo técnico sobre tratamientos fitosanitarios consideró cuestiones relativas a los regímenes de temperaturas y el acondicionamiento térmico, teniendo en cuenta el trabajo de Hallman y Mangan (1997).

Este protocolo, que se basa en el trabajo de Heather *et al.* (1997) se elaboró utilizando el cultivar “Kensington Pride” y midiendo la mortalidad por la ausencia de desarrollo del pupario.

Se determinó que a temperaturas entre 41 °C y 44 °C el estadio de huevo de *C. capitata* era el más termotolerante de los estadios anteriores al pupario; no obstante, a 45 °C el tercer estadio larvario pareció ser ligeramente más termotolerante.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

Hallman, G. J. y Mangan, R. L. 1997. Concerns with temperature quarantine treatment research. En: G.L. Obenauf, ed. *1997 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction*, San Diego, CA, EE.UU., nov 3–5. Págs. 791-794.

Heather, N. W., Corcoran, R. J. y Kopittke, R. A. 1997. Hot air disinfection of Australian ‘Kensington’ mangoes against two fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Postharvest Biology and Technology*, 10: 99-105.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2007-03: En la CMF-2 se añadió el tema *Tratamientos contra moscas de la fruta*.

2010-04: El tratamiento térmico mediante vapor contra *Ceratitits capitata* en *Mangifera indica* (2010-106) se presentó en respuesta a la solicitud de tratamientos de 2009-12.

2010-07: El GTTF revisó el tratamiento y pidió información adicional al proponente.

2012-02: El GTTF pidió información adicional al proponente.

2012-12: El GTTF pidió información adicional al proponente.

2013-02: El GTTF envió una carta de notificación final al proponente por conducto de la Secretaría.

2013-05: El proponente facilitó información adicional.

2013-07: El GTTF revisó el proyecto y la información adicional facilitada por el proponente, y recomendó que el proyecto se remitiera al CN para la consulta de los miembros.

2014-02: El CN aprobó, mediante decisión por vía electrónica, presentar el texto para consulta a los miembros (2014_eSC_May_04).

2014-07: Consulta a los miembros.

2015-11: El CN le asignó la condición de “pendiente”.

2016-07: El administrador principal realizó modificaciones en respuesta a las observaciones de la consulta.

2016-09: El GTTF decidió que, a pesar de las posibles diferencias en la reacción al tratamiento térmico mediante vapor existentes entre las poblaciones de *C. capitata*, la solidez de este tratamiento quedaba de manifiesto por el número muy grande (> 165 000) de huevos, la etapa más tolerante, tratado en las pruebas confirmatorias, y que ello compensaba cualquier diferencia, por lo que lo recomendaba al CN.

2016-09: El GTTF aprobó las respuestas a las observaciones formuladas en la consulta a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eTPPT_Sep_01).

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_12).

2017-04: La CMF aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 30. *Tratamiento térmico mediante vapor contra Ceratitits capitata en Mangifera indica* (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

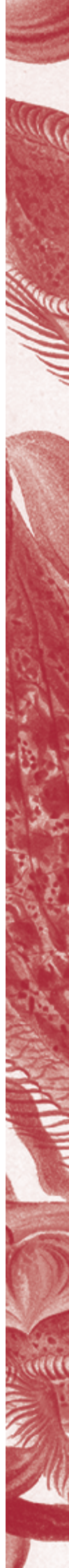
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 28

TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS

NIMF 28
ANEXO 31

ESP

TF 31: Tratamiento térmico mediante vapor contra *Bactrocera tryoni* en *Mangifera indica*

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

NIMF 28

Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas

TF 31: Tratamiento térmico mediante vapor contra *Bactrocera tryoni* en *Mangifera indica*

Adoptado en 2017; publicado en 2017

Ámbito del tratamiento

Este tratamiento describe la aplicación de tratamiento térmico de vapor a frutos de *Mangifera indica* para inducir la mortalidad de los huevos y larvas de *Bactrocera tryoni* con la eficacia indicada¹.

Descripción del tratamiento

Nombre del tratamiento	Tratamiento térmico mediante vapor contra <i>Bactrocera tryoni</i> en <i>Mangifera indica</i>
Ingrediente activo	n/a
Tipo de tratamiento	Físico (aplicación de calor mediante vapor)
Plaga objetivo	<i>Bactrocera tryoni</i> (Froggatt, 1897) (Diptera: Tephritidae)
Artículos reglamentados objeto del tratamiento	Frutos de <i>Mangifera indica</i> L.

Protocolo de tratamiento

Exposición al calor en una cámara de vapor:

- con una temperatura del aire en ascenso desde temperatura ambiente hasta 48 °C como mínimo;
- con una temperatura del aire mantenida a no menos de 48 °C y una humedad relativa mínima del 95 % por un tiempo no inferior a 90 minutos hasta alcanzar una temperatura igual o superior a 47 °C en el interior del fruto;
- seguida de 15 minutos a una humedad relativa de 95 % como mínimo, una temperatura del aire mínima de 48 °C y una temperatura mínima de 47 °C en el interior de la fruta (del fruto de mayor tamaño).

A la conclusión del tratamiento, se podrá enfriar la fruta ventilándola o sumergiéndola en agua a temperatura ambiente.

Se tiene un nivel de confianza del 95 % en que el tratamiento conforme a este protocolo induzca la mortalidad de no menos del 99,9968% de los huevos y las larvas de *Bactrocera tryoni*.

¹ El ámbito de los tratamientos fitosanitarios no abarca aspectos relacionados con el registro de plaguicidas u otros requisitos nacionales para la aprobación de tratamientos por las partes contratantes. Los tratamientos adoptados por la Comisión de Medidas Fitosanitarias podrán no proporcionar información sobre efectos específicos en la salud humana o la inocuidad alimentaria, los cuales deberían abordarse mediante procedimientos nacionales antes de que las partes contratantes aprueben un tratamiento. Por otra parte, para ciertos productos hospedantes se consideran, antes de la adopción internacional del tratamiento, sus posibles repercusiones en la calidad. Sin embargo, la evaluación de los efectos de un tratamiento sobre la calidad de los productos podrá requerir un examen adicional. Las partes contratantes no tienen obligación de aprobar, registrar o adoptar los tratamientos con vistas a su utilización en sus territorios.

Otra información pertinente

Este protocolo se basó en el trabajo de Corcoran (2002), Corcoran *et al.* (2000), Heather *et al.* (1991, 1994, 1997) y Queensland Department of Primary Industries (1999), y se elaboró utilizando los cultivares “Kensington Pride” y “Keitt”, así como midiendo la mortalidad mediante la ausencia de desarrollo del pupario.

Referencias

En el presente anexo a la norma puede hacerse referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

Corcoran, R.J. 2002. *Fruit fly (Diptera: Tephritidae) responses to quarantine heat treatment*. The University of Queensland, Brisbane (Australia). (Tesis doctoral)

Corcoran, R.J., Jordania, R.A., Peterson, P.M., Eelkema, M., Heslin, L.M. y Jen, E.V. 2000. *Disinfestation of additional mango varieties for export to Japan*. Gordon (Australia), Horticultural Research and Development Corp.

Heather, N.W., Corcoran, R.L., Heard, T., Jacobi, K. y Coates, L. 1991. *Disinfestation of mangoes against Queensland fruit fly by vapour heat*. Informe presentado por el Departamento de Industrias Primarias de Queensland al Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Pesca del Japón por conducto del Departamento de Industrias Primarias y Energía de Australia.

Heather, N. W., Corcoran, R. J. y Kopittke, R. A. 1997. Hot air disinfestation of Australian ‘Kensington’ mangoes against two fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Postharvest Biology and Technology*, 10: 99-105.

Heather, N. W., Jordania, R. y Corcoran, R.J. 1994. *Verification trials for vapour heat disinfestation of mangoes infested with fruit flies*. Informe presentado por el Departamento de Industrias Primarias de Queensland al Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Pesca del Japón por conducto del Departamento de Industrias Primarias y Energía de Australia.

Queensland Department of Primary Industries. 1999. *Verification trial against Queensland fruit fly, Bactrocera tryoni (Frogatt), en Keitt mangoes using vapour heat treatment*. Informe presentado por el Departamento de Industrias Primarias de Queensland al Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Pesca del Japón por conducto del Departamento de Industrias Primarias y Energía de Australia.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2007-03: En la CMF-2 se añadió el tema *Tratamientos contra moscas de la fruta*.

2010-04: El tratamiento térmico mediante vapor contra *Bactrocera tryoni* en *Mangifera indica* (2010-107) se presentó en respuesta a la solicitud de tratamientos de 2009-12.

2010-07: El GTTF revisó el proyecto y pidió información adicional al proponente.

2012-02: El GTTF revisó la respuesta del proponente y solicitó información adicional.

2013-07: El GTTF revisó la respuesta del proponente y solicitó información adicional.

2014-06: El GTTF examinó la respuesta del proponente y recomendó el proyecto al CN para consulta a los miembros.

2014-08: El CN aprobó, mediante decisión por vía electrónica, presentar el texto para consulta a los miembros (2014_eSC_Nov_08).

2015-07: Consulta a los miembros.

2016-09: El GTTF acordó que no existían diferencias para las variedades de mango, pero que las diferencias en la eficacia del tratamiento se debían al peso y la forma del fruto, por lo que el GTTF modificó el tratamiento para incluir un requisito sobre el tiempo de intensificación y recomendó al CN que lo adoptara.

2016-11: El CN recomendó el texto a la CMF-12 para su adopción a través de una decisión por medios electrónicos (2016_eSC_Nov_13). 2017-04: La CMF aprobó el tratamiento fitosanitario.

NIMF 28. Anexo 31. *Tratamiento térmico mediante vapor contra Bactrocera tryoni en Mangifera indica* (2017). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-04

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

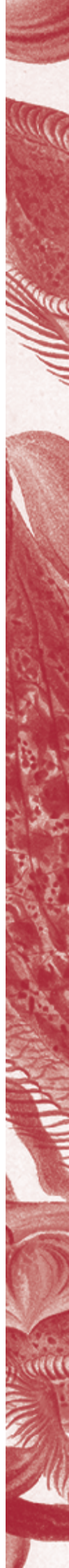
- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia

Tel. +39 06 5705 4812

Correo electrónico: ippc@fao.org | Web: www.ippc.int





Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

PROTOSCOLOS DE DIAGNÓSTICO

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 27

NIMF 27
ANEXO 13

ESP

PD 13: *Erwinia amylovora*

Producido por la Secretaría de la Convención Internacional
de Protección Fitosanitaria (CIPF)

NIMF 27

Protocolos de diagnóstico para plagas reglamentadas

PD 13: *Erwinia amylovora*

Adoptado en 2016; publicado en 2016

ÍNDICE

1.	Información sobre la plaga.....	3
2.	Información taxonómica	3
3.	Detección.....	3
3.1	Detección en plantas sintomáticas	4
3.1.1	Síntomas	4
3.1.2	Muestreo y preparación de las muestras	5
3.1.3	Aislamiento.....	5
3.1.3.1	Aislamiento a partir de muestras sintomáticas.....	5
3.1.3.2	Enriquecimiento-aislamiento	6
3.1.4	Detección serológica.....	7
3.1.4.1	DASI-ELISA con enriquecimiento.....	7
3.1.4.2	Inmunoimpresión directa-ELISA	7
3.1.4.3	Inmunofluorescencia.....	8
3.1.4.4	Inmunoensayo de flujo lateral.....	8
3.1.5	Detección molecular	8
3.1.5.1	Controles para las pruebas moleculares	9
3.1.5.2	Extracción de ADN.....	10
3.1.5.3	Amplificación de ADN mediante PCR.....	10
3.1.5.4	Consideraciones generales relativas a la PCR	12
3.1.5.5	PCR en tiempo real	12
3.1.5.6	Interpretación de los resultados de la PCR	14
3.1.5.7	Amplificación isotérmica mediada por asas (LAMP).....	14
3.2	Detección en plantas asintomáticas	15
3.2.1	Muestreo y preparación de las muestras	15
3.2.2	Pruebas de detección.....	16
4.	Identificación.....	16
4.1	Identificación nutricional y enzimática.....	17
4.1.1	Caracterización bioquímica	18
4.1.1.1	Perfil nutricional y enzimático.....	18
4.1.1.2	Identificación automatizada	18
4.1.1.3	Perfil de ácidos grasos	18
4.2	Identificación serológica.....	18

4.2.1	Aglutinación	18
4.2.2	Inmunofluorescencia.....	18
4.2.3	ELISA	19
4.2.4	Inmunoensayo de flujo lateral.....	19
4.3	Identificación molecular	19
4.3.1	PCR.....	19
4.3.2	Macro-restricción y electroforesis en gel de campo pulsante	19
4.4	Técnicas de patogenicidad	20
5.	Registros.....	20
6.	Puntos de contacto para información adicional.....	21
7.	Agradecimientos.....	21
8.	Referencias.....	21
9.	Figuras.....	25

1. Información sobre la plaga

Erwinia amylovora es el agente causal del fuego bacteriano, una enfermedad que afecta a la mayoría de las especies de la subfamilia *Maloideae* de la familia *Rosaceae* (*Spiraeoideae*). Fue la primera bacteria en ser descrita como agente causal de una enfermedad de las plantas (Burrill, 1883). Se considera que *E. amylovora* es nativa de América del Norte y fue detectada por primera vez fuera de esta región en Nueva Zelanda, en 1920. Se informó de la presencia de fuego bacteriano en Inglaterra en 1957 y desde entonces se ha detectado la bacteria en la mayoría de las áreas de Europa en las que se cultivan hospedantes vulnerables. Actualmente *E. amylovora* está presente en más de 40 países. No se ha registrado su presencia en América del Sur ni en la mayoría de los países de África y Asia (excepto en los países de la costa del mar Mediterráneo); en Australia, tras un informe que indicaba su presencia (van der Zwet, 2004), ha sido erradicada. Esta bacteria es una amenaza para el sector de los frutales de pepita (frutas pomáceas) de todos estos países (Bonn y van der Zwet, 2000). Hay información sobre su distribución geográfica en el sistema de recuperación de datos sobre cuarentena vegetal (EPPO, s. f.) de la Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas (OEPP, EPPO por sus siglas en inglés).

Las plantas hospedantes más importantes desde los puntos de vista económico y epidemiológico pertenecen a los géneros *Chaenomeles*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Cydonia*, *Eriobotrya*, *Malus*, *Mespilus*, *Pyracantha*, *Pyrus*, *Sorbus* y *Stranvaesia* (Bradbury, 1986). Las cepas de *E. amylovora* aisladas de *Rubus* sp. en los Estados Unidos son distintas de las cepas presentes en otros hospedantes (Starr *et al.*, 1951; Powney *et al.*, 2011b).

El fuego bacteriano es probablemente la más grave de las enfermedades bacterianas que afectan a cultivares de *Pyrus communis* (peral) y *Malus domestica* (manzano) en muchos países. Las epidemias son esporádicas y dependen de varios factores, como unas condiciones ambientales favorables, la presencia en la explotación de un nivel de inóculo suficiente y la sensibilidad del hospedante. La enfermedad se dispersa fácilmente, por los pájaros, los insectos, la lluvia o el viento (Thomson, 2000). Los síntomas del fuego bacteriano se desarrollan en consonancia con las etapas de desarrollo estacionales de la planta hospedante. La enfermedad comienza en primavera cuando las bacterias que hibernan en chancros (o canchros) (Thomson, 2000) producen el inóculo primario que infecta las flores, continúa en el verano con la infección de los brotes y los frutos, y termina en invierno con el desarrollo de chancros durante todo el periodo de reposo del hospedante (van der Zwet y Beer, 1995; Thomson, 2000).

2. Información taxonómica

Nombre:	<i>Erwinia amylovora</i> (Burrill, 1883) Winslow <i>et al.</i> , 1920
Sinónimos:	<i>Micrococcus amylovorus</i> Burrill, 1883, <i>Bacillus amylovorus</i> (Burrill, 1883) Trevisan, 1889, “ <i>Bacterium amylovorus</i> ” [sic] (Burrill, 1883) Chester, 1897, <i>Erwinia amylovora</i> f. sp. <i>rubi</i> (Starr <i>et al.</i> , 1951)
Posición taxonómica:	<i>Proteobacteria</i> , <i>Gammaproteobacteria</i> , <i>Enterobacteriales</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>
Nombre común:	Fuego bacteriano, tizón violento, fogón, tizón de fuego

3. Detección

El fuego bacteriano se puede diagnosticar mediante aislamiento y pruebas serológicas y moleculares. Se recomiendan los ensayos indicados a continuación, tras haber sido evaluados en al menos una de las siguientes pruebas interlaboratorios: un proyecto de protocolos de diagnóstico europeos de organismos nocivos para las plantas (DIAGPRO), en el que participaron 10 laboratorios, en 2003 (López *et al.*, 2006); un proyecto de coordinación de la investigación fitosanitaria europea (EUPHRESKO), en el que participaron cinco laboratorios, en 2009 (Dreo *et al.*, 2009), y una prueba realizada en 2010 por 14 laboratorios de todo el mundo (López *et al.*, 2010). Las pruebas indicadas en las figuras 1 y 2 son los requisitos mínimos para el diagnóstico, pero la organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF)

podrá solicitar pruebas adicionales, especialmente para el primer informe en un país. Por ejemplo, las pruebas serológicas podrán facilitar un diagnóstico presuntivo de material vegetal sintomático basado en la detección de una proteína determinada; sin embargo, debería realizarse para la detección otra prueba basada en un principio biológico diferente. Todas las pruebas deberán incluir controles positivos y negativos.

En este protocolo de diagnóstico, los métodos (con inclusión de las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en la publicación se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad y/o reproducibilidad adquirido. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

3.1 Detección en plantas sintomáticas

Las pruebas de detección recomendadas se indican en el diagrama de flujo de la Figura 1.

3.1.1 Síntomas

Los síntomas del fuego bacteriano en los hospedantes más frecuentes, como *P. communis* (peral), *M. domestica* (manzano), *Cydonia* spp. (membrillero), *Eriobotrya japonica* (níspero del Japón), *Cotoneaster* spp. (cotoneaster), *Pyracantha* spp. (espino de fuego) y *Crataegus* spp. (espino albar o blanco, majuelo), son similares y fáciles de reconocer. El nombre de la enfermedad hace referencia a su principal característica: el aspecto parduzco y necrótico de ramillas, flores y hojas, como si hubieran sido quemadas con fuego. Los síntomas típicos son el color entre pardo (marrón) y negro de las hojas de las ramas afectadas, la producción de exudado y el característico curvado en “cayado de pastor” de los brotes terminales. Según la parte de la planta afectada, la enfermedad produce necrosis de las flores, los brotes o ramillas, las hojas, los frutos, las ramas o el tronco, o el cuello de la raíz o del patrón (van der Zwet y Keil, 1979; van der Zwet y Beer, 1995).

En manzanos y perales, los primeros síntomas suelen aparecer al principio de la primavera cuando la temperatura media supera los 15 °C en condiciones húmedas. Las flores infectadas presentan un aspecto húmedo, posteriormente se marchitan, se secan y adquieren un color naranja o entre pardo y negro. Los pedúnculos también podrán tener un aspecto húmedo y adquirir un color verde oscuro y, en último término, pardo o negro, y a veces rezuman pequeñas gotas de un exudado bacteriano pegajoso. Las hojas infectadas se marchitan y se secan, y los espolones afectados se vuelven enteros de color pardo en manzanos, y entre pardo oscuro y negro en perales, pero permanecen en el árbol durante un tiempo. Tras la infección, los frutos inmaduros se vuelven pardos, pero también permanecen en el árbol. Las lesiones de los frutos inmaduros presentan un aspecto aceitoso o húmedo, adquieren un color pardo o negro y a menudo rezuman pequeñas gotas de exudado bacteriano. Con frecuencia se observan unas características manchas de color pardo-rojizo en los tejidos subcorticales cuando se levanta la corteza de ramas o ramillas infectadas (van der Zwet y Keil, 1979; Thomson, 2000). En la corteza de las ramillas, las ramas o el tronco se forman chancros ligeramente deprimidos de color pardo a negro. Más adelante, estos chancros quedan definidos por grietas localizadas cerca del borde que separa el tejido afectado y el sano (Thomson, 2000).

Los síntomas del fuego bacteriano se podrán confundir con síntomas similares al tizón o de tipo necrótico, sobre todo en flores y yemas, causados por otras bacterias y hongos patógenos, por la actividad de insectos o por alteraciones fisiológicas. Otras bacterias que causan síntomas semejantes a los del fuego bacteriano son *Erwinia pyrifoliae*, el agente causal de la necrosis bacteriana de los brotes de *Pyrus pyrifolia* (peral japonés, asiático o nashi) (Kim *et al.*, 1999); *Erwinia piriflorinigra*, aislada de flores necróticas de peral en España (López *et al.*, 2011); *Erwinia uzensis*, descrita recientemente en Japón (Matsuura *et al.*, 2012); otras *Erwinia* spp. que, según se ha informado, causan necrosis bacteriana de los brotes en Japón (Tanii *et al.*, 1981; Kim *et al.*, 2001a, 2001b; Palacio-Bielsa *et al.*, 2012), y *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, agente causal de la necrosis bacteriana de frutales de pepita. Siempre debería obtenerse un diagnóstico definitivo del fuego bacteriano mediante análisis de laboratorio.

3.1.2 Muestreo y preparación de las muestras

El material vegetal debería analizarse lo antes posible después de su obtención, pero podrá almacenarse a una temperatura de 4–8 °C durante una semana como máximo hasta su tratamiento. Deberían adoptarse precauciones para evitar la contaminación cruzada al recoger las muestras, durante su transporte y tratamiento, y especialmente al aislar la bacteria o extraer el ADN.

Las muestras se deberían procesar siguiendo un procedimiento general válido para el aislamiento, las pruebas serológicas y el análisis mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Para un enriquecimiento eficaz, debe utilizarse una solución tampón de maceración antioxidante recién elaborada (20 g de polivinilpirrolidona [PVP]-10, 10 g de manitol, 1,76 g de ácido ascórbico, 3 g de glutatión reducido y 1 litro de solución salina con tampón fosfato [PBS, por sus siglas en inglés] 10 mM, pH 7,2 esterilizada por filtración), según se indica en Gorris *et al.* (1996). Las muestras también se pueden procesar en agua destilada estéril o en PBS de pH 7,2 (8 g de NaCl, 0,2 g de KCl, 2,9 g de Na₂HPO₄·12H₂O, 0,2 g de KH₂PO₄ y 1 litro de agua destilada) excepto las destinadas a aislamiento directo, inmunofluorescencia o PCR.

Se seleccionan cuidadosamente partes de la planta (flores, brotes, ramillas, hojas o frutos) que presenten los síntomas más típicos y que tengan exudado bacteriano si es posible. Se selecciona para el procesamiento material del frente de avance de las lesiones de la enfermedad. El tejido vegetal se corta en trozos de aproximadamente 0,1–1,0 g, se machaca suavemente en el tampón de maceración antioxidante, PBS o agua destilada estéril (según se describe en el párrafo anterior) al 1:50 (p/v), se deja reposar durante al menos 5 min, y se pone en hielo durante unos minutos. Se transfieren tres muestras de cada macerado a sendos tubos de microcentrifuga estériles: uno de los tubos se almacena a –20 °C para su posterior análisis mediante PCR; en otro de los tubos se añade glicerol hasta un contenido del 30 % y se almacena a –80 °C para usarlo en una prueba de confirmación en caso necesario. El tercer tubo se conserva en hielo para llevar a cabo el enriquecimiento antes del ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) o de la PCR, y el aislamiento en medios selectivos (Figura 1). Si se va a realizar un análisis mediante inmunofluorescencia (optativo), los portaobjetos se preparan y se fijan el mismo día en que se maceran las muestras. El análisis mediante PCR debería realizarse tan pronto como sea práctico con la muestra macerada almacenada a –20 °C.

3.1.3 Aislamiento

3.1.3.1 Aislamiento a partir de muestras sintomáticas

En general, se recomienda sembrar en tres medios de cultivo para que la probabilidad de recuperación de *E. amylovora* sea máxima, especialmente cuando las muestras no estén en buenas condiciones. La mayor o menor eficiencia de los distintos medios de cultivo dependerá de la cantidad y la composición de la microbiota de la muestra. De los tres medios validados en dos pruebas interlaboratorios (CCT, B de King y levano), el levano es el que tiene mayor eficiencia de plaqueo.

Cuando los síntomas están muy avanzados o las condiciones ambientales tras la infección no son favorables para la multiplicación de las bacterias, el número de células de *E. amylovora* cultivables puede ser muy bajo. En estas condiciones, el aislamiento puede dar lugar a placas con pocas células del patógeno y que pueden estar saturadas con bacterias saprófitas y antagonistas. Si se sospecha esta circunstancia, debería repetirse el cultivo, posiblemente con enriquecimiento de la muestra antes del aislamiento. Se ha descrito (Ordax *et al.*, 2009) la inducción, mediante tratamientos de frutos con cobre, del estado viable pero no cultivable (VNC), con carácter reversible, en *E. amylovora in vitro*. Este estado puede ser la causa de falsos negativos en el aislamiento. A continuación se describe la preparación de los medios recomendados:

- El medio CCT se prepara en dos partes. La Parte 1 contiene 100 g de sacarosa, 10 g de sorbitol, 1,2 ml de Niaproof 4, 2 ml de cristal violeta (con etanol al 0,1 % como disolvente), 23 g de agar nutritivo y 1 litro de agua destilada, pH 7,0–7,2. El medio se esteriliza en autoclave a 115 °C durante 10 min y se enfría hasta aproximadamente 45 °C. La Parte 2 contiene 2 ml de nitrato de talio (solución acuosa al 1 % p/v) y 0,05 g de cicloheximida; se esteriliza por filtración. La Parte 2 se añade a 1 litro de la Parte 1 estéril (Ishimaru y Klos, 1984).

- El medio B de King contiene 20 g de peptona proteosa n.º 3, 10 ml de glicerol, 1,5 g de K_2HPO_4 , 1,5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 15 g de agar y 1 litro de agua destilada, pH 7,0–7,2; se esteriliza en autoclave a 120 °C durante 20 min (King *et al.*, 1954).
- El medio de levano contiene 2 g de extracto de levadura, 5 g de bacto-peptona, 5 g de NaCl, 50 g de sacarosa, 20 g de agar y 1 litro de agua destilada, pH 7,0–7,2; se esteriliza en autoclave a 120 °C durante 20 min.

Cuando se prevé la presencia de hongos en el aislamiento, se añaden 0,05 g/litro de cicloheximida a los medios B de King y levano. Se preparan diluciones a 1:10 y 1:100 de cada macerado en PBS (8 g de NaCl, 0,2 g de KCl, 2,9 g de $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, 0,2 g de KH_2PO_4 y 1 litro de agua destilada).

Preferentemente se siembran 100 µl de los macerados y sus diluciones en estrías, por triplicado, en placas de 130 mm, o se siembran 50 µl en placas de Petri estándar de 90 mm. Las placas se incuban a 25 °C durante un máximo de 4 días. La lectura final se suele hacer a las 72 h. En el medio CCT las colonias de *E. amylovora* son de color violeta pálido, circulares, entre marcadamente convexas y abombadas, de superficie lisa y aspecto mucoide, y crecen más despacio que en el medio B de King o en el de levano. En el medio B de King las colonias son de color blanco crema, circulares y no fluorescentes bajo luz ultravioleta (UV) de 366 nm. En el medio de levano las colonias son blancas, circulares, abombadas y presentan superficie lisa y aspecto mucoide. Se ha informado de la existencia de cepas de *E. amylovora* que no producen colonias en levano (Bereswill *et al.*, 1997).

A partir de las colonias individuales sospechosas de cada muestra se obtienen cultivos puros mediante dilución y siembra en estrías en medio B de King. La identificación de presuntas colonias de *E. amylovora* se hace preferentemente mediante ensayo indirecto de inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos (DASI-ELISA), PCR u otras pruebas adecuadas (p. ej., pruebas bioquímicas, de inmunofluorescencia, de perfil de ácidos grasos), o inoculando órganos sensibles de cualquier hospedante de *E. amylovora* disponible para probar su patogenicidad, como se indica en la Sección 4.

Cuando se analizan muestras sintomáticas, se prevé una buena correlación entre el aislamiento, la inmunofluorescencia, el enriquecimiento-DASI-ELISA (Sección 3.1.4.1) y la PCR.

La exactitud del aislamiento determinada en las pruebas interlaboratorios de 2003 y 2010 fue, respectivamente, de 0,88 y 0,81 para el medio B de King; 0,92 y 0,89 para el de levano, y 0,92 y 0,95 para el CCT (López *et al.*, 2006; M.M. López, comunicación personal, 2012). En la prueba interlaboratorios de 2009, se determinó una exactitud del aislamiento en medio CCT de 0,96 (Dreo *et al.*, 2009).

3.1.3.2 Enriquecimiento-aislamiento

El enriquecimiento se usa para multiplicar la población inicial de *E. amylovora* cultivable de una muestra antes de realizar las pruebas de enriquecimiento-DASI-ELISA o enriquecimiento-PCR. Debería realizarse, antes del aislamiento (incluso en muestras sintomáticas), cuando se prevea un escaso número de células cultivables de *E. amylovora* (p. ej., en muestras tratadas con cobre, muestras con síntomas de infecciones antiguas o muestras recogidas en condiciones meteorológicas desfavorables para el fuego bacteriano, como las propias del invierno). La fase de enriquecimiento aumenta en gran medida la sensibilidad del ensayo DASI-ELISA. Se recomienda el uso de dos medios líquidos validados para el enriquecimiento: uno no selectivo (B de King) y uno semiselectivo (CCT), puesto que se desconoce la composición y población de la microbiota.

La muestra de tejido se macera como se describe en la Sección 3.1.2 y se dispensan inmediatamente 0,9 ml en sendos tubos estériles de 10–15 ml (para garantizar que hay suficiente aireación) que contienen 0,9 ml de cada medio de enriquecimiento líquido (B de King sin agar y CCT preparado con caldo nutritivo en lugar de agar nutritivo). Los tubos se incuban a 25 °C durante 48–72 h sin agitación. Cuando se procesen muestras recogidas en invierno, se recomienda incubarlas durante más tiempo. Tanto los caldos de enriquecimiento como las diluciones (1:10 y 1:100) preparadas en PBS se siembran en estrías sobre placas de CCT, por triplicado, para obtener colonias aisladas. Las placas se incuban a 25 °C durante 72–96 h. La lectura final de las placas de CCT se realiza a las 72 h y a continuación debe realizarse la purificación e identificación de las colonias.

Para la siembra en placas y para la dilución se recomienda usar un medio semiselectivo porque la fase de enriquecimiento permitirá el crecimiento del patógeno, pero también la proliferación de otras bacterias. En la prueba interlaboratorios de 2010 se determinó una exactitud del aislamiento con enriquecimiento en B de King y CCT de 0,97.

3.1.4 Detección serológica

3.1.4.1 DASI-ELISA con enriquecimiento

Se ha validado en dos pruebas interlaboratorios un equipo (kit) para enriquecimiento DASI-ELISA comercializado por Plant Print Diagnostics SL¹. Se basa en la mezcla de dos anticuerpos monoclonales específicos descritos en Gorris *et al.* (1996) y requiere el enriquecimiento previo de las muestras según el procedimiento antes descrito. Para obtener la máxima exactitud, debe seguirse rigurosamente el siguiente protocolo. Antes del ELISA, se incuba en un baño María a 100 °C durante 10 min la cantidad pertinente de los controles y los extractos enriquecidos. Este tratamiento es necesario para obtener una especificidad óptima. Las muestras hervidas se procesan (a temperatura ambiente) mediante ELISA el mismo día (o se almacenan a -20 °C para su análisis posterior) siguiendo las instrucciones suministradas por el fabricante del equipo comercial.

El ELISA es negativo si la lectura media de la densidad óptica (DO) de los pocillos de la muestra analizada por duplicado es $<2\times$ la DO de los pocillos del control negativo de extracción de la muestra (siempre que la DO de los pocillos del control positivo sea superior a 1,0 tras 90 min de incubación y mayor que el doble de la DO obtenida para los extractos negativos de las muestras). El ELISA es positivo si la lectura media de la DO de los pocillos de la muestra analizada por duplicado es $>2\times$ la DO de los pocillos del control negativo de extracción de la muestra (siempre que la DO de todos los pocillos del control negativo sea menor de $2\times$ la lectura media de la DO de los pocillos del control positivo).

Las lecturas negativas del ELISA para los pocillos de los controles positivos indican que la prueba no se ha realizado correctamente o que la preparación de los reactivos no ha sido correcta, o ambas cosas. Las lecturas positivas del ELISA para los pocillos de los controles negativos indican que se ha producido contaminación cruzada o una fijación inespecífica de los anticuerpos. En ambos casos la prueba debería repetirse o debería realizarse una segunda prueba basada en un principio biológico diferente, como la PCR.

En las pruebas interlaboratorios de 2003 y 2010 se determinaron valores de la exactitud del DASI-ELISA de 0,79 y 0,82, respectivamente, para el enriquecimiento en medio B de King (B de King-DASI-ELISA), y de 0,83 y 0,77, respectivamente, para el enriquecimiento en medio CCT (CCT-DASI-ELISA) (López *et al.*, 2006, 2010).

3.1.4.2 Inmunoimpresión directa-ELISA

Para hacer impresiones de tejidos, se presionan con cuidado secciones de la planta recién cortadas contra una membrana de nitrocelulosa. Se preparan impresiones para los controles positivo y negativo. Las membranas con las impresiones se pueden conservar durante varios meses en un lugar oscuro a temperatura ambiente. Se debería usar una fuente validada de anticuerpos de *E. amylovora* como el equipo de Plant Print Diagnostics SL¹. Para revelar las impresiones se deberían seguir las instrucciones del fabricante. Las impresiones se examinan con una lupa de baja potencia ($\times 10$ o $\times 20$). La prueba es positiva cuando aparecen precipitados de color violeta-púrpura en las secciones de tejido vegetal impresas sobre la membrana y no en la impresión de tejido vegetal del control negativo. Las impresiones, en su caso, de exudados o colonias deberían presentar color violeta si son positivas. La prueba es negativa cuando no aparecen precipitados de color violeta-púrpura, como en el control negativo.

¹ En este protocolo de diagnóstico, los métodos (con inclusión de las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en la publicación se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad y/o reproducibilidad adquirido. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

3.1.4.3 Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia se recomienda como método serológico alternativo y el protocolo estándar es fácil de seguir (Anónimo, 1998). Debería usarse una fuente validada de anticuerpos de *E. amylovora*. En una prueba interlaboratorios se han validado dos anticuerpos comerciales: un anticuerpo monoclonal comercializado por Plant Print Diagnostics SL¹ y un anticuerpo policlonal comercializado por Loewe Biochemicals¹.

La inmunofluorescencia debería realizarse con extractos de muestras frescas fijados en portaobjetos. Las cavidades de los portaobjetos de inmunofluorescencia se manchan con macerados sin diluir y con diluciones 1:10 y 1:100 en PBS. El anticuerpo monoclonal o policlonal se diluye en PBS a la concentración adecuada. Se diluye en PBS el conjugado de isotiocianato de fluoresceína (FITC, por sus siglas en inglés) adecuado: con anticuerpos caprinos antimurinos (GAM-FITC) en el caso de los anticuerpos monoclonales, y con anticuerpos caprinos anticonejo (GAR-FITC) o anticaprinos en el caso de los anticuerpos policlonales.

La prueba de una muestra es negativa si se observan células fluorescentes verdes con la morfología típica de *E. amylovora* en los controles positivos, pero no en las cavidades de la muestra. La prueba de una muestra es positiva si se observan células fluorescentes verdes con la morfología típica en los controles positivos y en las cavidades de la muestra, pero no en los controles negativos. Puesto que se considera que el límite de detección fidedigna mediante inmunofluorescencia es una población de 10^3 células/ml, en las muestras con $>10^3$ células/ml, la prueba de inmunofluorescencia se considera positiva. En el caso de las muestras con $<10^3$ células/ml o con células débilmente fluorescentes, el resultado de la prueba de inmunofluorescencia puede considerarse incierto.

En la prueba interlaboratorios de 2003 se determinó una exactitud de la inmunofluorescencia de 0,70 para el anticuerpo monoclonal de Plant Print Diagnostics SL¹ y de 0,72 para los anticuerpos policlonales de Loewe Biochemicals¹, lo que confirma que la sensibilidad de la técnica es de aproximadamente 10^3 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml.

3.1.4.4 Inmunoensayo de flujo lateral

Se comercializan dos dispositivos de flujo lateral para el análisis rápido de material vegetal: Ea AgriStrip (Bioreba¹) y Pocket Diagnostics (Forsite Diagnostics¹). En las pruebas interlaboratorios de 2009 y de 2010, realizadas siguiendo las instrucciones de los fabricantes, se determinaron exactitudes de 0,66 y 0,55, respectivamente, para Ea AgriStrip¹ y de 0,64 y 0,56, respectivamente, para Pocket Diagnostics¹. Estos fueron los resultados obtenidos para la detección de *E. amylovora* en muestras de 1 a 10^6 ufc/g, pero la exactitud fue de aproximadamente 1,0 cuando se analizaron muestras con entre 10^5 y 10^6 ufc/g, el número mínimo esperado en muestras sintomáticas (López *et al.*, 2010). Se recomienda usar estos equipos solo con muestras sintomáticas.

3.1.5 Detección molecular

Varios laboratorios evaluaron exhaustivamente, en una prueba interlaboratorios, distintos métodos de PCR y un protocolo de amplificación isotérmica mediada por asas (LAMP, del inglés *loop-mediated isothermal amplification*)², disponibles para la detección de *E. amylovora* (López *et al.*, 2010; M.M. López, comunicación personal, 2012). Powney *et al.* (2011a) han evaluado la especificidad de algunos de estos métodos. Los métodos convencionales de PCR podrán ser más costosos y consumir mucho tiempo y suelen requerir más formación que los métodos serológicos. Por estas razones, y por el riesgo de contaminación, no siempre son adecuados para la realización de pruebas a gran escala. Sin embargo, la PCR en tiempo real y algunos protocolos de PCR convencional y de PCR anidada en un

² Cuando se usa de forma regular la amplificación de tipo LAMP en un área que cuenta con un sistema de patentes como el Japón (patentes 3 313 358, 3 974 441 y 4 139 424), los Estados Unidos (US6 410 278, US6 974 670 y US7 494 790), la Unión Europea (1 020 534, 1 873 260, 2 045 337 y 2 287 338), China (ZL008818262), la República de Corea (10-0612551), Australia (779160) y la Federación de Rusia (2 252 964), los usuarios deben obtener una licencia de Eiken Chemical Co., Ltd antes de usar el método, para proteger el derecho de propiedad intelectual.

único tubo han dado resultados de gran exactitud y, por lo tanto, son métodos moleculares recomendados. Todos los ensayos de PCR deberían realizarse con ADN extraído de las muestras, debido a la gran cantidad de inhibidores de *E. amylovora* de los hospedantes, o a partir de muestras enriquecidas, en las que la detección es más fiable.

3.1.5.1 Controles para las pruebas moleculares

Para considerar fidedigno el resultado de las pruebas, en cada serie de aislamiento de ácidos nucleicos y de amplificación del ácido nucleico diana se deberían tener en cuenta los controles adecuados, que dependerán del tipo de prueba utilizada y del grado de certidumbre necesario. Para la PCR, deberían utilizarse, como mínimo, un control positivo de ácido nucleico, un control interno y un control negativo de amplificación (control sin molde).

Control positivo de ácido nucleico

Este control se utiliza para determinar la eficiencia del método de prueba (aparte de la extracción) y, específicamente, de la amplificación. Se podrá utilizar ácido nucleico previamente preparado (almacenado), el ADN genómico completo amplificado o un control sintético (p. ej., un producto de PCR clonado).

Control interno

Para la PCR convencional y en tiempo real, deberían incorporarse al protocolo controles internos de la planta, p. ej. un gen de mantenimiento, como el COX (Weller *et al.*, 2000) o ADNr (ribosómico) 16S (Weisberg *et al.*, 1991), a fin de descartar la posibilidad de falsos negativos de la PCR debido a deficiencias en la extracción del ácido nucleico o a su degradación, o a la presencia de inhibidores de la PCR.

Control negativo de amplificación (control sin molde)

Este control es necesario para la PCR convencional y en tiempo real a fin de descartar falsos positivos por contaminación durante la preparación de la mezcla de reacción. En la fase de amplificación se añade el agua de calidad apta para PCR que se utilizó para preparar la mezcla de reacción.

Control positivo de extracción

Este control se utiliza para velar por que el ácido nucleico del objetivo se haya extraído en una cantidad y con una calidad suficientes y que el objetivo se detecte. El ácido nucleico se extrae de tejido infectado del hospedante o de tejido vegetal sano al que se ha añadido una concentración del objetivo.

En el control positivo debería utilizarse aproximadamente una décima parte de la cantidad de tejido foliar utilizada por planta para la extracción de ADN.

Para la PCR, deben adoptarse precauciones para evitar la contaminación cruzada por aerosoles procedentes del control positivo o de las muestras positivas. De ser necesario, el control positivo empleado en el laboratorio debería secuenciarse a fin de que esta secuencia se pueda comparar fácilmente con la secuencia obtenida de los amplicones de la PCR del tamaño correcto. Otra opción es elaborar controles positivos sintéticos que contengan una secuencia conocida que, de nuevo, se puede comparar con los amplicones de la PCR del tamaño correcto.

Control negativo de extracción

Este control se utiliza para controlar la contaminación durante la extracción del ácido nucleico y la reacción cruzada con el tejido hospedante. El control comprende ácido nucleico extraído de tejido no infectado del hospedante y posteriormente amplificado. Cuando se analicen muchas muestras positivas se recomienda utilizar varios controles.

3.1.5.2 Extracción de ADN

En la prueba interlaboratorios de 2009 (Dreo *et al.*, 2009) se evaluaron tres métodos de extracción de ADN: Llop *et al.* (1999), Taylor *et al.* (2001) y REDEExtract-N-Amp Plant PCR Kit (Sigma-Aldrich¹), con cuatro protocolos de PCR con exactitudes de entre 0,67 y 0,76. En la prueba interlaboratorios de 2010 (López *et al.*, 2010) los diferentes métodos de PCR mostraron resultados comparables en cuanto a las exactitudes obtenidas, como se indica a continuación. Sus eficiencias no mejoraron tras diluir los extractos en una proporción de 1:10, lo que sugiere que la presencia de inhibidores era escasa o nula. Basándose en estos resultados, se recomienda el método de extracción de Llop *et al.* (1999), ya que se ha sometido a pruebas exhaustivas en varios países y es barato y fácil de realizar en el laboratorio.

Extracción de ADN según Llop et al. (1999)

Se centrifuga, a 10 000 g durante 5 min a temperatura ambiente, un mililitro de una muestra macerada preparada según lo indicado en la Sección 3.1.2 y/o 1 ml de macerado enriquecido. El sobrenadante se desecha, y el sedimento se resuspende en 500 µl de tampón de extracción (24,2 g de tris-HCl, pH 7,5; 14,6 g de NaCl; 9,3 g de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); 5 g de dodecilsulfato sódico (SDS); 20 g de PVP-10 y 1 litro de agua destilada; esterilizado por filtración) y se incuba durante 1 h a temperatura ambiente antes de centrifugarlo a 4 000 g durante 5 min. Se mezclan aproximadamente 450 µl de sobrenadante con un volumen igual de isopropanol, se pone en posición invertida y se deja a temperatura ambiente entre 30 min y 1 h. El ácido nucleico precipitado se centrifuga a 10 000 g durante 5 min, el sobrenadante se desecha y el sedimento se seca con aire. Si aún queda un precipitado coloreado (pardo o verde) en el fondo del tubo, se retira con cuidado al tiempo que se desecha el sobrenadante, obteniéndose así un sedimento de ADN más limpio. El sedimento se resuspende en 200 µl de agua. Debería usarse para la PCR inmediatamente o almacenarse a -20 °C.

3.1.5.3 Amplificación de ADN mediante PCR

Hay muchos protocolos y cebadores de PCR descritos para la detección de *E. amylovora* y algunos han dado problemas de especificidad (Roselló *et al.*, 2006; Powney *et al.*, 2011a). Se validaron en pruebas interlaboratorios los cebadores y protocolos de Bereswill *et al.* (1992) y Llop *et al.* (2000), con o sin enriquecimiento previo, en 2003, y los de Taylor *et al.* (2001), Stöger *et al.* (2006) y Obradovic *et al.* (2007) en 2009 y 2010. El descubrimiento de cepas de *E. amylovora* totalmente virulentas sin el plásmido pEA29 (Llop *et al.*, 2006) y las experiencias de distintos países (Powney *et al.*, 2011a) indican que deberían usarse dos protocolos de PCR: uno con cebadores basados en secuencias de pEA29, y otro con cebadores que actúan sobre secuencias cromosómicas únicas. Si la PCR es negativa con el protocolo basado en los cebadores de pEA29 y positiva con el protocolo basado en cebadores cromosómicos, la prueba de PCR puede considerarse positiva para *E. amylovora*. La PCR puede llevarse a cabo usando los cebadores y condiciones validados en las pruebas interlaboratorios, aunque las condiciones de amplificación deberían optimizarse para diferentes termocicladores.

PCR según Bereswill et al. (1992)

Los cebadores son:

A (directo): 5'-CGG TTT TTA ACG CTG GG-3'

B (inverso): 5'-GGG CAA ATA CTC GGA TT-3'

Las secuencias amplificadas están en el plásmido pEA29. La mezcla de la PCR está compuesta por 17,4 µl de agua ultrapura, 2,5 µl de tampón 10×, 1,5 µl de MgCl₂ 50 mM, 0,5 µl de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP) 10 mM, 0,25 µl del cebador A 10 pmol/µl, 0,25 µl del cebador B 10 pmol/µl y 0,1 µl de polimerasa de ADN Taq 5 U/µl. El volumen de muestra de ADN extraído es de 2,5 µl, y debería añadirse a 22,5 µl de la mezcla de la PCR. Los parámetros de ciclado son: una fase de desnaturalización de 5 min a 93 °C seguida de 40 ciclos de 30 s a 93 °C, 30 s a 52 °C y 1 min 15 s a 72 °C, con una fase de extensión final de 10 min a 72 °C. El tamaño del amplicón es de 900 pares de bases (pb), según Bereswill *et al.* (1992), aunque el tamaño puede variar entre 900 y 1 100 pb dependiendo del número de repeticiones de 8 pb presentes en el fragmento amplificado (Jones y Geider, 2001).

En la prueba interlaboratorios de 2003 se determinó una exactitud de 0,51 pero aumentó hasta 0,74 y 0,78 tras el enriquecimiento de las muestras en los medios B de King y CCT, respectivamente (López *et al.*, 2006).

PCR según Taylor *et al.* (2001)

Los cebadores son:

G1-F: 5'-CCT GCA TAA ATC ACC GCT GAC AGC TCA ATG-3'

G2-R: 5'-GCT ACC ACT GAT CGC TCG AAT CAA ATC GGC-3'

Las secuencias amplificadas son cromosómicas. La mezcla de la PCR está compuesta por 14,3 µl de agua ultrapura, 2,5 µl de tampón 10×, 0,75 µl de MgCl₂ 50 mM, 0,25 µl de dNTP 10 mM, 1 µl de G1-F 10 pmol/µl, 1 µl de G2-R 10 pmol/µl y 0,2 µl de polimerasa de ADN Taq 5 U/µl. Se añade una muestra de 5 µl del ADN extraído a 45 µl de la mezcla de la PCR. Los parámetros de ciclado son: 3 min a 95 °C seguidos de 40 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s a 60 °C y 1 min a 72 °C, con una fase de extensión final de 5 min a 72 °C y enfriamiento a 15 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 187 pb.

En la prueba interlaboratorios de 2010 con el procedimiento de extracción de ADN de Llop *et al.* (1999) se determinó una exactitud de 0,77.

PCR según Stöger *et al.* (2006)

Los cebadores (de Llop *et al.*, 2000) son:

PEANT1-F: 5'-TAT CCC TAA AAA CCT CAG TGC-3'

PEANT2-R: 5'-GCA ACC TTG TGC CCT TTA-3'

Las secuencias amplificadas están en el plásmido pEA29. Stöger *et al.* (2006) recomendaron usar este método con ADN extraído con el REDEExtract-N-Amp Plant PCR Kit (Sigma-Aldrich¹). La mezcla de la PCR está compuesta por 5 µl de agua ultrapura, 10 µl de REDEExtract-N-Amp PCR ReadyMix (Sigma-Aldrich¹), 0,5 µl de PEANT1-F 10 pmol/µl, 0,5 µl de PEANT2-R 10 pmol/µl y 4 µl del ADN extraído. Los parámetros de ciclado son: 5 min a 95 °C seguidos de 35 ciclos de 15 s a 95 °C, 30 s a 58 °C y 45 s a 72 °C, con una fase de extensión final de 5 min a 72 °C y enfriamiento a 15 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 391 pb.

En la prueba interlaboratorios del 2009 se determinó una exactitud de 0,76, y de 0,72 en la prueba interlaboratorios de 2010 con el equipo de extracción de ADN recomendado.

PCR según Gottsberger (2010), adaptado de Obradovic *et al.* (2007)

Los cebadores son:

FER1-F: 5'-AGC AGC AAT TAA TGG CAA GTA TAG TCA-3'

rgER2-R: 5'-AAA AGA GAC ATC TGG ATT CAG ACA AT-3'

Las secuencias amplificadas son cromosómicas. La mezcla de la PCR está compuesta por 14,3 µl de agua ultrapura, 2,5 µl de tampón 10×, 0,75 µl de MgCl₂ 50 mM, 0,25 µl de dNTP 10 mM, 1 µl de FER1-F 10 pmol/µl, 1 µl de rgER2-R 10 pmol/µl, 0,2 µl de polimerasa de ADN Taq 5 U/µl y 5 µl del ADN extraído. Los parámetros de ciclado son: 3 min a 94 °C seguidos de 41 ciclos de 10 s a 94 °C, 10 s a 60 °C y 30 s a 72 °C, con una fase de extensión final de 5 min a 72 °C y enfriamiento a 15 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 458 pb.

En la prueba interlaboratorios de 2009 se determinó una exactitud de 0,76, y de 0,68 en la prueba interlaboratorios de 2010 con el método de extracción de ADN descrito por Llop *et al.* (1999).

PCR anidada según Llop et al. (2000)

En la PCR anidada de Llop *et al.* (2000) se usan dos pares de cebadores, que se combinan en un solo tubo de reacción. Como las temperaturas de anillamiento de los cebadores son diferentes, las dos PCR se realizan consecutivamente. Los cebadores externos son los diseñados por McManus y Jones (1995) y se basan en secuencias del plásmido pEA29. Los cebadores internos son los descritos por Llop *et al.* (2000).

Los cebadores externos son:

AJ75-F: 5'-CGT ATT CAC GGC TTC GCA GAT-3'

AJ76-R: 5'-ACC CGC CAG GAT AGT CGC ATA-3'

Los cebadores internos son:

PEANT1-F: 5'-TAT CCC TAA AAA CCT CAG TGC-3'

PEANT2-R: 5'-GCA ACC TTG TGC CCT TTA-3'

La mezcla de la PCR está compuesta por 36,25 µl de agua ultrapura, 5 µl de tampón 10×, 3 µl de MgCl₂ 50 mM, 0,5 µl de dNTP 10 mM, 0,32 µl de AJ75-F 0,1 pmol/µl, 0,32 µl de AJ76-R 0,1 pmol/µl, 1 µl de PEANT1-F 10 pmol/µl, 1 µl de PEANT2-R 10 pmol/µl y 0,6 µl de polimerasa de ADN Taq 5 U/µl. Debería añadirse un volumen de la muestra de ADN de 2 µl a 48 µl de la mezcla de la PCR. Los parámetros de ciclado son: una fase de desnaturalización de 4 min a 94 °C seguida de 25 ciclos de 60 s a 94 °C y 90 s a 72 °C. Tras esta primera ronda de PCR, se realiza, en el mismo termociclador, una segunda fase de desnaturalización de 4 min a 94 °C y 40 ciclos de 60 s a 94 °C, 60 s a 56 °C y 60 s a 72 °C con una fase de extensión final de 10 min a 72 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 391 pb, aunque pueden darse variaciones en el tamaño.

En las pruebas interlaboratorios de 2003 y 2010 se determinaron exactitudes de 0,69 y 0,72, respectivamente, pero la exactitud aumentó a 0,84 tras el enriquecimiento en medio B de King y a 0,86 tras el enriquecimiento en medio CCT en la prueba interlaboratorios de 2003, y a 0,79 (B de King) y 0,88 (CCT) en la prueba interlaboratorios de 2010.

3.1.5.4 Consideraciones generales relativas a la PCR

Podrá ser necesario modificar (optimizar) los protocolos de PCR cuando se usen reactivos o termocicladores diferentes.

Tras la amplificación mediante PCR la presencia de *E. amylovora* puede confirmarse secuenciando los productos de la PCR o mediante el análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés). El patrón de restricción observado en los amplicones obtenidos con los cebadores de Bereswill *et al.* (1992) o con la PCR anidada de Llop *et al.* (2000) puede usarse para confirmar la especificidad del análisis mediante PCR comparándolo con el patrón de restricción de una cepa de control conocida. La digestión de restricción debería realizarse con las endonucleasas DraI y SmaI.

El análisis de una muestra es negativo si no se detecta el amplicón específico de *E. amylovora* del tamaño esperado (ni el patrón de la enzima de restricción o la secuencia del amplicón, cuando proceda) en la muestra en cuestión, pero sí en todos los controles positivos. El análisis de una muestra es positivo si se detecta el amplicón específico de *E. amylovora* del tamaño esperado, siempre que no haya amplificación en ninguno de los controles negativos y el patrón de la enzima de restricción o la secuencia del amplicón (cuando proceda) sean indicativos de *E. amylovora*.

3.1.5.5 PCR en tiempo real

Basándose en una evaluación de protocolos de PCR en tiempo real realizada en pruebas interlaboratorios en 2009 y 2010 (Dreo *et al.*, 2009; López *et al.*, 2010), se recomendó el protocolo descrito por Pirc *et al.* (2009), en el que se amplifican secuencias cromosómicas. También se dispone de una PCR en tiempo real dúplex basada en secuencias cromosómicas, pero no se ha analizado en pruebas interlaboratorios (Lehman *et al.*, 2008).

PCR en tiempo real según Pirc et al. (2009)

Se usan los siguientes oligonucleótidos:

Cebador Ams116F: 5'-TCC CAC ATA CTG TGA ATC ATC CA-3'

Cebador Ams189R: 5'-GGG TAT TTG CGC TAA TTT TAT TCG-3'

Sonda Ams141T: FAM-CCA GAA TCT GGC CCG CGT ATA CCG-TAMRA

La reacción se produce en un volumen final de 25 μ l. La mezcla de la PCR está compuesta por 2,5 μ l de agua ultrapura, 12,5 μ l de TaqMan Fast Universal PCR Master Mix 2 \times (Applied Biosystems¹), 2,25 μ l de Ams116F 10 pmol/ μ l, 2,25 μ l de Ams189R 10 pmol/ μ l y 0,5 μ l de Ams141T marcado con FAM 10 pmol/ μ l. A estos 20 μ l de mezcla de la PCR se añaden 5 μ l de extracto de ADN. Los parámetros de ciclado son: 2 min a 50 °C, 10 min a 95 °C y 40 ciclos de 15 s a 95 °C y 1 min a 60 °C. En modo estándar, las rampas de incremento y decremento de la temperatura de los analizadores 7900HT y 7900HT Fast (Applied Biosystems¹) son 1,6 °C/s (ascendente) y 1,6 °C/s (descendente). Las reacciones pueden realizarse con rampas de variación de la temperatura menores, pero con tasas más altas (de aproximadamente 3,5 °C/s, en ascenso y descenso) los resultados no fueron aceptables. El tamaño esperado del amplicón es de 74 pb.

Para el análisis de los resultados de la PCR en tiempo real, suele haber distintas opciones, automáticas o manuales, para configurar los límites de señal y ruido. Deberían seguirse las instrucciones del programa informático pertinente. La línea de referencia debería fijarse automáticamente y el umbral debería fijarse manualmente de manera que intercepte las curvas de amplificación de control en la fase exponencial.

En la prueba interlaboratorios de 2010 se determinaron exactitudes de 0,80, 0,85 y 0,76 con el método de extracción de ADN descrito por Llop *et al.* (1999), el equipo REExtract-N-Amp Plant PCR Kit (Sigma-Aldrich¹) y el método de Taylor *et al.* (2001), respectivamente.

PCR en tiempo real según Gottsberger (2010)

Se usan los siguientes oligonucleótidos para la amplificación del cromosoma de *E. amylovora*:

Cebador hpEaF: 5'-CCG TGG AGA CCG ATC TTT TA-3'

Cebador hpEaR: 5'-AAG TTT CTC CGC CCT ACG AT-3'

Sonda hpEaP: FAM-TCG TCG AAT GCT GCC TCT CT-MGB

La reacción se produce en un volumen final de 20 μ l. La mezcla de la PCR está compuesta por 6 μ l de agua ultrapura, 10 μ l de TaqMan Fast Universal PCR Master Mix 2 \times (Applied Biosystems¹), 1 μ l de hpEaF 10 pmol/ μ l, 1 μ l de hpEaR 10 pmol/ μ l y 1 μ l de hpEaP 1 pmol/ μ l. A estos 19 μ l de mezcla de la PCR se añade 1 μ l de extracto de ADN. Los parámetros de ciclado son: 2 min a 50 °C, 10 min a 95 °C y 50 ciclos de 15 s a 95 °C y 1 min a 60 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 138 pb.

Para el análisis de los resultados de la PCR en tiempo real, suele haber distintas opciones, automáticas o manuales, para configurar los límites de señal y ruido. Deberían seguirse las instrucciones del programa informático pertinente. La línea de referencia debería fijarse automáticamente y el umbral debería fijarse manualmente de manera que intercepte las curvas de amplificación de control en la fase exponencial.

En la prueba interlaboratorios de 2010 no se pudo analizar la exactitud de esta PCR en tiempo real; sin embargo, en un laboratorio se realizó en paralelo a la PCR en tiempo real de Pirc *et al.* (2009) y se obtuvieron los mismos resultados cualitativos que con la extracción de ADN de Llop *et al.* (1999).

3.1.5.6 Interpretación de los resultados de la PCR

PCR convencional

La PCR específica del patógeno solo se considera válida si:

- (1) el control positivo produce un amplicón del tamaño correcto para la bacteria
- (2) no se producen amplicones del tamaño correcto para la bacteria en el control negativo de extracción ni en el control negativo de amplificación.

Si también se recurre a los cebadores ADN_r 16S de control interno, el control negativo (tejido vegetal sano), si se utiliza, el control positivo y todas las muestras de la prueba deben producir un amplicón de 1,6 kilobases (kb) (ADN_r 16S). Téngase en cuenta que si se utilizan controles positivos sintéticos o plásmidos no se producirá un amplicón de 1,6 kb. Si no se logra la amplificación de las muestras con los cebadores de control interno, la causa puede ser, por ejemplo, una deficiente extracción del ADN, que no se haya incluido el ácido nucleico en la mezcla de la reacción, que el extracto de ADN contenga compuestos inhibidores de la PCR o que el ADN se haya degradado.

El análisis de una muestra se considerará positivo si se produce un amplicón del tamaño correcto.

PCR en tiempo real

La PCR en tiempo real solo se considerará válida si:

- (1) el control positivo produce una curva de amplificación con los cebadores específicos del patógeno
- (2) no se produce ninguna curva de amplificación (esto es, el valor de ciclo umbral [Ct] es 40) en el control negativo de extracción ni en el control negativo de amplificación.

Si también se recurre a cebadores COX de control interno, el control negativo, si se utiliza, el control positivo y todas las muestras analizadas deben producir una curva de amplificación. Si las muestras no producen una curva de amplificación con los cebadores de control interno, la causa puede ser, por ejemplo, una deficiente extracción de ADN, que no se haya incluido el ácido nucleico en la mezcla de la reacción, que haya presencia de compuestos inhibidores de la PCR en el extracto de ADN o que el ADN se haya degradado.

La prueba de una muestra se considerará positiva si produce una curva de amplificación típica, de tipo exponencial. Cada laboratorio tiene que comprobar el valor de ciclo umbral (Ct) cuando realice la prueba por primera vez.

3.1.5.7 Amplificación isotérmica mediada por asas (LAMP)

El protocolo de la técnica LAMP fue desarrollado y descrito por Temple *et al.* (2008) y Temple y Johnson (2011). Se evaluó en la prueba interlaboratorios de 2010 porque se consideró adecuado para laboratorios no equipados para la PCR y porque es fácil de aplicar. En la prueba interlaboratorios se determinó que el protocolo de la técnica LAMP con cebadores para detectar el gen cromosómico *amsL* de *E. amylovora* no ofrecía una sensibilidad suficiente para el análisis de muestras con poblaciones pequeñas de bacterias. Por lo tanto, el protocolo de LAMP descrito a continuación para detectar *amsL* cromosómico solo se recomienda para el análisis de muestras sintomáticas con más de 10⁵–10⁶ ufc/ml. El protocolo de Temple y Johnson (2011) con cebadores para detectar pEA29 no se evaluó en la prueba interlaboratorios.

Los cebadores de LAMP para detectar *amsL* son:

ALB Fip: 5'-CTG CCT GAG TAC GCA GCT GAT TGC ACG TTT TAC AGC TCG CT-3'
ALB Bip: 5'-TCG TCG GTA AAG TGA TGG GTG CCC AGC TTA AGG GGC TGA AG-3'
ALB F: 5'-GCC CAC ATT CGA ATT TGA CC-3'
ALB B: 5'-CGG TTA ATC ACC GGT GTC A-3'

La prueba se realizó con concentraciones finales de 2,4 μM de los cebadores Fip y Bip y concentraciones finales de 0,2 μM de los cebadores F y B. Los cebadores presentaron temperaturas de fusión de 58 a 60 °C. La mezcla de reacción de la LAMP comprende: 5 μl de tampón ThermoPol 10 \times (New England Biolabs¹), 5 μl de dNTP 10 mM, 2 μl de MgSO_4 100 mM, 2 μl de albúmina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés) 10 mg/ml, 1,2 μl de ALB Fip 100 μM , 1,2 μl de ALB Bip 100 μM , 1 μl de ALB F 10 μM , 1 μl de ALB B 10 μM , 2 μl de polimerasa de ADN *Bst* 8 U/ μl , 5 μl de ADN molde y 24,6 μl de agua ultrapura. Téngase en cuenta que la polimerasa de ADN *Bst*, el ADN molde y el agua ultrapura no se añaden a la mezcla maestra, sino que se añaden por separado tras distribuirse la mezcla maestra en partes alícuotas. Antes de iniciar la reacción de la LAMP, se prepara un baño María a 65 °C o se fija esta temperatura en un termociclador. Se prepara la mezcla y se transfieren con una pipeta 18,4 μl a cada uno de los tubos de PCR de 0,2 ml. A continuación, se transfieren con una pipeta, por separado, a cada uno de los tubos que contienen mezcla maestra, la polimerasa de ADN *Bst*, el ADN molde y el agua ultrapura. Los tubos se hacen girar en una centrífuga de placas (a 1 000 r.p.m. durante 30 s) y se ponen en el baño María (a 65 °C), en una gradilla de manera que el fondo de los tubos de reacción se mantenga sumergido, o en el termociclador (65 °C) durante 55 min. Los tubos se retiran y se dejan enfriar durante 10 s.

El análisis de una muestra es positivo si se observa la presencia de un precipitado blanco de pirofosfato de magnesio, ya sea disperso en todo el tubo (turbidez) o como precipitado sólido en el fondo del tubo, como en el control positivo. Si la solución es transparente el resultado de la prueba es negativo, y debería observarse la misma apariencia en el control negativo.

En la prueba interlaboratorios de 2010 se determinó una exactitud de 0,64, pero de 0,80 para muestras con 10^5 – 10^6 ufc/ml. Por esta razón, la técnica LAMP solo se recomienda para el análisis de muestras sintomáticas.

3.2 Detección en plantas asintomáticas

Las pruebas de detección recomendadas se indican en el diagrama de flujo de la Figura 2.

3.2.1 Muestreo y preparación de las muestras

Las muestras asintomáticas se pueden procesar individualmente (preferible) o en grupos de hasta 100 (EPPO, 2013). Deberían adoptarse precauciones a fin de evitar la contaminación cruzada al recogerse las muestras y durante el proceso de extracción. El muestreo y la preparación de las muestras se pueden llevar a cabo aplicando uno de los siguientes protocolos:

- Se recogen flores, brotes, frutos pequeños o segmentos de tallo en bolsas o recipientes estériles en verano o a principios del otoño, después de que se hayan dado condiciones favorables para la multiplicación de *E. amylovora* y cuando la temperatura media ascienda por encima de unos 15 °C (van der Zwet y Beer, 1995). Se cortan de la planta sospechosa brotes jóvenes de unos 20 cm de longitud, o flores, si las hay. Si fuera necesario hacer los análisis en invierno, se recogen entre cinco y diez yemas por planta. En el laboratorio, se cortan de las plantas seleccionadas las flores, si las hay, el pedúnculo y la base del limbo de varias hojas de la base de los brotes, o segmentos de los tallos. Se pesan aproximadamente 0,1–1,0 g de material vegetal y se maceran en tampón antioxidante aplicando el protocolo descrito en la Sección 3.1.2.
- Un procedimiento de muestreo del que se ha informado pero que no ha sido validado para el análisis de ramillas de material leñoso asintomático de viveros es el siguiente. Una muestra está formada por 100 ramillas, de unos 10 cm de longitud cada una, tomadas de 100 plantas. Si el lote contiene plantas de diferentes géneros, deberían estar representados por igual en la muestra (con un máximo de tres géneros por muestra). Se toman de cada muestra 30 ramillas al azar y cada una se corta en cuatro trozos (de modo que se obtienen 120 trozos de tallo). Las muestras se cubren con PBS estéril con un 0,1 % de Tween 20 en matraces Erlenmeyer y los matraces se agitan bien en un agitador giratorio durante 1,5 h a temperatura ambiente. El extracto se filtra con papel de filtro colocado en un filtro de cristal sinterizado con una bomba de vacío, y se recoge el filtrado. El filtrado se usa directamente para el análisis o se centrifuga a 10 000 g durante 20 min. El

sedimento se suspende en 4,5 ml de PBS estéril. Se aplican las técnicas de detección indicadas a continuación. Puede aplicarse un protocolo similar para las hojas, brotes, flores y yemas.

La recuperación esperada de *E. amylovora* dependerá del momento del muestreo, siendo máxima en verano (siempre que las condiciones meteorológicas sean favorables para *E. amylovora*) y menor en invierno. Las muestras deberían procesarse de inmediato realizando un enriquecimiento y aplicando a continuación las técnicas de DASI-ELISA, PCR y aislamiento conforme a los respectivos protocolos descritos para las muestras sintomáticas en López *et al.* (2006). La técnica de inmunofluorescencia es optativa; en caso de aplicarse, debe hacerse directamente sobre los extractos, antes del enriquecimiento.

3.2.2 Pruebas de detección

El análisis directo de la presencia de *E. amylovora* en muestras asintomáticas normalmente es negativo debido a la reducida población de bacterias. Por lo tanto, cuando se analice material asintomático es absolutamente necesario realizar un enriquecimiento a partir de las muestras preparadas en el tampón antioxidante (Sección 3.2.1) (Gorris *et al.*, 1996) durante 72 h a aproximadamente 25 °C. Se recomienda llevar a cabo al menos dos de las siguientes pruebas de detección basadas en principios biológicos diferentes:

- Enriquecimiento-aislamiento. Aplíquese el procedimiento descrito para las muestras sintomáticas (Sección 3.1.3.2).
- Enriquecimiento-DASI-ELISA. Aplíquese el procedimiento descrito para las muestras sintomáticas (Sección 3.1.4.1).
- Enriquecimiento-PCR o enriquecimiento-PCR en tiempo real. Tómense 500–1000 µl de las muestras enriquecidas en medio B de King y/o CCT para la extracción de ADN y aplíquese el procedimiento de amplificación descrito por Taylor *et al.* (2001) o Llop *et al.* (2000) (Sección 3.1.5.3) o los protocolos de PCR en tiempo real (Sección 3.1.5.5).

Si alguna de las pruebas de detección da resultado positivo pero el del aislamiento es negativo, se debería intentar llevar a cabo el aislamiento del patógeno a partir del extracto almacenado a –80 °C con glicerol o a partir de las muestras enriquecidas. Cuando tres o más pruebas dan resultado positivo y el aislamiento es negativo es razonable tener sospechas firmes de la presencia de *E. amylovora* en la muestra, pero para la identificación y confirmación es necesario el aislamiento del patógeno a partir de muestras nuevas y la subsiguiente identificación de la bacteria.

4. Identificación

La identificación debería basarse en los resultados obtenidos con varias técnicas porque otras especies de *Erwinia* como *E. piriflorinigrans* (López *et al.*, 2011), *E. pyrifoliae* (Kim *et al.*, 1999; Rhim *et al.*, 1999), *E. uzenensis* (Matsuura *et al.*, 2012) y otras *Erwinia* spp. (Kim *et al.*, 2001a, 2001b; Palacio-Bielsa *et al.*, 2012) presentan características morfológicas, serológicas y moleculares similares a las de *E. amylovora*. *E. amylovora* se puede diferenciar de estas especies de *Erwinia* muy cercanas (que pueden estar presentes en tejidos con síntomas similares en algunos hospedantes) mediante una combinación de tres técnicas basadas en principios biológicos diferentes:

- PCR basada en ADN cromosómico (secciones 3.1.5.2 y 4.3.1)
- DASI-ELISA con anticuerpos monoclonales específicos según se ha descrito para la detección (Sección 3.1.4.1, excluida la fase de enriquecimiento)
- inoculación en hospedantes de fuego bacteriano para cumplir los postulados de Koch, incluido el nuevo aislamiento del patógeno inoculado (Sección 4.4).

Para la identificación de colonias, se recomienda el uso de al menos dos de estas tres técnicas. Según la experiencia del laboratorio, también se pueden usar otras pruebas, que se describen a continuación. Cuando sea necesario, la confirmación final de la identificación de un cultivo debería incluir una prueba de patogenicidad.

Se recomienda usar como controles positivos las cepas NCPPB 683 y CFBP 1430 de *E. amylovora*. Se pueden obtener diferentes cepas de referencia de *E. amylovora* de las siguientes colecciones, entre otras: National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPPB), Fera, York (Reino Unido); Collection Française de Bactéries Phytopathogènes (CFBP), Institut national de la recherche agronomique (INRA), Station Phytobactériologie, Angers (Francia); Belgian Co-ordinated Collection of Micro-organisms BCCM/LMG Bacteria Collection, Ghent (Bélgica); International Collection of Microorganisms from Plants (ICMP), Manaaki Whenua Landcare Research, Auckland (Nueva Zelanda) y American Type Culture Collection (ATTC), Manassas, VA (Estados Unidos). Solo se puede garantizar la autenticidad de las cepas si se han obtenido directamente de las colecciones de cultivos.

4.1 Identificación nutricional y enzimática

Ciertas pruebas fenóticas clave son útiles y siguen usándose para la identificación, pero se aconseja combinarlas con ensayos de patogenicidad y una prueba serológica o molecular. Los miembros del género *Erwinia* se definen como gramnegativos, anaerobios facultativos, con movilidad mediante flagelos peritricos, baciliformes y capaces de producir ácido a partir de glucosa, fructosa, galactosa y sacarosa. La mayoría de las cepas de *E. amylovora* presentan ciertas propiedades fenotípicas clave (Paulin, 2000) comunes; según los métodos de Jones y Geider (2001) son: prueba de oxidasa (-), prueba de metabolismo oxidativo/fermentativo (O/F) (+/+), producción de pigmento fluorescente en medio B de King bajo luz UV (-), producción de levano (+), reducción de nitratos (-), utilización de citratos (+), licuación de la gelatina (+), producción de ureasa e indol (-) y morfología de la colonia en medio CCT.

Las siguientes pruebas diferencian *E. amylovora* de *E. pyrifoliae* y de *E. piriflorinigrans*, aunque algunas cepas podrán presentar otras características fisiológicas y bioquímicas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Diferencias entre *Erwinia amylovora*, *Erwinia pyrifoliae* y *Erwinia piriflorinigrans*

Prueba microbiológica	<i>Erwinia amylovora</i>	<i>Erwinia pyrifoliae</i>	<i>Erwinia piriflorinigrans</i>
Hidrólisis de gelatina	+	-	-
Inositol [†]	-	N. D.	+
Sorbitol [†]	+	+	-
Esculina [†]	V	-	+
Melibiosa [†]	-	-	+
D-Rafinosa [†]	-	-	+
β -Gentiobiosa [†]	+	-	+
Amplificación con [‡] EP16A/EPI62C CPS1/CPS2C	-	+	N. D.

[†] De Roselló *et al.* (2006) y López *et al.* (2011). Oxidación de sustratos en tiras API 50 CH (bioMérieux) usando el método descrito por López *et al.* (2011). Más del 90 % de las cepas dan los resultados indicados.

[‡] Según Kim *et al.* (2001b).

N. D.: no determinado; V: variable.

4.1.1 Caracterización bioquímica

4.1.1.1 Perfil nutricional y enzimático

La identificación de *E. amylovora* se puede lograr bioquímicamente mediante la obtención del perfil en las tiras 20 E y 50 CH del sistema API (bioMérieux¹).

API 20 E¹. Para preparar la suspensión e inocular la tira se deberían seguir las instrucciones del fabricante. La tira se incuba a 25–26 °C. Transcurridas 48 h, la lectura de un cultivo típico de *E. amylovora* debería ser la siguiente: negativo en las pruebas de lisina descarboxilasa (LDC), ornitina descarboxilasa (ODC), utilización de citratos (CIT), producción de H₂S (SH₂), ureasa (URE), triptófano desaminasa (TDA), producción de indol (IND) y oxidación de ramnosa (RHA), y positivo en la oxidación de sacarosa (SAC). Otras pruebas pueden variar en función de la cepa, según Donat *et al.* (2007).

API 50 CH¹. Se prepara una suspensión en PBS de DO 1,0 (a una longitud de onda de 600 nm). Se añade un mililitro de la suspensión a 20 ml de medio Ayers (1 g de NH₄H₂PO₄, 0,2 g de KCl, 0,2 g de MgSO₄, 75 ml de azul de bromotimol 0,2 % y 1 litro de agua destilada, pH 7; esterilizado a 120 °C durante 20 min) (Ayers *et al.*, 1919). Para inocular la tira se deberían seguir las instrucciones del fabricante. La tira se incuba a 25–26 °C en condiciones aeróbicas. La utilización de los diferentes hidratos de carbono se observa por el desarrollo de color amarillo en el pocillo. Transcurridas 72 h, un cultivo típico de *E. amylovora* debería dar resultados positivos para L-arabinosa, ribosa, D-glucosa, D-fructosa, manitol, sorbitol, N-acetilglucosamina, sacarosa, trehalosa y β-gentiobiosa. *E. amylovora* no utiliza el resto de los azúcares en estas condiciones, pero algunas cepas pueden utilizar el glicerol y la D-fucosa, según Donat *et al.* (2007).

4.1.1.2 Identificación automatizada

Está disponible comercialmente un sistema de identificación automatizada basado en los resultados diferenciales de 94 pruebas fenotípicas en una placa de microvaloración junto con un programa informático de análisis (OmniLog¹, Biolog¹). Para la identificación de presuntas cepas de *E. amylovora* se deberían seguir las instrucciones del fabricante.

4.1.1.3 Perfil de ácidos grasos

Para determinar el perfil de ácidos grasos (FAP, por sus siglas en inglés) se cultivan colonias positivas en levano y no fluorescentes en agar con triptona y soja comercial a 28 °C durante 48 h (Sasser, 1990). Se aplica un procedimiento adecuado de extracción de ácidos grasos y el extracto se analiza con el Sherlock Microbial Identification System (MIS) (MIDI¹) disponible comercialmente u otro programa informático apropiado para la identificación presuntiva de *E. amylovora*, según Wells *et al.* (1994).

4.2 Identificación serológica

4.2.1 Aglutinación

Las colonias sospechosas de *E. amylovora* se pueden identificar presuntivamente mediante aglutinación en portaobjetos. Se mezcla una suspensión densa de células con una gota de PBS y una gota de antisuero específico contra *E. amylovora* (sin diluir o en una dilución de solo 1:5 a 1:10) sobre un portaobjetos. Se pueden usar anticuerpos monoclonales siempre que aglutinen las cepas de referencia. La especificidad de los anticuerpos debe comprobarse previamente.

4.2.2 Inmunofluorescencia

Se prepara una suspensión de aproximadamente 10⁶ células/ml en PBS con colonias positivas a levano y no fluorescentes y se sigue el procedimiento de inmunofluorescencia descrito en la Sección 3.1.4.3. La especificidad de los anticuerpos debe comprobarse previamente.

4.2.3 ELISA

La identificación de cepas se puede realizar mediante inmunopresión directa-ELISA (Sección 3.1.4.2), DASI-ELISA (Sección 3.1.4.1) y ELISA indirecto (descrito a continuación) con anticuerpos monoclonales específicos, como se describió para la detección. Se ha validado en dos pruebas interlaboratorios una mezcla de anticuerpos monoclonales para el DASI-ELISA. Se prepara, a partir de colonias sospechosas, una suspensión en PBS de aproximadamente 10^8 células/ml. Puede usarse el procedimiento del DASI-ELISA descrito en la Sección 3.1.4.1, pero sin la fase de enriquecimiento.

ELISA indirecto

Los cultivos puros de las cepas sospechosas se calientan a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 min, al baño María o en un termobloque, para reducir las reacciones inespecíficas con los anticuerpos monoclonales comerciales. Se mezclan porciones de 200 μl de cultivo con volúmenes iguales de tampón de carbonato (1,59 g de Na_2CO_3 , 2,93 g de NaHCO_3 y 1 litro de agua destilada, pH 9,6) y esta solución se deposita en al menos dos pocillos de una placa de microvaloración. La placa se incuba a $37\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h o a $4\text{ }^\circ\text{C}$ durante la noche. Los extractos se retiran de los pocillos y la placa se lava tres veces con tampón de lavado (véase el protocolo del DASI-ELISA). Se preparan los anticuerpos comerciales específicos contra *E. amylovora* de Plant Print Diagnostics SL¹ a las diluciones recomendadas. En cada pocillo se añaden 200 μl de la solución de anticuerpos contra *E. amylovora* y la placa se incuba a $37\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h. La solución de anticuerpos se retira de los pocillos y estos se lavan como antes. Se prepara la dilución apropiada del conjugado de anticuerpo secundario-fosfatasa alcalina (GAM-AP, por sus siglas en inglés) en PBS con un 0,5 % de BSA. Se añaden a cada pocillo 200 μl del anticuerpo conjugado diluido y la placa se incuba a $37\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h. El anticuerpo conjugado se retira de los pocillos y estos se lavan como antes. Se prepara un sustrato de 1 mg/ml de fosfatasa alcalina (p-nitrofenil-fosfato) en tampón de sustrato (97 ml de dietanolamina y 800 ml de agua destilada; el pH se ajusta a 9,8 con HCl concentrado y después se ajusta el volumen a 1 000 ml con agua destilada). Se añaden a cada pocillo 200 μl de solución de sustrato de fosfatasa alcalina. La placa se incuba en la oscuridad a temperatura ambiente y se lee a 405 nm en intervalos regulares en un plazo de 90 min. La prueba es positiva si el sustrato adquiere color amarillo.

4.2.4 Inmunoensayo de flujo lateral

Se prepara una suspensión de 10^7 ufc/ml del cultivo puro para la identificación presuntiva. Se usan los tampones y los procedimientos suministrados por los fabricantes, como se describe en la Sección 3.1.4.4.

4.3 Identificación molecular

4.3.1 PCR

Se prepara una suspensión de aproximadamente 10^6 células/ml en agua de grado molecular estéril a partir de colonias purificadas positivas a levano y no fluorescentes y se calienta a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 min. Se aplican los procedimientos pertinentes de PCR o el protocolo de LAMP tal y como se describe en las secciones 3.1.5.2 a 3.1.5.4 (directamente, sin extracción de ADN). Cuando las colonias aisladas se identifican mediante PCR, se debería utilizar 1 U de polimerasa de ADN Taq (en vez de 2 U como en el caso del material vegetal).

4.3.2 Macro-restricción y electroforesis en gel de campo pulsante

El análisis mediante electroforesis en gel de campo pulsante (PFGE, por sus siglas en inglés) del ADN genómico tras la digestión con *Xba*I, según Jock *et al.* (2002), muestra seis patrones para las cepas europeas de *E. amylovora*. El método puede aportar información útil para la diferenciación de cepas y se ha aplicado para entender la dispersión del fuego bacteriano en Europa (Jock *et al.*, 2002; Donat *et al.*, 2007).

4.4 Técnicas de patogenicidad

Las colonias sospechosas de *E. amylovora* deberían volverse a inocular en plantas hospedantes para cumplir los postulados de Koch y verificar su patogenicidad. Para la inoculación en plantas, se usan cultivares sensibles de peral (p. ej., Conference, Doyenne du Comice, Williams, Passa Crassane), manzano (p. ej., Fuji, Gala, Idared, Jonathan), níspero del Japón (p. ej., Algerie, Tanaka), *Crataegus* spp., *Cotoneaster* spp. o *Pyracantha* spp. La inoculación se realiza en brotes jóvenes cortando una hoja joven por el nervio central con tijeras mojadas en una suspensión de 10^9 ufc/ml de cada cepa aislada preparada en PBS. Las plantas se mantienen a 20–25 °C con una humedad relativa de aproximadamente el 80 % durante una o dos semanas. También pueden inocularse de la misma forma brotes jóvenes separados de plantas cultivadas en invernadero cuya superficie se ha esterilizado (se ha tratado con etanol al 70 % durante 30 s y a continuación se ha lavado tres veces con agua destilada estéril) y conservarse en tubos con agar estéril al 1 %. Los tubos deberían mantenerse a 20–25 °C con 16 h de luz al día.

También se pueden inocular frutos inmaduros desprendidos de cultivares vulnerables de peral, manzano y níspero del Japón, depositando 10 µl de suspensiones de 10^9 ufc/ml de las cepas aisladas en PBS sobre una herida reciente de la superficie de los frutos desinfectados (tratados con lejía comercial al 70 % durante 30 min y después lavados tres veces con agua destilada estéril). Los frutos deberían incubarse en una cámara húmeda a 25 °C durante tres a cinco días.

Las colonias similares a *E. amylovora* se vuelven a aislar y se caracterizan a partir de órganos inoculados que muestren los síntomas típicos del fuego bacteriano. El resultado positivo de una prueba se manifiesta porque al cabo de dos a siete días las bacterias rezuman y los alrededores del lugar de la inoculación se oscurecen, como se constata en el control positivo de *E. amylovora*, siempre que en el control negativo no haya lesiones o solo se observe una pequeña lesión necrótica en el lugar de la herida.

Pueden usarse otras técnicas de inoculación. La aparición de reacciones hipersensibles en hojas de tabaco podrá indicar la expresión de genes de reacción de hipersensibilidad y patogenicidad (*hrp*, por sus siglas en inglés) de *E. amylovora*, pero muchas otras bacterias fitopatógenas podrán dar resultado positivo en esta prueba. Se deberían usar plantas de tabaco de los cultivares Xanthi o Samsun con más de cinco o seis hojas. Se preparan suspensiones bacterianas de 10^9 ufc/ml (DO a 600 nm: 1,0) y se inyectan con una aguja y una jeringuilla en el espacio intracelular de hojas maduras. El colapso completo del tejido infiltrado transcurridas 24–48 h a temperatura ambiente, como el observado en el control positivo de *E. amylovora*, se registra como resultado positivo.

5. Registros

Los registros y las evidencias deberían conservarse según lo descrito en la Sección 2.5 de la NIMF 27 (Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas).

En los casos en que los resultados del diagnóstico puedan repercutir sobre otras partes contratantes, en concreto en casos de incumplimiento (NIMF 13, Directrices para la notificación del incumplimiento y acción de emergencia) y en áreas en las que se detecte la plaga por primera vez, los siguientes registros, evidencias y material adicional deberían conservarse por lo menos durante un año de un modo que garantice su plena rastreabilidad: la muestra original, los cultivos de la plaga, los especímenes preservados o montados en portaobjetos o los materiales de las pruebas (p. ej., fotografías de los geles, copias impresas de los resultados de los ELISA y amplicones de la PCR).

6. Puntos de contacto para información adicional

Puede obtenerse información adicional sobre este protocolo en las siguientes fuentes:

Centro de Protección Vegetal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carretera Moncada-Náquera km 4,5, 46113 Moncada, Valencia (España) (María M. López; e-mail: mlopez@ivia.es; tel.: +34 963424000; fax +34 963424001).

Plant Health and Environment Laboratory, Investigation and Diagnostic Centres, Ministry for Primary Industries, 231 Morrin Road, St Johns, Auckland 1140, Nueva Zelandia (Robert Taylor; e-mail: Robert.Taylor@mpi.govt.nz; tel.: +64 99093548; fax: +64 99095739).

Podrán presentar una solicitud de revisión de un protocolo de diagnóstico las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF), las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) o los órganos auxiliares de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) por conducto de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (ippc@fao.org), que a su vez remitirá la solicitud al Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico (GTPD).

7. Agradecimientos

El primer proyecto de este protocolo fue redactado por M.M. López (Centro de Protección Vegetal, IVIA, España [véase la sección anterior]) y revisado por R. Taylor (Plant Health and Environment Laboratory, Investigation and Diagnostic Centres, Ministry for Primary Industries, Nueva Zelandia [véase la sección anterior]) y R. Roberts (Tree Fruit Research Laboratory, USDA-ARS, Estados Unidos de América).

La mayoría de las técnicas descritas se sometieron pruebas interlaboratorios en un proyecto de DIAGPRO financiado por la Unión Europea en 2003, en un proyecto de la EUPHRESKO en 2009 y en un proyecto español en 2010.

8. Referencias

En la presente norma se hace referencia a las NIMF. Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/core-activities/standards-setting/ispms>.

Anónimo. 1998. Directiva 98/57/CE del Consejo de 20 de julio de 1998 sobre el control de *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* *Diario Oficial de la Unión Europea*, L235: 1–39.

Ayers, S.H., Rupp, P. y Johnson, W.T. 1919. A study of alkali-forming bacteria in milk. *US Department of Agriculture Bulletin*, 782.

Bereswill, S., Jock, S., Aldridge, P., Janse, J.D. y Geider, K. 1997. Molecular characterization of natural *Erwinia amylovora* strains deficient in levan synthesis. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 51: 215–225.

Bereswill, S., Pahl, A., Bellemann, P., Zeller, W. y Geider, K. 1992. Sensitive and species-specific detection of *Erwinia amylovora* by polymerase chain reaction analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 3522–3526.

Bonn, W.G. y van der Zwet, T. 2000. Distribution and economic importance of fire blight. *En J. Vanneste, ed. Fire blight: The disease and its causative agent, Erwinia amylovora*, págs. 37-54. Wallingford (Reino Unido), CABI. 370 págs.

Bradbury, J.F. 1986. *Guide to plant pathogenic bacteria*. Kew, Surrey (Reino Unido), CAB International Mycological Institute. 332 págs.

Burrill, T.J. 1883. New species of *Micrococcus* (bacteria). *The American Naturalist*, 17: 319.

Donat, V., Biosca, E.G., Peñalver, J. y López, M.M. 2007. Exploring diversity among Spanish strains of *Erwinia amylovora* and possible infection sources. *Journal of Applied Microbiology*, 103: 1639–1649.

- Dreo, T., Duffy, B., López, M., Paulin, J.P., Poliakoff, F. y Reisenzein, H.** 2009. *Development and validation of innovative diagnostic tools for the detection of fire blight (Erwinia amylovora)*. York (Reino Unido), EUPHRESKO. Disponible en: <http://www.euphresco.org/downloadFile.cfm?id=662> (último acceso: septiembre de 2012).
- EPPO** (Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas, OEPP). 2013. PM 7/20 (2) *Erwinia amylovora*. *EPPO Bulletin*, doi:10.1111/epp.12019.
- EPPO** (Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas, OEPP). s. f. EPPO Plant Quarantine Data Retrieval System. París, EPPO. Disponible en: <http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>.
- Gorris, M.T., Cambra, M., Llop, P., López, M.M., Lecomte, P., Chartier, R. y Paulin, J.P.** 1996. A sensitive and specific detection of *Erwinia amylovora* based on the ELISA-DASI enrichment method with monoclonal antibodies. *Acta Horticulturae*, 411: 41–45.
- Gottsberger, R.A.** 2010. Development and evaluation of a real-time PCR assay targeting chromosomal DNA of *Erwinia amylovora*. *Letters in Applied Microbiology*, 51: 285–292.
- Ishimaru, E.S. y Klos, E.J.** 1984. New medium for detection of *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. *Phytopathology*, 74: 1342–1345.
- Jock, S., Donat, V., López, M.M., Bazzi, C. y Geider, K.** 2002. Following spread of fire blight in Western, Central and Southern Europe by molecular differentiation of *Erwinia amylovora* strains with PFGE analysis. *Environmental Microbiology*, 4: 106–114.
- Jones, A. y Geider, K.** 2001. II Gram negative bacteria. B. *Erwinia* and *Pantoea*. En N.W. Schaad, J.B. Jones y W. Chum, eds. *Guide for identification of plant pathogenic bacteria*, segunda edición. Saint Paul, MN, APS Press.
- Kim, W.S., Gardan, L., Rhim, S.L. y Geider, K.** 1999. *Erwinia pyrifoliae* sp., a novel pathogen that affects Asian pear trees (*Pyrus pyrifolia* Nakai) *International Journal of Systemic Bacteriology*, 49: 899–906.
- Kim, W.S., Hildebrand, M., Jock, S. y Geider, K.** 2001a. Molecular comparison of pathogenic bacteria from pear trees in Japan and the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. *Microbiology*, 147: 2951–2959.
- Kim, W.S., Jock, S., Rhim, S-L. y Geider, K.** 2001b. Molecular detection and differentiation of *Erwinia pyrifoliae* and host range analysis of the Asian pear pathogen. *Plant Disease*, 85: 1183–1188.
- King, E.O., Ward, M. y Raney, D.E.** 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44: 301–307.
- Lehman, S.M., Kim, W.K., Castle, A.J. y Svircev, S.M.** 2008. Dualplex real-time polymerase chain reaction reveals competition between *Erwinia amylovora* and *E. pyrifoliae* on pear blossoms. *Phytopathology*, 98: 673–679.
- Llop, P., Bonaterra, A., Peñalver, J. y López, M.M.** 2000. Development of a highly sensitive nested-PCR procedure using a single closed tube for detection of *Erwinia amylovora* in asymptomatic plant material. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2071–2078.
- Llop, P., Caruso, P., Cubero, J., Morente, C. y López, M.M.** 1999. A simple extraction procedure for efficient routine detection of pathogenic bacteria in plant material by polymerase chain reaction. *Journal of Microbiological Methods*, 37: 23–31.
- Llop, P., Donat, V., Rodríguez, M., Cabrefiga, J., Ruz, L., Palomo, J.L., Montesinos, E. y López, M.M.** 2006. An indigenous virulent strain of *Erwinia amylovora* lacking the ubiquitous plasmid pEA29. *Phytopathology*, 96: 900–907.
- López, M.M., Llop, P., Gorris, M.T., Keck, M., Peñalver, J., Donat, V. y Cambra, M.** 2006. European protocol for diagnosis of *Erwinia amylovora*. *Acta Horticulturae*, 704: 99–103.

- López, M.M., Peñalver, J., Arilla, A., Morente, C., Dreó, T., Pirc, M., Poliakoff, F., Dousset, C., Visage, M., Achbani, E., Bergsma-Vlami, M., Drenova, N., Duffy, B., Marín, M., Meeke, E., Moumni, M., Obradovic, A., Palomo, J., Taylor, R., Stockwell, V. y Reisenzein, H. 2010. Ring test evaluation of techniques for *Erwinia amylovora* diagnosis and detections. ISHS 12th International Workshop on Fire Blight. Varsovia (Polonia), 16–20 de agosto de 2010, resumen 18.
- López, M.M., Roselló, M.M., Llop, P., Ferrer, S., Christen, R. y Gardan, L. 2011. *Erwinia piriflorinigrans* sp. nov., a novel pathogen that causes necrosis of pear blossoms. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, 61: 561–567.
- McManus, P.S. y Jones, A.L. 1995. Detection of *Erwinia amylovora* by nested-PCR and PCR-dot-blot and reverse blot hybridisations. *Phytopathology*, 85: 618–623.
- Matsuura, T., Mizuno, A., Tsukamoto, T., Shimizu, Y., Saito, N., Sato, S., Kikuchi, S., Uzuki, T., Azegami, K. y Sawada, H. 2012. *Erwinia uzenensis* sp. nov., a novel pathogen that affects European pear trees (*Pyrus communis* L.). *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, doi:10.1099/ijes.0.032011-0.
- Obradovic, D., Balaz, J. y Kevresan, S. 2007. Detection of *Erwinia amylovora* by novel chromosomal polymerase chain reaction primers. *Mikrobiologija*, 76: 844–852.
- Ordax, M., Biosca, E.G., Wimalajeewa, S.C., López, M.M. y Marco-Noales, E. 2009. Survival of *Erwinia amylovora* in mature apple fruit calyces through the viable but nonculturable (VBNC) state. *Journal of Applied Microbiology*, 107: 106–116.
- Palacio-Bielsa, A., Roselló, M., Llop, P. y López, M.M. 2012. *Erwinia* spp. from pome fruit trees: Similarities and differences among pathogenic and nonpathogenic species. *Trees*, 26: 13–29.
- Paulin, J.P. 2000. *Erwinia amylovora*: General characteristics, biochemistry and serology. En J. Vanneste, ed. *Fire blight: The disease and its causative agent*, *Erwinia amylovora*, págs. 87–116. Wallingford (Reino Unido), CABI. 370 págs.
- Pirc, M., Ravnikar, M., Tomlinson, J. y Dreó, J. 2009. Improved fireblight diagnostics using quantitative real-time PCR detection of *Erwinia amylovora* chromosomal DNA. *Plant Pathology*, 58: 872–881.
- Powney, R., Beer, S., Plummer, K., Luck, J. y Rodoni, B. 2011a. The specificity of PCR-based protocols for detection of *Erwinia amylovora*. *Australian Plant Pathology*, 40: 87–97.
- Powney, R., Smits, T.H., Sawbridge, T., Frey, B., Blom, J., Frey, J.E., Plummer, K.M., Beer, S.V., Luck, J., Duffy, B. y Rodoni, B. 2011b. Genome sequence of an *Erwinia amylovora* strain with pathogenicity restricted to *Rubus* plants. *Journal of Bacteriology*, 193: 785–786.
- Rhim, S-L., Völksch, B., Gardan, L., Paulin, J-P., Langlotz, C., Kim, S-L. y Geider, K. 1999. *Erwinia pyrifoliae*, an *Erwinia* species different from *Erwinia amylovora*, causes a necrotic disease of Asian pear trees. *Plant Pathology*, 48: 514–520.
- Roselló, M., Peñalver, J., Llop, P., Gorris, M.T., Charter, R., Cambra, M. y López, M.M. 2006. Identification of an *Erwinia* sp. different from *Erwinia amylovora* and responsible for necrosis on pear blossoms. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 28: 1–12.
- Sasser, M. 1990. Identification of bacteria through fatty acid analysis. En F. Klement, K. Rudolf y D.C. Sands, eds. *Methods in phytobacteriology*, págs. 199–204. Budapest, Akademiai Kiadó.
- Starr, M.P., Cardona, C. y Folsom, D. 1951. Bacterial fire blight of raspberry. *Phytopathology*, 41: 9515–9559.
- Stöger, A., Schaffer, J. y Ruppitsch, W. 2006. A rapid and sensitive method for direct detection of *Erwinia amylovora* in symptomatic and asymptomatic plant tissues by polymerase chain reaction. *Journal of Phytopathology*, 154: 469–473.
- Tanii A., Tamura, O. y Ozaki, M. 1981. The causal agent of a fire blight-like disease. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 47: 102.
- Taylor, R.K., Guilford, P.J., Clark, R.G., Hale, C.N. y Forster, R.L.S. 2001. Detection of *Erwinia amylovora* in plant material using novel polymerase chain reaction (PCR) primers. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 29: 35–43.

- Temple, T.N. y Johnson, K.B.** 2011. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of *Erwinia amylovora* on pear and apple fruit flowers. *Plant Disease*, 95: 423–430.
- Temple, T.N., Stockwell, V.O. y Johnson, K.** 2008. Development of a rapid detection method for *Erwinia amylovora* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Acta Horticulturae*, 793: 497–504.
- Thomson, S.V.** 2000. Epidemiology of fire blight. En J. Vanneste, ed. *Fire blight: The disease and its causative agent*, *Erwinia amylovora*, págs. 9–36. Wallingford (Reino Unido), CABI. 370 págs.
- Van der Zwet, T.** 2004. Present worldwide distribution of fire blight and closely related diseases. *Acta Horticulturae*, 704: 35.
- Van der Zwet, T. y Beer, S.** 1995. Fire blight: Its nature, prevention and control. A practical guide to integrated disease management. *USDA Agricultural Information Bulletin*, núm. 631.
- Van der Zwet, T. y Keil, H.L.** 1979. *Fire blight: A bacterial disease of rosaceous plants*. United States Department of Agriculture (USDA) Handbook 510. Washington, DC (Estados Unidos), USDA.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A. y Lane, D.J.** 1991. 16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2): 697–703.
- Weller, S.A., Elphinstone, J.G., Smith, N.C., Boonham, N., y Stead, D.E.** 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* strains with a quantitative multiplex, real-time, fluorogenic PCR (TaqMan) assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2853–2858
- Wells, J.M., van der Zwet, T. y Hale, C.N.** 1994. Differentiation of *Erwinia* species in the “*amylovora*” group by class analysis of cellular fatty acids. *Journal of Phytopathology*, 140: 31–38.

9. Figuras

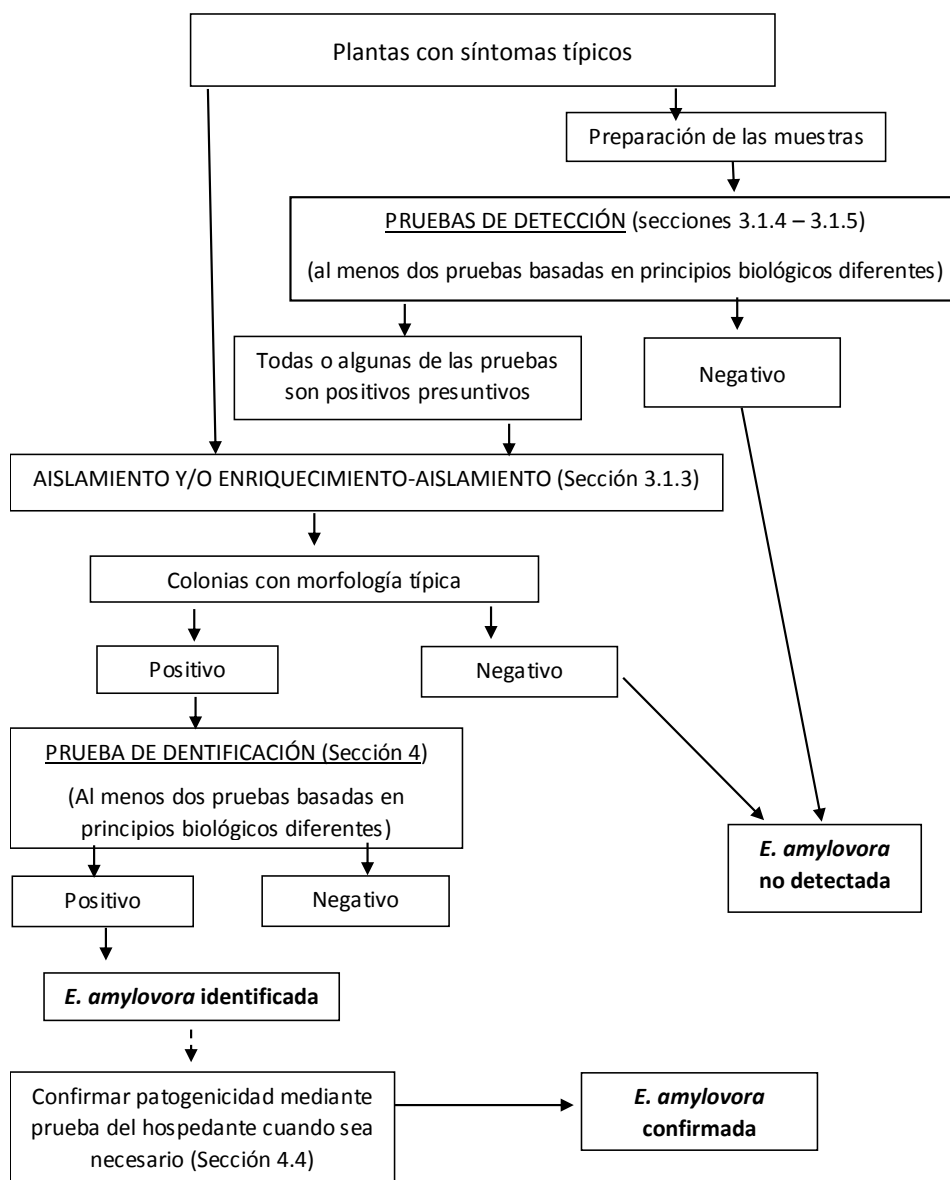


Figura 1. Diagrama de flujo para la identificación de *Erwinia amylovora* en muestras con síntomas de fuego bacteriano.

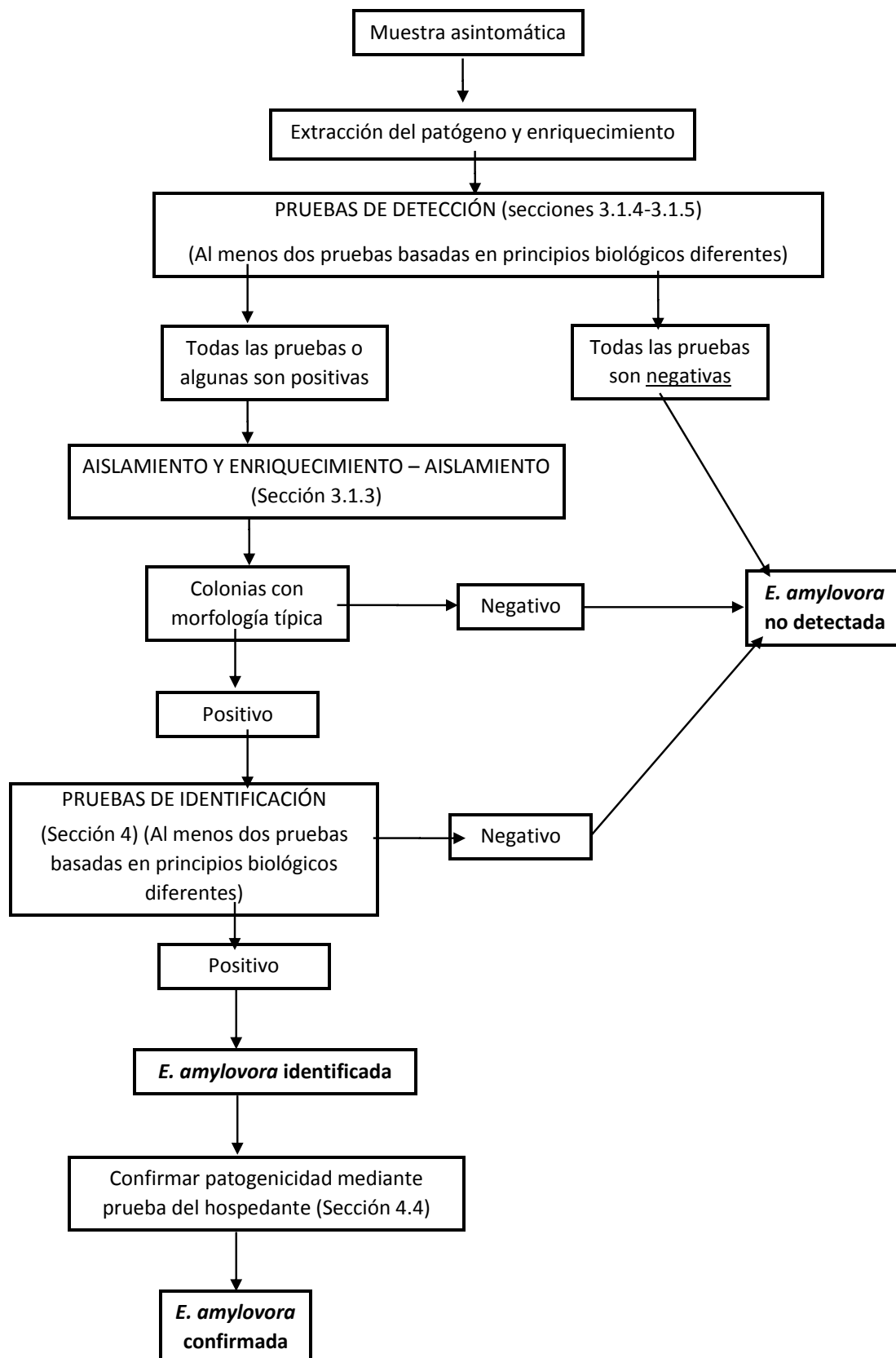


Figura 2. Diagrama de flujo para la identificación de *Erwinia amylovora* en muestras asintomáticas.

* Es razonable tener serias sospechas de la presencia de *E. amylovora* en la muestra, pero para su identificación es preciso aislar el patógeno a partir de nuevas muestras y proceder a la subsiguiente identificación de la bacteria.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

- 2004-11: El CN presentó la cuestión original: *Erwinia amylovora* (2004-009).
- 2006-04: La CMF-1 añadió esta cuestión al tema del programa de trabajo: Bacterias.
- 2012-11: Primer proyecto presentado en la reunión del GTPD.
- 2013-06: Proyecto presentado en la reunión del GTPD.
- 2014-05: El CN aprobó presentar el texto para consulta a los miembros (2014_eSC_May_08).
- 2014-07: Consulta a los miembros.
- 2015-12: El grupo de redacción del PD examina el proyecto de DP y las respuestas a las observaciones de los miembros.
- 2016-03: Decisión del GTPD por vía electrónica de que aprobar la adopción del PD (2016_eTPDP_Mar_01).
- 2016-05: El CN decidió por medios electrónicos someter la aprobación del PD al período de notificación de 45 días (2016_eSC_May_12).
- 2016-07: Período de notificación del PD.
- 2016-08: El CN aprobó el PD en nombre de la CMF (no se recibieron objeciones).
- NIMF 27. Anexo 13.** *Erwinia amylovora* (2016). Roma, CIPF, FAO.
- Última actualización de la historia de publicación: 2016-10.

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia
Tel. +39 06 5705 4812 - Fax: +39 06 5705 4819
Correo electrónico: ippc@fao.org - Web: www.ippc.int



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

PROTOSCOLOS DE DIAGNÓSTICO

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 27

NIMF 27
ANEXO 14

ESP

PD 14: *Xanthomonas fragariae*

Producido por la Secretaría de la Convención Internacional
de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

Este protocolo de diagnóstico fue adoptado por el Comité de Normas, en nombre de la Comisión de Medidas Fitosanitarias, en agosto de 2016.

Este anexo es una parte prescriptiva de la NIMF 27.

NIMF 27

Protocolos de diagnóstico para plagas reglamentadas

PD 14: *Xanthomonas fragariae*

Adoptado en 2016; publicado en 2016

ÍNDICE

1.	Información sobre la plaga.....	3
2.	Información taxonómica	3
3.	Detección.....	3
3.1	Síntomas	4
3.2	Muestreo	5
3.3	Preparación de las muestras	5
3.4	Pruebas de detección rápida.....	6
3.5	Aislamiento.....	6
3.5.1	Método 1 de aislamiento.....	6
3.5.2	Método 2 de aislamiento.....	7
3.5.3	Interpretación de los resultados del aislamiento	7
3.6	Ensayo con hojas desprendidas y enriquecimiento biológico.....	7
3.6.1	Ensayo con hojas desprendidas.....	7
3.6.2	Interpretación de los resultados del ensayo con hojas desprendidas	8
3.6.3	Aislamiento mediante enriquecimiento <i>in planta</i>	8
3.6.4	PCR con enriquecimiento <i>in vitro</i> a partir del ensayo con hojas desprendidas	8
3.7	ELISA.....	9
3.7.1	ELISA indirecto.....	9
3.7.2	DAS-ELISA.....	9
3.7.3	Interpretación de los resultados del ELISA	10
3.8	Inmunofluorescencia.....	10
3.8.1	Interpretación de los resultados de la inmunofluorescencia	11
3.9	PCR.....	11
3.9.1	Extracción de ADN.....	12
3.9.2	PCR múltiple	12
3.9.2.1	Protocolo de Hartung y Pooler (1997).....	12
3.9.3	PCR anidada	13
3.9.3.1	Protocolo de Moltmann y Zimmerman (2005)	13
3.9.3.2	Protocolo de Roberts <i>et al.</i> (1996).....	14
3.9.4	PCR en tiempo real.....	14

3.9.4.1	Protocolo de Weller <i>et al.</i> (2007).....	14
3.9.5	Interpretación de los resultados de la PCR	15
3.9.5.1	PCR convencional.....	15
3.9.5.2	PCR en tiempo real.....	15
3.9.6	Controles para las pruebas moleculares.....	15
4.	Identificación.....	16
4.1	Pruebas bioquímicas y fisiológicas.....	16
4.1.1	Caracterización de los ésteres metílicos de ácidos grasos	20
4.1.1.1	Interpretación de los resultados de la caracterización de los EMAG	20
4.2	Pruebas serológicas.....	20
4.2.1	Inmunofluorescencia.....	20
4.2.2	ELISA.....	20
4.3	Pruebas moleculares	20
4.3.1	PCR.....	20
4.3.2	REP-PCR	21
4.3.2.1	Interpretación de los resultados de la REP-PCR.....	21
4.3.3	Análisis de secuencias multilocus.....	21
4.4	Pruebas de patogenicidad.....	22
4.4.1	Procedimiento general de inoculación	22
4.4.1.1	Interpretación de los resultados de las pruebas de patogenicidad.....	22
4.4.2	Reacción de hipersensibilidad	22
4.4.2.1	Interpretación de los resultados de la prueba de reacción de hipersensibilidad.....	23
5.	Registros.....	23
6.	Puntos de contacto para obtener información adicional.....	23
7.	Agradecimientos.....	23
8.	Referencias	24
9	Figuras.....	28

1. Información sobre la plaga

Xanthomonas fragariae Kennedy y King, 1962 es el agente causal de la enfermedad bacteriana de la mancha angular de la hoja de la fresa. Se trata de una enfermedad prevalente principalmente en América del Norte que se observó por primera vez en los Estados Unidos de América en 1962 (Kennedy y King, 1962; Hildebrand *et al.*, 1967; Maas *et al.*, 1995); sin embargo, posteriormente se ha registrado en numerosas zonas de cultivo de fresa en todo el mundo, con inclusión de América del Sur y Europa (CAB International). *Fragaria* × *ananassa*, la fresa cultivada más difundida, es el principal hospedante de *X. fragariae*. Los cultivares comerciales varían en susceptibilidad y otras especies de *Fragaria*, como *F. chiloensis*, *F. virginiana* y *F. vesca*, así como *Potentilla fruticosa* y *P. glandulosa*, también son susceptibles. De las especies de *Fragaria*, solo *F. moschata* es inmune (Kennedy y King, 1962; Kennedy, 1965; Maas, 1998).

X. fragariae se transmite rápidamente a través de material de plantación asintomático con la infección latente. Las fuentes de inóculo de la infección primaria están infectadas, pero las plantas hijas que se desarrollan a partir de estolones de plantas de vivero infectadas y que se emplean para la plantación en campos de producción frutícola son en apariencia asintomáticas. Si bien *X. fragariae* no vive libre en el suelo, puede invernar en él en asociación con material vegetal infectado anteriormente y persistir por largos períodos de tiempo (Maas, 1998). Los residuos de hojas infectadas y las infecciones de la corona en los estolones utilizados para la plantación también son fuentes de inóculo de la infección primaria.

Los análisis de las cepas de *X. fragariae* aisladas en diversos momentos y lugares en todo el mundo indican que existe un cierto grado de diversidad genética y fenotípica entre ellas (Opgenorth *et al.*, 1996; Pooler *et al.*, 1996; Roberts *et al.*, 1996). Asimismo, se han observado algunas diferencias de patogenicidad entre las cepas de *X. fragariae* (Maas *et al.*, 2000). No obstante, hay un alto grado de parecido entre las cepas patógenas de este fitopatógeno y no se ha encontrado ninguna correlación entre los genotipos o los fenotipos y el origen geográfico de las cepas. En consecuencia, es probable que las cepas de *X. fragariae* que se conocen actualmente en todo el mundo constituyan una población clonal. Para evitar la propagación del patógeno y el avance de la enfermedad, es fundamental detectar de forma temprana la presencia de *X. fragariae* en el material de plantación de la fresa infectado pero asintomático.

2. Información taxonómica

Nombre:	<i>Xanthomonas fragariae</i> Kennedy y King, 1962
Sinónimos:	ninguno
Posición taxonómica:	Bacteria, Proteobacteria, Gammaproteobacteria, Xanthomonadales, Xanthomonadaceae
Nombre común:	enfermedad bacteriana de la mancha angular de la hoja

Nota: *Xanthomonas fragariae* Kennedy y King, 1962 es un miembro de la subdivisión gamma de las proteobacterias (Stackebrandt *et al.*, 1988), fenón 3 de Van den Mooter y Swings (1990), grupo 1 según la homología ADN-ADN de Rademaker *et al.* (2000) y grupo 1 de ADN de Rademaker *et al.* (2005).

3. Detección

El diagnóstico de la enfermedad bacteriana de la mancha angular de la hoja de la fresa causada por *X. fragariae* se basa en la inspección para detectar síntomas diagnósticos, el aislamiento directo o indirecto del patógeno y pruebas serológicas (como la inmunofluorescencia indirecta, el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas [ELISA] y los métodos moleculares). Se han elaborado varias pruebas de detección mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), cada una de las cuales detecta diferentes loci del genoma de *X. fragariae* (Roberts *et al.*, 1996; Zimmerman *et al.*, 2004; Weller *et al.*, 2007; Vandroemme

et al., 2008; Turechek *et al.*, 2008; Vermunt y van Beuningen, 2008). Estas pruebas pueden emplearse para confirmar la presencia de *X. fragariae* en material de plantación sintomático y varias de ellas también se han utilizado para detectar infecciones latentes causadas por *X. fragariae* (Mahuku y Goodwin, 1997; Zimmerman *et al.*, 2004; Moltman y Zimmerman, 2005). El ensayo con hojas desprendidas (Civerolo *et al.*, 1997a) es útil para hacer un diagnóstico de presunción de *X. fragariae* en los casos en que el aislamiento directo es muy lento o hay impedimentos para realizarlo. Los métodos descritos en el presente protocolo de diagnóstico, a excepción de la PCR anidada, han sido validados en un estudio de eficacia financiado por la Unión Europea (SMT-4-CT98-2252) (López *et al.*, 2005).

El aislamiento directo de *X. fragariae* es difícil, incluso en presencia de síntomas característicos y exudados bacterianos, porque la bacteria crece muy lentamente en medios nutritivos artificiales y se ve invadida con rapidez por bacterias saprófitas (Hazel y Civerolo 1980; López, *et al.*, 1985; Schaad *et al.*, 2001; Saddler y Bradbury, 2005). En López *et al.* (2005) se proporcionan procedimientos específicos para el aislamiento directo de *X. fragariae*. El enriquecimiento selectivo del patógeno *in planta* mediante la inoculación de extractos acuosos de tejido enfermo o que se sospecha infectado en hojas desprendidas de fresa puede facilitar el aislamiento *in vitro* de *X. fragariae* (Civerolo *et al.*, 1997a).

A continuación se presentan los procedimientos de detección de *X. fragariae* en plantas sintomáticas y asintomáticas.

En este protocolo de diagnóstico, los métodos (incluidas las referencias a nombres comerciales) se describen según se han publicado, ya que en la publicación se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad o reproducibilidad logrado. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

3.1 Síntomas

Inicialmente aparecen manchas (lesiones) angulares de aspecto mojado (1-4 mm de diámetro) delimitadas por los nervios de menor calibre en el envés de las hojas. En las fases iniciales de la infección, estas manchas son apenas visibles en el campo y presentan un color amarillo translúcido cuando se observan con luz transmitida. Las lesiones se agrandan y se fusionan y al final aparecen en el haz de las hojas en forma de manchas angulares de aspecto mojado que se tornan de color marrón rojizo (Figura 1). En condiciones de humedad o cuando la humedad relativa es elevada (Figura 2), las lesiones segregan exudados bacterianos viscosos que son de color blanco, lechoso, crema o amarillo. Los exudados se secan formando masas de aspecto escamoso, opacas y blanquecinas o plateadas en un primer momento, que posteriormente adquieren un color marrón (Janse, 2005). A medida que avanza la enfermedad, las lesiones de color marrón rojizo se fusionan y necrosan. La lesión necrótica podrá rasgarse o desprenderse de la hoja, de forma que las hojas enfermas podrán parecer deterioradas o desgarradas. Las infecciones foliares a menudo se extienden y forman lesiones alargadas que siguen los nervios principales. En fases avanzadas del curso de la enfermedad, el tejido foliar que rodea antiguas lesiones fusionadas de color marrón rojizo suele ser clorótico (Kennedy y King, 1962; EPPO, 1997; Rat, 1993; Maas, 1998).

A diferencia de lo que ocurre con la enfermedad de la mancha angular de la hoja de la fresa, la enfermedad bacteriana de las hojas de la fresa causada por *X. arboricola* pv. *fragariae* se caracteriza por presentar pequeñas lesiones de color marrón rojizo en el envés que no tienen aspecto mojado ni son translúcidas; manchas rojizas en el haz; lesiones que se fusionan para formar grandes manchas marrones y de aspecto seco rodeadas por un halo clorótico; y grandes lesiones marrones en forma de V a lo largo del margen foliar, el nervio principal central y los nervios secundarios (Janse *et al.*, 2001). Asimismo, las lesiones de la enfermedad bacteriana de las hojas no están asociadas con exudados bacterianos (Janse *et al.*, 2001). En fases avanzadas, la enfermedad bacteriana de la mancha angular de la hoja es difícil de distinguir de las

enfermedades fúngicas que producen manchas foliares, como la mancha púrpura de la fresa (*Mycosphaerella fragariae*) y la antracnosis de la fresa (*Diplocarpon earliana*) (Janse *et al.*, 2001).

Las infecciones graves causadas por *X. fragariae* podrán propagarse desde las hojas hasta la corona, donde se forman zonas diferenciadas de aspecto mojado (Hildebrand *et al.*, 1967). Las infecciones graves de la corona pueden reducir el vigor de las plantas, que podrán doblarse y en último término morir. Las hojas que crecen a partir de coronas infectadas presentan a menudo infección sistémica con lesiones que aparecen a lo largo de los nervios en la base de las hojas. Cuando se corta la corona transversalmente, los haces vasculares podrán emitir un exudado bacteriano.

En casos graves, *X. fragariae* podrá atacar a las flores y provocar necrosis en las mismas, si bien no infecta directamente a los frutos (Gubler *et al.*, 1999). Las lesiones de aspecto mojado que afectan al tejido del cáliz infectado tienen un aspecto parecido al de las lesiones foliares (Figura 3). El tejido del fruto que se encuentra cerca de tejido del cáliz infectado también podrá adquirir un aspecto mojado.

X. fragariae puede propagarse sistémicamente a las raíces, coronas y estolones sin que estos muestren síntomas evidentes (Stefani *et al.*, 1989; Milholland *et al.*, 1996; Mahuku y Goodwin, 1997). Esta infección podrá conducir a la aparición de zonas de aspecto mojado en la base de las hojas nuevas y a que poco después la planta se doble y muera de forma repentina. Este tipo de infección no se observa con frecuencia.

3.2 Muestreo

Para diagnosticar la enfermedad bacteriana de la mancha angular de la hoja, se prefiere utilizar como muestras hojas con manchas en fase inicial de aspecto mojado de plantas sintomáticas, puesto que facilitan el aislamiento de *X. fragariae*. Otra posibilidad es utilizar hojas con manchas secas y con o sin exudado. También debería analizarse el tejido de la corona.

X. fragariae es una bacteria de crecimiento muy lento y ni la siembra en placas ni las pruebas serológicas son adecuadas para detectar pequeñas cantidades de bacterias en plantas asintomáticas. Para estas últimas se recomienda seleccionar varias plantas enteras y extraer pequeñas porciones de tejido de las hojas, pecíolos y coronas (EPPO, 2006). Estos tejidos pueden emplearse directamente para realizar los análisis basados en la PCR que se describen en la Sección 3.9.

Una vez recogidas, las muestras no deberían dejarse en condiciones de humedad. Preferiblemente, se deberían secar parcialmente, envolver en papel, introducir en bolsas de polietileno y mantener en un lugar fresco. Asimismo, deberían transportarse en un recipiente bien aislado, almacenarse a 4 °C una vez hayan llegado a su destino y procesarse a la mayor brevedad posible.

3.3 Preparación de las muestras

Para las plantas sintomáticas, la superficie del tejido de las hojas y de los tallos puede desinfectarse limpiándola con etanol al 70%. Si las plantas muestran síntomas vasculares, se recomienda eliminar las raíces y las hojas, y mantener la corona y los pecíolos. Se enjuaga la muestra en agua de grifo para eliminar el exceso de tierra y a continuación se desinfecta sumergiendo la muestra en etanol al 70% durante 1 minuto. A continuación, se enjuaga tres veces en agua destilada estéril. Se añaden aproximadamente 0,1 g de tejido foliar o de la corona y de los pecíolos por muestra a 9 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) (8 g de NaCl; 0,2 g de KCl; 2,9 g de Na₂HPO₄·12H₂O; 0,2 g de KH₂PO₄; agua destilada hasta 1 litro; pH 7,2). Se homogeneiza el tejido vegetal y se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Para las plantas asintomáticas, se recoge de forma aleatoria una muestra de 30 g, se introduce en 150 ml de PBS y se remueve la mezcla durante 30 minutos. Se puede utilizar un líquido de lavado directamente para la detección o centrifugar la mezcla a 10 000 g durante 10 minutos y, a continuación, volver a suspender el sedimento en agua destilada estéril para obtener un volumen final de 5 ml. Se deja reposar durante 15 minutos y, a continuación, se recoge la fracción acuosa superior y se preparan las diluciones (1:10 y

1:100) en agua destilada estéril (EPPO, 2006). Posteriormente, estos macerados de muestras de tejido se utilizan en el ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA), la inmunofluorescencia y la PCR.

3.4 Pruebas de detección rápida

Las pruebas de detección rápida facilitan la detección de *X. fragariae*. Como la bacteria es muy difícil de aislar, para confirmar la detección de *X. fragariae* se deberían obtener resultados positivos en tres pruebas (ELISA, inmunofluorescencia y PCR). El ensayo con hojas desprendidas es una prueba complementaria que permite confirmar la presencia de *X. fragariae* viable. La correlación entre el ELISA, la PCR y el ensayo con hojas desprendidas suele ser elevada (Civerolo *et al.*, 1997b).

3.5 Aislamiento

El aislamiento directo de *X. fragariae* es difícil, incluso en presencia de síntomas y exudados, porque esta bacteria crece muy lentamente en medios nutritivos artificiales y es superada con rapidez por bacterias saprófitas. Se recomienda utilizar dos medios de cultivo para el aislamiento. El aislamiento da mejores resultados en un medio de cultivo de Wilbrink con nitrato (Wilbrink-N) (10 g de sacarosa; 5 g de peptona L85; Oxoid¹); 0,5 g de K₂HPO₄; 0,25 g de MgSO₄·7H₂O; 0,25 g de NaNO₃; 15 g de agar purificado; agua destilada hasta 1 litro; pH 7,0-7,2) (Koike, 1965). También se recomienda, a pesar de ser menos eficaz, el aislamiento en medio de cultivo YPGA (5 g de extracto de levadura; 5 g de peptona Bacto¹; 10 g de glucosa; 15 g de agar purificado; agua destilada hasta 1 litro; ajustar el pH a 7,0-7,2 y añadir 5 ml de cicloheximida esterilizada mediante filtros [solución de reserva: 5 g de cicloheximida por 100 ml de etanol puro] tras la esterilización en autoclave). Para las bacterias más difíciles, podrá utilizarse un tercer medio de cultivo, el SPA (20 g de sacarosa; 5 g de peptona Bacto¹; 0,5 g de K₂HPO₄; 0,25 g de MgSO₄·7H₂O; 15 g de agar purificado; agua destilada hasta 1 litro; pH 7,2-7,4) (Hayward, 1960). Se recomienda utilizar agar purificado (Oxoid¹ o Difco¹) para todos los medios de cultivo, ya que las impurezas de otros tipos de agar comerciales pueden inhibir el crecimiento de *X. fragariae*.

3.5.1 Método 1 de aislamiento

Para plantas sintomáticas, se seleccionan hojas con lesiones en fase inicial y se desinfecta la superficie de las mismas con etanol al 70%. El aislamiento se debería realizar a partir de lesiones en fase inicial de aspecto mojado o a partir de los márgenes de lesiones más antiguas mediante la escisión de una pequeña porción de tejido (0,5-1,0 cm²) con un bisturí estéril y afilado.

Se homogeneiza el tejido en unos pocos milímetros de agua destilada estéril o PBS, y se incuba a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 10-15 minutos. Se siembran cantidades iguales (50-100 µl) de los macerados de tejido lesionado, así como de las diluciones (1:10, 1:100, 1:1 000 y 1:10 000) en la superficie de los medios de cultivo Wilbrink-N, YPGA o SPA. Con vistas a comprobar la calidad de los medios y comparar las características de crecimiento de las colonias bacterianas que crezcan en ellos, también se deberían sembrar cantidades parecidas de las suspensiones de *X. fragariae* (10⁴, 10⁵ y 10⁶ unidades formadoras de colonias (ufc)/ml. Se incuban las placas a 25-27 °C durante siete días y se marcan las colonias que aparezcan a los dos o tres días, ya que no serán de *X. fragariae*. Se realizan las lecturas definitivas tras siete o 10 días de incubación a 25-27 °C.

Inicialmente, las colonias de *X. fragariae* en el medio de Wilbrink son blanquecinas y al cabo de cuatro o seis días se tornan de color amarillo claro y adoptan un aspecto circular, ligeramente convexo, liso y

¹ En este protocolo de diagnóstico, los métodos (con inclusión de las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en la publicación se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad o reproducibilidad adquirido. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los distintos laboratorios, siempre que estén adecuadamente validadas.

mucoide. En los medios de cultivo YPGA y SPA, la morfología de las colonias es parecida a la de las que crecen en el medio Wilbrink-N, salvo que son de un color amarillo más intenso.

3.5.2 Método 2 de aislamiento

Se cortan fragmentos de tejido foliar que presenten lesiones angulares de aspecto mojado inequívocas y se lavan en 50 ml de agua de grifo y unas gotas de Tween 20. Los fragmentos de hojas se incuban a temperatura ambiente durante 10 minutos y posteriormente se enjuagan en agua destilada y se secan con papel absorbente. La superficie de los fragmentos de hojas puede desinfectarse en etanol al 70% durante 5 s y secarse con papel absorbente. Los fragmentos se cortan en trozos más pequeños (1-4 mm²) y se introducen en 5 ml de PBS 0,1 M. Se remueve y se incuba a temperatura ambiente durante 30 minutos para que *X. fragariae* se transfiera al sobrenadante. Se prepara una dilución 1:100 del sobrenadante en PBS 0,1 M y se añaden 20 µl de la muestra sin diluir y la dilución 1:100 a distintos pocillos de un portaobjetos de microscopio. Se fijan las células bacterianas al portaobjetos mediante flameado para proceder al análisis por inmunofluorescencia (Sección 3.8). Se introducen 200 µl de sobrenadante sin diluir en un microtubo para el posterior análisis mediante PCR (Sección 3.9) y 1 ml de sobrenadante sin diluir en un segundo microtubo, se añade glicerol para obtener una concentración final de al menos el 20% y se almacenan las soluciones entre -20 y -80 °C con fines de referencia. El sobrenadante restante puede utilizarse para el aislamiento mediante la siembra de la dilución descrita anteriormente y para la inoculación de hojas de fresa desprendidas (Sección 3.6).

Además de los métodos de aislamiento 1 y 2 descritos, *X. fragariae* se podrá aislar a partir de tejido sembrando directamente cantidades iguales de exudado fresco procedente de lesiones en los medios de cultivo Wilbrink-N, YPGA, SPA u otros medios de uso común.

3.5.3 Interpretación de los resultados del aislamiento

El aislamiento es negativo si transcurridos siete días no se observan colonias bacterianas con la morfología característica de las colonias de *X. fragariae* en ninguno de los tres medios de cultivo (siempre que el crecimiento no se haya visto inhibido debido a competencia o antagonismo), mientras que en los controles positivos sí se encuentran colonias típicas de *X. fragariae*.

El aislamiento es positivo si se han aislado presuntas colonias de *X. fragariae* en al menos uno de los medios de cultivo empleados.

Teniendo en cuenta que el aislamiento de esta bacteria es frecuentemente negativo, si el ELISA y las pruebas de inmunofluorescencia y PCR son positivos, la muestra debería considerarse presuntamente positiva para *X. fragariae*, en espera de la identificación definitiva (Sección 4). Cabe esperar que los mejores resultados de aislamiento se obtengan utilizando extractos de lesiones jóvenes preparados al momento. El aislamiento en medios de cultivo también puede llevarse a cabo mediante enriquecimiento *in planta*, como se describe en la Sección 3.6.

3.6 Ensayo con hojas desprendidas y enriquecimiento biológico

3.6.1 Ensayo con hojas desprendidas

Las preparaciones de las muestras de tejido (Sección 3.3) pueden emplearse para inocular hojas desprendidas de fresa tan pronto como estén preparadas en tampón de extracción o agua destilada (Civerolo *et al.*, 1997a). Se utilizan hojas jóvenes (de entre 7 y 14 días) de plantas de un cultivar susceptible de infección por *X. fragariae* (por ejemplo, Camarosa, Pajaro, Seascape, Selva o Korona) que se hayan cultivado en invernadero y no estén infectadas por *X. fragariae*. La calidad de las hojas y su edad son consideraciones esenciales para que la prueba dé buenos resultados.

Se cortan asépticamente tres hojas (cada una con tres folíolos) de plantas cultivadas de invernadero y se elimina la porción basal de los pecíolos, los cuales se introducirán inmediatamente en tubos de cristal llenos de agua estéril.

Como control positivo se prepara una suspensión de una cepa de referencia de *X. fragariae* (Cuadro 3) con una concentración de 10^5 - 10^6 ufc/ml en PBS o agua destilada. Como control negativo se utilizarán PBS o agua destilada. Se hacen infiltraciones en cuatro puntos de la superficie abaxial de cada folíolo (dos a cada lado del nervio principal) utilizando una jeringuilla sin aguja (3 cc de plástico desechable BD¹, orificio de 2 mm).

Se enjuaga el exceso de inóculo con agua estéril 1 hora después de la inoculación. Se introducen las hojas con sus pecíolos en los tubos en una cámara húmeda (humedad relativa 95-100%) y se incuban a 18-20 °C con un fotoperíodo de 12 horas durante 21 días. La temperatura e iluminación especificadas durante la incubación son esenciales para evitar falsos resultados negativos. Las hojas inoculadas no deberían presentar lesiones visibles y el aspecto mojado provocado por la infiltración del inóculo debería haber desaparecido al cabo de 24 horas.

Unos pocos días después de la inoculación, comienzan a aparecer síntomas específicos (lesiones angulares oscuras y de aspecto mojado) parecidos a los observados en las hojas infectadas de forma natural. Los síntomas se registran cada dos días durante 14-21 días.

3.6.2 Interpretación de los resultados del ensayo con hojas desprendidas

El ensayo con hojas desprendidas es negativo si transcurridos 21 días no aparecen en las hojas las manchas angulares típicas de *X. fragariae* (de aspecto oscuro y mojado si se observan con luz reflejada; de color amarillo si se observan con luz transmitida) ni se observan halos cloróticos en ninguno de los puntos inoculados. En los puntos en los que se hayan infiltrado los controles negativos no deberían aparecer manchas de aspecto mojado que presenten color amarillo traslúcido si se observan con luz transmitida (Civerolo *et al.*, 1997a).

El ensayo con hojas desprendidas es positivo si transcurridos entre 10 y 21 días aparecen las manchas angulares en las hojas típicas de *X. fragariae* (de aspecto oscuro y mojado si se observan con luz reflejada; de color amarillo si se observan con luz transmitida) en los puntos de inoculación. Estas manchas deberían tener un aspecto similar a las que aparecen en los puntos en los que se hayan infiltrado las suspensiones de control positivas. En los puntos en los que se hayan infiltrado los controles negativos no deberían aparecer manchas de aspecto mojado que presenten color amarillo traslúcido si se observan con luz transmitida (Civerolo *et al.*, 1997a).

3.6.3 Aislamiento mediante enriquecimiento *in planta*

Para el aislamiento en medios nutritivos se selecciona una hoja por muestra de las que se hayan inoculado en el ensayo con hojas desprendidas, una vez transcurridas 48 horas desde la inoculación. Por cada hoja desprendida que se haya inoculado, se cortan 10-12 pequeños discos de 0,5 cm de diámetro de cada punto inoculado y se muelen en 4,5 ml de PBS. Se preparan diluciones como si se tratara de un aislamiento directo (Sección 3.5) en PBS y se siembran 50 µl de cada dilución en la superficie del medio de Wilbrink-N por triplicado. Se incuban las placas a 25-27 °C y se comprueba la presencia de colonias parecidas a las de *X. fragariae* al cabo de entre cinco y siete días.

3.6.4 PCR con enriquecimiento *in vitro* a partir del ensayo con hojas desprendidas

Se utilizan placas con medio de cultivo Wilbrink-N sembradas con extractos preparados para el aislamiento posterior al enriquecimiento *in planta* descrito en la Sección 3.6.3 después de haberlas incubado a 25-27 °C durante cuatro días. Se lava la superficie del medio con 3-5 ml de PBS para arrastrar las colonias

bacterianas, que se utilizarán en el análisis de la PCR (Sección 3.9). Esta es una modificación de la PCR con bioenriquecimiento descrita por Schaad *et al.* (1995).

3.7 ELISA

Se ha validado la especificidad del ELISA con dos sueros con anticuerpos policlonales contra *X. fragariae* disponibles comercialmente (López *et al.*, 2005). Rowhani *et al.* (1994) mostraron que el ELISA que utiliza anticuerpos policlonales podía detectar de forma específica 34 cepas de *X. fragariae* y que los anticuerpos no presentaban reacciones cruzadas con otros patovares estrechamente relacionados ni con otras bacterias aisladas a partir de plantas de fresa. Se ha calculado que la sensibilidad del ELISA para detectar *X. fragariae* es de 10^5 ufc/ml (Rowhani *et al.*, 1994; Civerolo *et al.*, 1997b).

Se utilizan suspensiones preparadas a partir de cultivos puros de *X. fragariae* y de una cepa que no sea de *X. fragariae* como controles positivos y negativos en cada placa de micropocillos. Se recomienda determinar la dilución de trabajo apropiada de cada antisuero policlonal.

3.7.1 ELISA indirecto

Se mezclan 210 µl de cada muestra de la prueba, de la suspensión positiva de *X. fragariae* (aproximadamente 10^9 ufc/ml), de la suspensión negativa de una cepa que no sea de *X. fragariae* (aproximadamente 10^9 ufc/ml) y del control negativo (suspensión de material sano de fresas, véase a continuación) con 210 µl de tampón de recubrimiento (1,59 g de Na_2CO_3 ; 2,93 g de NaHCO_3 ; agua destilada hasta 1 litro). Se añaden 200 µl de cada mezcla a dos pocillos de una placa de micropocillos (PolySorp [Nunc¹] o equivalente). Para el control negativo de material vegetal, se muelen aproximadamente 0,1 g de hojas, peciolo o coronas de fresa sanos en 0,9 ml de PBS y se añaden 0,9 ml de tampón de recubrimiento.

Se incuba la placa a 4 °C durante una noche. Se lava la placa tres veces con PBS que contenga 0,05% de Tween 20 (PBS-T) (8 g de NaCl; 0,2 g de KCl; 0,2 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$; 2,9 g de KH_2PO_4 ; 500 µl de Tween 20, agua destilada hasta 1 litro). Tras el lavado, se añaden 200 µl de tampón de bloqueo (PBS con un 1% de seroalbúmina bovina [BSA] o leche desnatada en polvo) a cada uno de los pocillos de la prueba y se incuban a 37 °C durante 1 hora. Se lava la placa tres veces con PBS-T.

Siguiendo las instrucciones del fabricante, se prepara la dilución de trabajo apropiada del suero con anticuerpos contra *X. fragariae* en PBS y se añaden 200 µl a cada pocillo de la prueba. Se incuba la placa a 37 °C durante 2 horas y posteriormente se lava tres veces con PBS-T. Se añaden a cada pocillo 200 µl del conjugado de anticuerpos y enzima a la dilución apropiada en PBS que contenga 0,2% de BSA. Se incuban la placa a 37 °C durante 1 hora y posteriormente se lava cuatro veces con PBS-T. Se añaden a cada pocillo de la prueba 200 µl de sustrato recién preparado (1 mg de p-nitrofenilfosfato/ml de tampón sustrato, pH 9,8). Se incuban a temperatura ambiente y a oscuras durante 15, 30 y 60 minutos, y se lee la absorbancia a 405 nm.

3.7.2 DAS-ELISA

Para realizar un ELISA en fase doble de anticuerpos (DAS-ELISA), se añaden 200 µl de una dilución apropiada de suero con anticuerpos de *X. fragariae* en el tampón de recubrimiento a cada pocillo de dos placas de micropocillos (PolySorp [Nunc¹] o equivalente). Se incuban a 37 °C durante 4 horas y se lavan los pocillos tres veces con PBS-T. Se añaden 200 µl de cada muestra de tejido macerado y de un control positivo y uno negativo, según se describe respecto del ELISA indirecto (Sección 3.7.1), a dos pocillos de cada placa y se incuban a 4 °C durante una noche. Tras lavar las placas tres veces con PBS-T, se añaden 200 µl de una dilución apropiada del conjugado enzima-anticuerpo en PBS que contenga un 0,2% de BSA en cada pocillo. Se incuban a 37 °C durante 3 horas. Tras lavar las placas cuatro veces con PBS-T, se añaden 200 µl de sustrato recién preparado (1 mg de p-nitrofenilfosfato/ml amortiguador de sustrato, pH 9,8) a

cada pocillo de la prueba. Se incuban a temperatura ambiente y a oscuras durante 15, 30 y 60 minutos, y se lee la absorbancia a 405 nm.

3.7.3 Interpretación de los resultados del ELISA

El ELISA es negativo si el promedio de las lecturas de absorbancia de los pocillos duplicados que contienen el macerado de tejido es $< 2\times$ el promedio de las lecturas de absorbancia media de los pocillos de control negativo que contienen macerado de tejido de fresa sano.

El ELISA es positivo si 1) el promedio de las lecturas de absorbancia de los pocillos duplicados que contienen la muestra es $> 2\times$ el promedio de las lecturas de absorbancia de los pocillos de control negativo que contienen macerado de tejido de fresa sano; y 2) el promedio de las lecturas de absorbancia de los pocillos de control positivo es $> 2\times$ del promedio de las lecturas de absorbancia de los pocillos de control negativo.

Si los pocillos de control positivo dan negativo para ELISA, quiere decir que la prueba no se ha realizado correctamente o que los reactivos se han degradado o han caducado.

Si los pocillos de control negativo dan resultados positivos significa que se ha producido una contaminación cruzada o una unión inespecífica de los anticuerpos. La prueba debería repetirse con tejido fresco u otro tejido sobre la base de un principio diferente.

3.8 Inmunofluorescencia

Los procedimientos de inmunofluorescencia para identificar bacterias patógenas se encuentran en De Boer (1990) y EPPO (2009). Se han validado tres sueros con anticuerpos policlonales contra *X. fragariae* (Cuadro 1) utilizando inmunoglobulinas anti-conejo conjugadas con isotiocianato de fluoresceína (López *et al.*, 2005). La inmunofluorescencia con estos anticuerpos permite detectar 10^3 - 10^4 ufc/ml de *X. fragariae* en tejido de fresa (Calzolari y Mazzucchi, 1989).

Las muestras de la prueba son diluciones de macerados de tejidos (1:10, 1:100 y 1:1 000) y suspensiones (10^6 ufc/ml) de una cepa positiva de *X. fragariae* y de una cepa negativa que no sea de *X. fragariae*, en PBS o agua destilada. Los controles negativos deberían ser extractos de tejido vegetal sano.

Se añaden porciones (20 μ l) de muestras de la prueba y las suspensiones de control positivo y negativo a distintos pocillos de un portaobjetos de microscopio. Se secan las preparaciones y se fijan mediante flameado, o remojando los portaobjetos en acetona durante 10 minutos y secándolos después al aire. Los portaobjetos se pueden almacenar a -20 °C por el tiempo necesario. Se diluye el principal anticuerpo de *X. fragariae* en PBS que contenga un 10% de leche desnatada en polvo. Se selecciona la menor concentración de anticuerpos que proporcione una buena tinción cuando haya como máximo 100 células positivas por campo del microscopio. Es aconsejable utilizar las dos diluciones del anticuerpo para detectar reacciones cruzadas con otras bacterias. Se introducen 20 μ l del anticuerpo primario en cada pocillo y se incuban los portaobjetos en una cámara húmeda a temperatura ambiente o a 37 °C durante 30-60 minutos. Se enjuagan los portaobjetos con PBS y se lavan sumergiéndolos en el mismo tampón durante 10 minutos. Se diluye el anticuerpo secundario conjugado con isotiocianato de fluoresceína en PBS (las diluciones óptimas suelen situarse entre 1:20 y 1:200). Se cubren los pocillos de los portaobjetos con el anticuerpo secundario y se incuban en una cámara húmeda a temperatura ambiente o a 37 °C durante 30-60 minutos. Se repite el paso de lavado y posterior secado de los portaobjetos. Se montan los cubreobjetos sobre los portaobjetos con medio de montaje (90 ml de glicerol y 10 ml de PBS) que contenga 1 mg de p -fenilendiamina/ml y se observan los portaobjetos con una gota de aceite de inmersión a 500-1 000 aumentos. Se cuentan las células que presenten fluorescencia y tengan un tamaño parecido al de las células de la cepa de referencia de *X. fragariae* (López *et al.*, 2005).

3.8.1 Interpretación de los resultados de la inmunofluorescencia

La prueba de inmunofluorescencia es negativa si se observan células de color verde fluorescente con la morfología característica de *X. fragariae* en los pocillos de control positivo, pero no en los de la muestra de la prueba ni en los de control negativo.

La prueba de inmunofluorescencia es positiva si se observan células de color verde fluorescente con la morfología característica de *X. fragariae* en los pocillos de control positivo y de la muestra de la prueba, pero no en los de control negativo.

Como se considera que el límite para que una detección mediante inmunofluorescencia sea fiable es de 10^3 células/ml, se entenderá que las muestras con una concentración superior a esta cifra son positivas (De Boer, 1990). La prueba de inmunofluorescencia podrá considerarse no concluyente para muestras con $< 10^3$ células/ml. En este caso, deberían realizarse más pruebas o volverse a preparar las muestras. Las muestras con una gran cantidad de células que no sean fluorescentes o lo sean de forma débil en comparación con el control positivo deberán volver a someterse a la prueba con diferentes diluciones de anticuerpos u otra fuente de anticuerpos.

Cuadro 1. Anticuerpos policlonales de *Xanthomonas fragariae* que actualmente se recomienda utilizar en pruebas serológicas.

Fuente	Usos recomendados [†]
Neogen Europe ¹	Detección mediante inmunofluorescencia o ensayo de inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos
Plant Research International, Wageningen UR	Detección mediante inmunofluorescencia
Bioreba AG ¹	Detección mediante ensayo de inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos

[†] Validado en un estudio sobre la eficacia de las pruebas en un proyecto financiado por la Unión Europea (SMT-4-CT98-2252) (López *et al.*, 2005).

3.9 PCR

Los métodos de PCR descritos en el presente protocolo de diagnóstico, a excepción de la PCR anidada elaborada por Zimmerman *et al.* (2004), han sido validados en un estudio sobre la eficacia de las pruebas financiado por la Unión Europea (SMT-4-CT98-2252) (López *et al.*, 2005). Se ha observado que los protocolos de la PCR anidada aumentan la sensibilidad hasta 100 veces en comparación con los protocolos de PCR convencional (Roberts *et al.*, 1996; Zimmerman *et al.*, 2004).

Se han validado los protocolos de PCR y de extracción de ADN de muestras vegetales descritos en Pooler *et al.* (1996) y en Hartung y Pooler (1997) (López *et al.*, 2005). Un protocolo modificado que utiliza el equipo de PCR para tejidos vegetales REExtract-N-Amp (Sigma¹) también ha resultado apropiado en la extracción de ADN antes de la amplificación para analizar una gran cantidad de muestras extraídas de hojas asintomáticas (Stöger y Ruppitsch, 2004). Existen otros equipos comerciales para extraer ADN y para realizar la PCR anidada y la PCR con otros cebadores (Roberts *et al.*, 1996); no obstante, aún no han sido validados (López *et al.*, 2005).

Se han descrito dos pruebas de PCR en tiempo real sensibles para la detección de *X. fragariae* (Weller *et al.*, 2007; Vandroemme *et al.*, 2008) en tejido de fresa. La prueba de la PCR en tiempo real creada por Weller *et al.* (2007) también diferenciará entre *X. fragariae* y *X. arboricola* pv. *fragariae*. La PCR en tiempo real descrita por Weller *et al.* (2007) utiliza cebadores diseñados dentro de las regiones del gen *gyrB*, que es exclusivo de *X. fragariae*, y del gen *pep*, que lo es de *X. arboricola* pv. *fragariae*. La PCR en tiempo real creada por Vandroemme *et al.* (2008), que da lugar a un amplicón de 41 pares de bases (pb), utiliza cebadores diseñados a partir del amplicón de 550 pb generado con la PCR descrita por Pooler *et*

al. (1996). Estos métodos son potencialmente útiles para detectar bajas concentraciones de *X. fragariae* en infecciones asintomáticas o latentes.

3.9.1 Extracción de ADN

El equipo DNeasy Plant Mini (Qiagen¹), modificado para la extracción de ADN de organismos fitoplásmicos (López *et al.*, 2005), proporcionó los mejores resultados durante la prueba interlaboratorios financiada por la Unión Europea (SMT-4-CT98-2252).

Para la extracción de ADN se utilizan 250 µl de macerado de muestra de tejido; material sano de fresa preparado de forma parecida y PBS estéril o agua ultrapura como controles negativos; y una suspensión de un cultivo puro de *X. fragariae* como control positivo. Se añaden 250 µl de tampón de extracción de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) (50 ml de Tris-HCl 1 M; 50 ml de ácido etilendiaminotetraacético [EDTA] 5 M; 40,9 g de NaCl; 5 g de polivinilpirrolidona [PVP]-40; 12,5 g de bromuro de cetiltrimetilamonio; agua destilada hasta 500 ml) y 4 µl de RNasa A (100 mg/ml). Se mezcla mediante inversión suave cinco veces y se incuba 10 minutos a 65°C con mezclado ocasional mediante inversión. A continuación, se siguen las instrucciones del fabricante hasta el paso de elución del ADN.

Para eluir el ADN, se añaden 100 µl de Tris-HCl 10 mM, pH 9 (precalentado a 65 °C) a la columna y se centrifuga a $\geq 6\ 000$ g durante 1 minuto. Se añaden otros 100 µl de Tris-HCl y se repite la centrifugación. Se ajusta la solución de ADN a un volumen total de 300 µl con tampón Tris-EDTA (TE) y se añaden 200 µl de acetato de amonio 5 M y 1 ml de etanol puro. Se mezcla bien y se incuba a -20 °C entre 1 h y toda una noche. Tras la incubación, se centrifuga a 17 000 g durante 10 minutos. Se desecha el sobrenadante, se lava el sedimento de ADN en 1 ml de etanol puro y se centrifuga a 16 000 g durante 5 minutos. Se desecha el sobrenadante, se lava el sedimento de ADN en 500 µl de etanol al 80% y se centrifuga a 16 000 g durante 5 minutos. Se desecha el sobrenadante. Una vez secado el sedimento, se vuelve a suspender en 50 µl de agua destilada estéril.

3.9.2 PCR múltiple

3.9.2.1 Protocolo de Hartung y Pooler (1997)

La especificidad de este protocolo se confirmó en un estudio con 30 cepas aisladas de *X. fragariae*, 36 de *X. campestris* (que representan 19 patovares) y 62 de bacterias epífitas que se aíslan con frecuencia a partir de la fresa. Solo se detectó *X. fragariae* (en todas las cepas aisladas). Esta PCR múltiple permitió detectar 10^3 ufc/ml en tejido vegetal (Pooler *et al.*, 1996; Hartung y Pooler 1997).

Los tres conjuntos de cebadores descritos por Pooler *et al.* (1996) son:

241A: 5'-GCCCGACGCGAGTTGAATC-3'

241B: 5'-GCCCGACGCGCTACAGACTC-3'

245A: 5'-CGCGTGCCAGTGGAGATCC-3'

245B: 5'-CGCGTGCCAGAACTAGCAG-3'

295A: 5'-CGTTCCTGGCCGATTAATAG-3'

295B: 5'-CGCGTTCCTGCGTTTTTTT CG-3'

La PCR se efectúa en 25 µl de mezclas de reacción que contienen 2,5 µl de tampón (PerkinElmer¹) (que contiene 15 mM de MgCl₂); 5,0 µl de desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP) 1 mM; 2,0 µl de cada uno de los seis cebadores (0,4 µM); 0,5 µl de polimerasa de ADN Taq; y 5,0 µl de muestra de ADN. Los parámetros de los ciclos consisten en una fase inicial de activación de 95 °C durante 15 minutos; 35 ciclos de 95 °C durante 1 minuto, 57 °C durante 1 minuto y 72 °C durante 1 minuto; y un paso final de extensión de 72 °C durante 7 minutos. Los productos de la PCR se analizan mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% en 0,5× de tampón de Tris-acetato-EDTA (TAE) (EPPO, 2006).

Los amplicones resultantes de la PCR específicos de *X. fragariae* están constituidos por 300, 550 y 615 pb, según lo descrito anteriormente (Pooler *et al.*, 1996; Hartung y Pooler, 1997). Generalmente, la banda de 300 pb está presente cuando los extractos proceden de plantas infectadas con *X. fragariae*, pero ocasionalmente podrán aparecer las otras bandas (550 y 650 pb).

Los cebadores 245A y 245B pueden emplearse en una PCR convencional, utilizando el procedimiento descrito anteriormente, y producirán un amplicón de 300 pb.

3.9.3 PCR anidada

La PCR anidada descrita por Moltmann y Zimmerman (2005) que utiliza los cebadores diseñados por Pooler *et al.* (1996) y Zimmerman *et al.* (2004) se recomienda para diagnosticar la presencia de *X. fragariae* en plantas de fresa sintomáticas, así como para analizar plantas de fresa asintomáticas (plantas frigo y frescas). La PCR anidada descrita por Roberts *et al.* (1996) ofrece un método alternativo de confirmación.

3.9.3.1 Protocolo de Moltmann y Zimmerman (2005)

La especificidad de este protocolo se confirmó en un estudio con 14 cepas aisladas de *X. fragariae*, 30 de *X. campestris* (que representan 14 patovares) y 17 de bacterias sin identificar asociadas con las hojas de fresa. Asimismo, la especificidad del conjunto de cebadores externos fue comprobada por Hartung y Pooler (1997) (Sección 3.9.2.1). No se observaron reacciones cruzadas con las cepas aisladas analizadas. Esta PCR se ha utilizado con buenos resultados para analizar muestras recogidas durante un estudio de plantas de fresa y plantas importadas (Moltmann y Zimmerman, 2005). Ello permitió detectar 200 fg de ADN por reacción y fue 100 veces más sensible que la PCR convencional (Zimmerman *et al.*, 2004).

Se incuba tejido de las hojas, los pecíolos y la corona (30-70 g) en 10-20 ml de tampón de fosfato de sodio 0,01 M (pH 7,2) por gramo de tejido a temperatura ambiente durante una noche. Se extrae el ADN y se analiza mediante la PCR única y anidada descrita por Zimmerman *et al.* (2004).

Los cebadores son:

245A: 5'-CGCGTGCCAGTGGAGATCC-3'

245B: 5'-CGCGTGCCAGAACTAGCAG-3'

245.5: 5'-GGTCCAGTGGAGATCCTGTG-3'

245.267: 5'-GTTTTTCGTTACGCTGAGTACTG-3'

La PCR se efectúa en 25 µl de mezclas de reacción que contienen tampón de PCR (10 mM de Tris-HCl; 50 mM de KCl; Nonidet P-40 al 0,08%; 2,5 mM de MgCl₂); 0,2 mM de cada dNTP; 0,2 µM de cada cebador; y 0,5 µl de polimerasa de ADN Taq. Los parámetros de los ciclos consisten en una fase inicial de desnaturalización a 94 °C durante 4 minutos; 35 ciclos de 94 °C durante 1 minuto, 68 °C durante 1 minuto y 72 °C durante 1 minuto; y una fase final de extensión de 72 °C durante 7 minutos. Para la PCR anidada, tras la amplificación del ADN con los cebadores de la primera ronda (245A y 245B), se utiliza 1 µl del producto de la primera PCR como molde en una segunda PCR con los cebadores internos 245.5 y 245.267. Se utilizan los mismos parámetros de los ciclos, con la salvedad de que la temperatura de hibridación es de 62 °C para los cebadores internos 245.5 y 245.267. Los productos de la PCR se analizan mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2% en 0,5× de tampón TAE.

Los amplicones resultantes de la PCR específicos de *X. fragariae* están constituidos por 300 pb en la primera ronda de PCR utilizando los cebadores 245A y 245B, y por 286 pb en la PCR anidada utilizando los cebadores internos 245.5 y 245.267. Con elevadas concentraciones del molde, a veces es posible amplificar un segundo fragmento de aproximadamente 650 pb.

3.9.3.2 Protocolo de Roberts *et al.* (1996)

La especificidad de este protocolo se confirmó en un estudio con 30 cepas aisladas de *X. fragariae*, 17 de *X. campestris* (que representan 16 patovares) y nueve de xantomonas no patógenas aisladas a partir de la fresa. No se observaron reacciones cruzadas con las cepas aisladas analizadas. Esta PCR anidada permitió detectar aproximadamente 18 células de *X. fragariae* en el tejido vegetal (Roberts *et al.*, 1996).

Los cebadores utilizados en la PCR semianidada descritos por Roberts *et al.* (1996) son:

XF9: 5'-TGGGCCATGCCGGTGGAACTGTGTGG-3'

XF11: 5'-TACCCAGCCGTCGCAGACGACCGG-3'

XF12: 5'-TCCCAGCAACCCAGATCCG-3'

La PCR se efectúa en 25 µl de mezclas de reacción que contienen tampón de PCR (10 mM de Tris-HCl; 50 mM de KCl; 1,5 mM de MgCl₂); 0,2 mM de cada dNTP; 0,2 µM de cada cebador; y 0,5 µl de polimerasa de ADN Taq. Los parámetros de los ciclos consisten en una fase inicial de desnaturalización a 95 °C durante 2 minutos; 30 ciclos de 95 °C durante 30 segundos, 65 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 45 segundos; y una fase final de extensión de 72 °C durante 5 minutos. Para la PCR semianidada, tras la amplificación del ADN con los cebadores de la primera ronda (XF9 y XF11), se utilizan 3 µl de producto de la primera PCR como molde en una segunda PCR con los cebadores XF9 y XF12. Se realizan los mismos parámetros de los ciclos que se han descrito para la primera ronda, salvo que la temperatura de hibridación es de 58 °C. Los productos de la PCR se analizan mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% en 0,5× de tampón TAE.

Los amplicones resultantes de la PCR específicos de *X. fragariae* están constituidos por 537 pb en la primera ronda de PCR utilizando los cebadores XF9 y XF11, y por 458 pb en la PCR semianidada utilizando los cebadores XF9 y XF12.

3.9.4 PCR en tiempo real

3.9.4.1 Protocolo de Weller *et al.* (2007)

La especificidad de este protocolo se confirmó en un estudio con 10 cepas aisladas de *X. fragariae* y 24 de *Xanthomonas* (que representan 12 especies y 17 patovares). Solo se detectó *X. fragariae* (en todas las cepas aisladas). Esta PCR en tiempo real permitió detectar 10³ ufc por disco foliar (Weller *et al.*, 2007). Este protocolo ha sido validado de nuevo por un laboratorio en los Países Bajos; los datos de la validación se pueden consultar en la base de datos de la Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas (OEPP, EPPO por sus siglas en inglés) sobre conocimientos diagnósticos (<http://dc.eppo.int/validationlist.php>).

Los cebadores, basados en secuencias del gen *gyrB* y la sonda TaqMan, marcada con enlaces covalentes en el extremo 5' con el colorante indicador JOE y en el extremo 3' con el colorante inhibidor TAMRA, son:

Xf *gyrB*-F: 5'-CCG CAG CGA CGC TGA TC-3'

Xf *gyrB*-R: 5'-ACG CCC ATT GGC AAC ACT TGA-3'

Xf *gyrB*-P: 5'-TCC GCA GGC ACA TGG GCG AAG AAT TC-3'

La PCR se efectúa añadiendo 4 µl de ADN molde a la mezcla de reacción que contiene 1× tampón TaqMan A (Applied Biosystems¹); 5,5 mM de MgCl₂; 200 µM de dNTP (Promega¹); 300 nM de cada cebador; 100 nM de sonda; y 0,63 U de polimerasa de ADN AmpliTaq Gold (Applied Biosystems¹). Los parámetros de los ciclos consisten en una fase inicial de activación de 2 minutos a 50 °C y posteriormente 15 minutos a 95 °C, seguidos de 40 ciclos de 10 segundos a 95 °C y 1 minuto a 60 °C.

3.9.5 Interpretación de los resultados de la PCR

3.9.5.1 PCR convencional

La prueba de la PCR es negativa si no se detecta ninguno de los amplicones específicos de *X. fragariae* del tamaño previsto en las muestras ni en los controles negativos, pero sí en todos los controles positivos.

La prueba de la PCR es positiva si se detecta al menos uno de los amplicones específicos de *X. fragariae* del tamaño previsto, siempre que no se haya amplificado a partir de ninguno de los controles negativos.

Podrá sospecharse inhibición de la PCR si se obtiene el amplicón previsto a partir del control positivo que contiene *X. fragariae* en agua, pero son negativos los resultados obtenidos en los controles positivos con *X. fragariae* en extracto vegetal. Se recomienda repetir la PCR con diluciones 1:10, 1:100 y 1:1 000 del extracto o repetir la extracción de ADN.

3.9.5.2 PCR en tiempo real

La prueba de la PCR en tiempo real solo se considerará válida si:

- el control positivo produce una curva de amplificación con los cebadores específicos del patógeno;
- no se observa ninguna curva de amplificación (esto es, el valor de ciclo umbral [Ct] es 40) con el control negativo de extracción ni con el control negativo de amplificación.

Si se recurre a cebadores COX de control interno, entonces el control negativo (si se utiliza) el control positivo y todas las muestras de la prueba deben producir una curva de amplificación. Si las muestras no producen una curva de amplificación con los cebadores de control, la causa puede ser, por ejemplo, que no se haya logrado extraer el ADN, que el ADN no se haya incluido en la mezcla de la reacción, que haya presencia de compuestos inhibidores de la PCR en el extracto de ADN o que el ácido nucleico se haya degradado.

Las muestras se considerarán positivas si producen una curva de amplificación típica. Debe verificarse el valor de ciclo umbral en cada laboratorio cuando la prueba se realice por primera vez.

3.9.6 Controles para las pruebas moleculares

Para considerar fidedigno el resultado de las pruebas, en cada serie de aislamiento de ácidos nucleicos y de amplificación del ácido nucleico de la plaga objetivo o el ácido nucleico objetivo se deberían tener en cuenta los controles adecuados, que dependerán del tipo de prueba utilizada y del grado de certidumbre necesario. Para la PCR deberían utilizarse, como mínimo, un control positivo de ácido nucleico, un control interno y un control negativo de amplificación (control sin molde).

Los controles positivos deberían prepararse en una zona diferente de la que se emplee para analizar las muestras.

Control positivo de ácido nucleico. Este control se utiliza para hacer un seguimiento de la eficiencia de la amplificación mediante PCR. Se podrán utilizar el ácido nucleico previamente preparado (almacenado), el ADN del genoma completo o un control de síntesis (por ejemplo, un producto de PCR clonado). Para este protocolo, se recomienda utilizar un cultivo puro de células de *X. fragariae* (10^4 - 10^6 ufc/ml) como control positivo de ácido nucleico.

Control interno. Para la PCR convencional y en tiempo real, debería incorporarse como control al protocolo de PCR un gen de mantenimiento vegetal, por ejemplo el COX (Weller *et al.*, 2000), ADN ribosómico (ADNr) 16S (Weisberg *et al.*, 1991) o *GADPH* (Mafra *et al.*, 2012), a fin de descartar la posibilidad de falsos negativos debido a deficiencias en la extracción del ácido nucleico o a su degradación, o a la presencia de inhibidores de la PCR.

Control negativo de amplificación (control sin molde). Este control es necesario para la PCR convencional y en tiempo real a fin de descartar falsos positivos por contaminación durante la preparación de la mezcla de reacción. El agua de calidad apta para PCR que se utilizó para preparar la mezcla de reacción o PBS estéril se añade en la fase de amplificación.

Control positivo de extracción. Este control se utiliza para asegurar que el ácido nucleico del objetivo sea de calidad suficiente para la amplificación mediante PCR. El ácido nucleico se extrae de tejido infectado del hospedante o de tejido vegetal sano al que se ha añadido una concentración del objetivo cercana a la considerada como límite de detección del protocolo.

En el control positivo debería utilizarse aproximadamente una décima parte de la cantidad de tejido foliar utilizada por planta para la extracción de ADN. Para este protocolo, se recomienda utilizar macerados de tejido infectado por *X. fragariae* enriquecidos con 10^6 ufc/ml de una cepa de referencia de *X. fragariae* como controles positivos de extracción.

Para la PCR, deben adoptarse precauciones a fin de evitar la contaminación cruzada por aerosoles procedentes del control positivo o de las muestras positivas (especialmente en el caso de la PCR anidada). De ser necesario, el control positivo empleado en el laboratorio debería secuenciarse a fin de que esta secuencia se pueda comparar fácilmente con las obtenidas de los amplicones de la PCR del tamaño correcto. Otra opción es elaborar controles positivos sintéticos que contengan una secuencia conocida que, de nuevo, se puede comparar con los amplicones de la PCR del tamaño correcto.

Control negativo de extracción. Este control se utiliza para controlar la contaminación durante la extracción del ácido nucleico o la reacción cruzada con el tejido hospedante. El control está constituido por ácido nucleico que se extrae de tejido no infectado del hospedante y que posteriormente se amplifica, o por un extracto de muestra de tejido macerado que previamente había resultado negativo para la presencia de *X. fragariae*. Cuando se analicen muchas muestras positivas se recomienda utilizar varios controles.

4. Identificación

Los requisitos mínimos para la identificación son el aislamiento de la bacteria y la obtención de un resultado positivo con cada una de las tres técnicas siguientes: 1) ELISA indirecto, DAS-ELISA (Sección 3.7) o inmunofluorescencia (Sección 3.8) utilizando anticuerpos policlonales; 2) PCR (Sección 3.9); y 3) pruebas de patogenicidad mediante la inoculación de plantas de fresa hospedantes para cumplir los requisitos de los postulados de Koch (secciones 4.4 y 3.6). Se podrán efectuar pruebas complementarias (Sección 4) para caracterizar más detalladamente la cepa presente. Todas las pruebas deben incluir controles negativos y positivos.

En el caso de infecciones latentes o plantas asintomáticas, tras una prueba inicial de detección se debería aislar al patógeno y confirmar su identidad, incluso mediante pruebas de patogenicidad con el cultivo puro y el cumplimiento de los postulados de Koch.

4.1 Pruebas bioquímicas y fisiológicas

X. fragariae tiene las características de cultivo comunes de todas las xantomonas. Las células son bacilos gramnegativos aeróbicos y con un solo flagelo polar. No reducen los nitratos, dan positivo para la prueba de la catalasa y no utilizan la asparagina como única fuente de carbono y nitrógeno (Bradbury, 1977; Bradbury, 1984; Schaad *et al.*, 2001). La producción de ácidos a partir de carbohidratos es débil. Las colonias tienen un aspecto mucoso, convexo y brillante en los medios YPGA y Wilbrink-N (Dye, 1962; van den Mooter y Swings 1990; Swings *et al.*, 1993; Schaad *et al.*, 2001). Las especies de *Xanthomonas* se diferencian fácilmente de las de otros géneros de bacterias baciloformes, gramnegativas y aeróbicas y otras bacterias pigmentadas de amarillo por las características que se muestran en el Cuadro 2, descritas por Schaad *et al.* (2001).

Cuadro 2. Características fenotípicas para diferenciar *Xanthomonas* de *Pseudomonas* y de las bacterias *Flavobacterium* y *Pantoea pigmentadas de amarillo* (Schaad *et al.*, 2001).

Característica	<i>Xanthomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Pantoea</i>
Flagelación	1, polar	> 1, polar	Sin flagelos	Peritrica
Xantomonadina	Sí	No	No	No
Fluorescencia	No	Variable	No	No
Levano a partir de sacarosa	Sí	Variable	No	No
H ₂ S a partir de cisteína	Sí	No	No	No
Oxidasa	Negativo o débil	Variable	Positivo	Negativo
Fermentación	No	No	No	Sí
Crecimiento en cloruro de trifeniltetrazolio al 0,1%	No	Sí	Sí	Sí

Se recomienda el uso de las cepas de referencia de *X. fragariae* disponibles de diferentes colecciones que se presentan en el Cuadro 3 para su uso como controles positivos en pruebas bioquímicas y fisiológicas.

Cuadro 3. Cepas de referencia de *Xanthomonas fragariae*.

Cepa	Fuente
ATCC 33239	American Type Culture Collection, Manassas, Virginia (Estados Unidos).
CFBP 2510	Collection Française de Bactéries Phytopathogènes, INRA Station Phytobactériologie, Angers (Francia)
ICMP 5715	International Collection of Microorganisms from Plants, Auckland (Nueva Zelandia)
BCCM/LMG 708	Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organisms/Collection of the Laboratorium voor Microbiologie en Microbiele Genetica, Gante (Bélgica)
NCPPB 1469	National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, Central Science Laboratory, York, United Kingdom; Culture Collection of the Plant Protection Service (PD), Wageningen (Países Bajos)
NCPPB 1822	National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, Central Science Laboratory, York, United Kingdom; Culture Collection of the Plant Protection Service (PD), Wageningen (Países Bajos)

En el Cuadro 4 se muestran las características más relevantes o útiles para distinguir *X. fragariae* de otras especies de *Xanthomonas* (Schaad *et al.*, 2001; Janse *et al.*, 2001; EPPO, 2006).

Cuadro 4. Pruebas de diagnóstico para distinguir *Xanthomonas fragariae* del “grupo de *Xanthomonas campestris*” y *Xanthomonas arboricola* pv. *fragariae*.

Prueba	<i>X. fragariae</i>	<i>X. campestris</i>	<i>X. arboricola</i> pv. <i>fragariae</i>
Crecimiento a 35 °C	–	+	SD
Crecimiento en NaCl al 2%	–	+	+
Hidrólisis de la esculina	–	+	+
Licuefacción de la gelatina	+	V	+
Digestión de proteínas	–	+	SD
Hidrólisis de almidón	+	V	+
Producción de ureasa	–	–	–
Ácido de:			
arabinosa	–	+	SD
galactosa	–	+	+
trehalosa	–	+	SD
celobiosa	–	+	+

SD, sin determinar; V, reacción variable.

Fuente: Janse *et al.* (2001) y EPPO (2006).

La caracterización bioquímica de cepas aisladas puede realizarse utilizando sistemas comerciales, y la identificación de *X. fragariae* puede obtenerse mediante la determinación del perfil específico utilizando las tiras API 20 NE y API 50 CH (BioMérieux¹) (EPPO, 2006).

Con respecto a las tiras API 20 NE¹, se siguen las instrucciones del fabricante para preparar suspensiones a partir de cultivos de cepas de pruebas y de referencia que se hayan mantenido 48 horas en medio Wilbrink-N, y se inoculan las tiras. Se incuban a 25-26 °C y se leen los resultados a las 48 h y 96 horas. Las lecturas de la actividad enzimática transcurridas 48 horas y de la utilización del sustrato transcurridas 96 horas se comparan con las respectivas lecturas características de *X. fragariae* (Cuadro 5).

Cuadro 5. Reacciones de *Xanthomonas fragariae* en tiras API 20 NE.

Prueba	Reacción (tras 48 o 96 h) [†]
Fermentación de la glucosa	–
Arginina	–
Ureasa	–
Esculina	+
Gelatina	+ (débil)
P-nitrofenil-β-d-galactopiranosidasa (PNPG)	+
Asimilación de:	
glucosa	+
arabinosa	–
manosa	+
manitol	–
N-acetilglucosamina	+
maltosa	–
gluconato	–
caprato	–
adipato	–
malato	+
citrato	–
fenilacetato	–

[†] Reacciones comunes del 90% de las cepas analizadas de *X. fragariae* (López *et al.*, 2005).

Para utilizar las tiras API 50 CH¹, se preparan suspensiones bacterianas de DO_{600nm} = 1,0 en PBS. Se añade 1 ml de suspensión a 20 ml de medio modificado C (0,5 g de NH₄H₂PO₄; 0,5 g de K₂HPO₄; 0,2 g de MgSO₄; 5 g de NaCl; 1 g de extracto de levadura; 70 ml de azul de bromotimol (0,2%); agua destilada hasta 1 litro; pH 6,8) (Dye, 1962). Se siguen las instrucciones del fabricante para la inoculación de las tiras, que se incuban a 25 °C en condiciones aerobias. Las lecturas se realizan a los dos, tres y seis días. La utilización de los diferentes carbohidratos es indicada por la presencia de un color amarillo en los pocillos tras el período de incubación (Cuadro 6).

Cuadro 6. Reacciones de *Xanthomonas fragariae* en tiras API 50 CH.

Prueba [†]	Reacción (tras seis días)
D-arabinosa	Variable
Galactosa	+
D-glucosa	+
D-fructosa	+
D-manosa	+
N-acetilglucosamina	+
Esculina	+
Sacarosa	+
Trehalosa	+
D-lixosa	+
L-fucosa	+

[†] Los azúcares que quedan en las tiras de prueba API 50 CH no son utilizados por *X. fragariae* (López *et al.*, 2005).

4.1.1 Caracterización de los ésteres metílicos de ácidos grasos

Los ésteres metílicos de ácidos grasos (EMAG) asociados a las membranas citoplasmática y externa de las bacterias gramnegativas son útiles para la identificación bacteriana (Sasser, 1990). Los ácidos grasos concretos que podrán utilizarse para predecir el género de bacterias grampositivas y gramnegativas se indican en Dickstein *et al.* (2001). La identificación se basa en la comparación de los tipos y las cantidades relativas de ácidos grasos en un perfil de una cepa desconocida con los perfiles de una amplia variedad de cepas contenidas en una base de datos, como la biblioteca TSBA40. A fin de obtener resultados reproducibles, es fundamental que las bacterias crezcan en condiciones uniformes de tiempo, temperatura y medio nutritivo. Las cepas de *X. fragariae* contienen tres ácidos grasos principales: 16:1 ω -7 cis, 15:0 anteiso y 15:0 iso. Si bien algunas cepas de las pruebas muestran una buena correspondencia con el perfil de la biblioteca, otras tienen perfiles de ácidos grasos divergentes que no corresponden bien. En algunos estudios se ha puesto de manifiesto que las cepas de *X. fragariae* presentan una diversidad considerable y que se clasifican en al menos cuatro grupos en función de los ácidos grasos (Roberts *et al.*, 1998). Para determinar las características de los EMAG de *X. fragariae* se recomienda utilizar el método descrito por Roberts *et al.* (1998). Las cepas de la prueba se cultivan en agar de soja Trypticase™ a 24 °C durante 48 horas, se emplea un procedimiento de extracción de ácidos grasos y el extracto se analiza utilizando el sistema de identificación de microbios Sherlock (MIDI) (Newark, DE, Estados Unidos de América).

4.1.1.1 Interpretación de los resultados de la caracterización de los EMAG

La prueba para caracterizar a los EMAG es positiva si el perfil de la cepa de la prueba es idéntico al del control positivo o al de las cepas de referencia de *X. fragariae*. El análisis de ácidos grasos puede obtenerse de la empresa MIDI y la National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPBP) (Fera, York [Reino Unido]). La composición y las cantidades de los EMAG determinantes en *X. fragariae* y *X. arboricola* pv. *fragariae* se encuentran en Janse *et al.* (2001).

4.2 Pruebas serológicas

4.2.1 Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia puede emplearse para la identificación de cepas sospechosas de pertenecer a *X. fragariae*. Se prepara una suspensión de aproximadamente 10⁶ células/ml en PBS y se aplica el procedimiento de la inmunofluorescencia descrito en la Sección 3.8. En caso de que solo se realicen dos pruebas de identificación para obtener un diagnóstico rápido, no se utilizará ninguna otra prueba serológica además de esta.

4.2.2 ELISA

Se pueden emplear el ELISA indirecto o el DAS-ELISA (descritos en las secciones 3.7.1 y 3.7.2, respectivamente) para identificar cepas que se sospecha que pertenecen a *X. fragariae* aisladas a partir de material vegetal sospechoso de estar afectado por la enfermedad bacteriana de la mancha angular de la hoja. En caso de que solo se realicen dos pruebas de identificación para obtener un diagnóstico rápido, no se utilizará ninguna otra prueba serológica además de esta.

4.3 Pruebas moleculares

4.3.1 PCR

Los cultivos que se sospeche que pertenecen a *X. fragariae* pueden identificarse utilizando los protocolos de PCR descritos en la Sección 3.9.

4.3.2 REP-PCR

En Opgenorth *et al.* (1996) y Pooler *et al.* (1996) se describen protocolos de PCR basada en secuencias repetitivas palindrómicas extragénicas para identificar cepas de *X. fragariae*. Puede emplearse cualquiera de estos protocolos para identificar con fiabilidad cepas de la prueba como *X. fragariae*.

El protocolo de PCR que se ilustra a continuación se basa en la mezcla de reacción y las condiciones de amplificación descritas por Opgenorth *et al.* (1996).

Las cepas bacterianas que han de analizarse se toman de sembrados o colonias individuales en medio modificado para la enfermedad de Pierce (5,0 g de sacarosa; 2,5 g de Phytone (BD BBL¹); 10 g de Phytigel (BD BBL¹); agua destilada hasta 1 litro; se ajusta el pH a 7,5 con 2 N de HCl antes de introducir en el autoclave) (Opgenorth *et al.*, 1996). Pueden utilizarse diferentes medios de crecimiento; no obstante, deberían estandarizarse antes de su uso.

Los dos conjuntos de cebadores son:

REP1R-I: 5'-IIIICGICGICATCIGGC-3'

REP2-I: 5'-ICGICTTATCIGGCCTAC-3'

ERIC1R: 5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'

ERIC2: 5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'

El amortiguador de la reacción contiene 16,6 mM de (NH₄)₂SO₄; 67 mM de Tris-HCl (pH 8,8); 6,7 μM de EDTA; 30 mM de 2-mercaptoetanol; 0,17 mg de BSA/ml; 10% (v/v) de dimetilsulfóxido; 1,2 mM de cada dNTP; 62 pmol de cada cebador; y 2 U de polimerasa de ADN Taq. Con una punta de pipeta estéril de 10 μl (u otro utensilio adecuado) se transfieren las bacterias de una colonia representativa de la cepa de la prueba a un tubo de PCR que contenga 25 μl de mezcla de reacción. Los parámetros de los ciclos consisten en 6 min a 95 °C seguidos de 35 ciclos a 94 °C durante 1 min, 44 °C (cebadores REP) o 52 °C (cebadores ERIC) durante 1 min y 65 °C durante 8 min. Los ciclos de amplificación van seguidos de una fase final de extensión a 68 °C durante 16 min. Los productos de la amplificación (5-10 μl) se someten a electroforesis en un gel de agarosa al 1,5% (p/v). Los fragmentos de ADN amplificados se visualizan antes de teñirlos con bromuro de etidio mediante transiluminación ultravioleta.

4.3.2.1 Interpretación de los resultados de la REP-PCR

Las cepas bacterianas de la prueba se identifican como *X. fragariae* si tienen las mismas huellas genómicas que las de los genotipos REC y ERIC de las cepas de referencia (Pooler *et al.*, 1996) amplificadas en la misma PCR y utilizando el mismo gel. Debido al bajo grado de variabilidad genómica, podrán obtenerse unas pocas bandas polimórficas a partir de diferentes cepas de *X. fragariae*.

4.3.3 Análisis de secuencias multilocus

El uso del análisis de secuencias multilocus para la identificación específica de xantomonas (Parkinson *et al.*, 2007; Almeida *et al.*, 2010; Hamza *et al.*, 2012) está muy generalizado y podría emplearse para la identificación de *X. fragariae*, especialmente ahora que se dispone de un proyecto de secuencia genómica (Vandroemme *et al.*, 2013). Sin embargo, debería señalarse que esta metodología aún no ha sido validada para la identificación de *X. fragariae*. Los genes de mantenimiento (como *gyrB*, *rpoD*) se amplifican utilizando los cebadores y las condiciones descritas por Almeida *et al.* (2010) y Hamza *et al.* (2012). El análisis de secuencias multilocus consiste en la secuenciación de varios loci (por lo general, entre cuatro y ocho genes de mantenimiento) y la comparación de estas secuencias con las de referencia de especies de *Xanthomonas* depositadas en bases de datos de nucleótidos, como la base de datos de fitomicroorganismos Plant Associated and Environmental Microbes Database, PAMDB (<http://genome.ppws.vt.edu/cgi-bin/MLST/home.pl>) (Almeida *et al.*, 2010), el banco de datos de genotipos

microbianos MLVAbank (<http://mlva.u-psud.fr/mlvav4/genotyping/>) y la base de datos sobre bacterias Q-bank (<http://www.q-bank.eu/Bacteria/>).

4.4 Pruebas de patogenicidad

La identidad de las cepas bacterianas que se sospecha que pertenecen a *X. fragariae* debería confirmarse mediante una prueba de patogenicidad, cuando sea necesario. Las cepas seleccionadas a partir de placas de aislamiento o enriquecimiento deberían inocularse en hojas adheridas de plantas de fresa susceptibles (o en hojas desprendidas según se describe en la Sección 3.6). Se dispone de varios procedimientos: Hazel y Civerolo (1980), Civerolo *et al.* (1997a) y Hildebrand *et al.* (2005).

4.4.1 Procedimiento general de inoculación

Un procedimiento recomendado de inoculación consiste en utilizar plantas de fresa libres de *X. fragariae* de un cultivar susceptible (por ejemplo, Camarosa, Seascape, Selva, Korona, Pajaro). De ser posible, las plantas deberían mantenerse una noche en una cámara climática a 20-25 °C con una humedad relativa elevada (> 90%) y exponerse a la luz durante 4 horas antes de la inoculación para inducir la apertura de los estomas.

Se preparan las suspensiones bacterianas (10^6 ufc/ml) en agua destilada estéril o 10 mM de PBS. Se aplica el inóculo de cada cepa a la superficie abaxial de tres hojas trifoliadas de dos o tres plantas con una pistola pulverizadora de baja presión, un aerógrafo o un dispositivo parecido (por ejemplo los de DeVilbiss¹) para no producir empapamiento. La infección podrá facilitarse haciendo heridas en las hojas (por ejemplo, punzando la superficie abaxial con una aguja) antes de aplicar el inóculo, si bien no es indispensable hacerlo. Tras la inoculación, las plantas se incuban en una cámara mantenida a 20-25 °C con una humedad elevada (> 90%) y un fotoperíodo de 12-14 horas. Las suspensiones de células de una cepa de referencia de *X. fragariae* (preparadas de la misma forma que la cepa de la prueba) y agua destilada estéril o 10 mM de PBS sirven como controles positivos y negativos, respectivamente, y deberían inocularse en bandejas distintas. Se evalúa la evolución de las lesiones una vez por semana durante las tres semanas (21 días) posteriores a la inoculación. Se vuelve a aislar el patógeno a partir de estas lesiones, según se describe en la Sección 3.5, y se identifica mediante ELISA, prueba de inmunofluorescencia o PCR.

4.4.1.1 Interpretación de los resultados de las pruebas de patogenicidad

Si la suspensión bacteriana contiene *X. fragariae*, los síntomas iniciales consistirán en lesiones oscuras y de aspecto mojado (si se observan con luz reflejada) en el envés de las hojas que, si se observan con luz transmitida, muestran un aspecto amarillo translúcido. Posteriormente, estas lesiones se transforman en manchas necróticas rodeadas por un halo amarillo o necrosis marginal. Deberían aparecer los mismos síntomas en las hojas inoculadas con una cepa de referencia de *X. fragariae* (control positivo).

En cambio, no deberían aparecer en las hojas inoculadas con agua destilada estéril o 10 mM de PBS (control negativo).

4.4.2 Reacción de hipersensibilidad

Una reacción de hipersensibilidad en las hojas de tabaco puede ser una indicación de la presencia de genes *hrp*, y son muchas las bacterias patógenas que inducen una reacción positiva. Puede utilizarse un control positivo, por ejemplo una cepa de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Se utilizan plantas de los cultivares de tabaco Samsun o Xanthi que tengan más de cinco hojas. Se preparan suspensiones bacterianas de 10^9 ufc/ml ($DO_{600nm} = 1,0$) en agua destilada estéril o 10 mM de PBS y se infiltran en los espacios intercelulares a través de la superficie abaxial de hojas adultas con una jeringuilla dotada de una aguja de calibre G25.

4.4.2.1 Interpretación de los resultados de la prueba de reacción de hipersensibilidad

Si el tejido infiltrado se dobla y necrosa totalmente transcurridas 24-48 horas desde la inoculación, se registra como un resultado positivo. La mayoría de las cepas de *X. fragariae* son positivas para la prueba de la reacción de hipersensibilidad. No obstante, algunas podrán ser negativas, en especial después de haber estado almacenadas algún tiempo. No deberían aparecer reacciones parecidas en las hojas inoculadas con agua destilada estéril o 10 mM de PBS como control negativo.

5. Registros

Los registros y las pruebas deberían conservarse según lo descrito en la Sección 2.5 de la NIMF 27 (*Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas*).

En el supuesto de que otras partes contratantes pudieran verse afectadas por los resultados del diagnóstico, en particular en los casos de incumplimiento (NIMF 13: *Directrices para la notificación del incumplimiento y acción de emergencia*) y siempre que la plaga se detecte en una zona por primera vez, se deberán mantener los registros, las evidencias y otro tipo de material que se indican a continuación como mínimo durante un año, de tal forma que se garantice la trazabilidad: la muestra original, el cultivo o cultivos de la plaga, especímenes conservados o en preparaciones o materiales de las pruebas (como fotografías de los geles, impresiones de los resultados de los ELISA o amplicones de la PCR).

6. Puntos de contacto para obtener información adicional

Puede obtenerse información adicional sobre este protocolo en las siguientes fuentes:

Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (anteriormente), (Edwin L. Civerolo; correo electrónico: emciv@comcast.net).

Plant and Environmental Bacteriology, Fera, Sand Hutton, York YO41 1LZ, Reino Unido (John Elphinstone; correo electrónico: john.elphinstone@fera.gsi.gov.uk).

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carretera Moncada-Náquera km 4,5 - 46113 Moncada (Valencia, España) (María M. López; correo electrónico: mlopez@ivia.es; tel.: (+34) 963424000; fax: (+34) 963424001).

Podrán presentar una solicitud de revisión de un protocolo de diagnóstico las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF), las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) o los órganos auxiliares de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) por conducto de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (ippc@fao.org), que a su vez remitirá la solicitud al Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico (GTPD).

7. Agradecimientos

El primer proyecto de este protocolo fue redactado por E. L. Civerolo (Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos [anteriormente], Estados Unidos [véase la sección anterior]) y revisado por J. Elphinstone (Fera, Reino Unido [véase la sección anterior]) y M.M. López (IVIA, España [véase la sección anterior]).

8. Referencias

En el presente anexo se podrá hacer referencia a normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

- Almeida, N.F., Yan, S., Cai, R., Clarke, C.R., Morris, C.E., Schaad, N.W., Schuenzel, E.L., Lacy, G.H., Sun, X., Jones, J.B., Castillo, J.A., Bull, C.T., Leman, S., Guttman, D.S., Setubal, J.C. y Vinatzer, B.A.** 2010. PAMDB, a multilocus sequence typing and analysis database and website for plant-associated microbes. *Phytopathology*, 100(3): 208-215.
- Bradbury, J.F.** 1977. *Xanthomonas fragariae*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria No. 558. Wallingford (Reino Unido), CAB International.
- Bradbury, J.F.** 1984. *Xanthomonas*. En N.R. Krieg y J.G. Holt, eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 1. Baltimore, MD, Williams y Wilkins.
- CAB International.** Sin fecha. *Crop protection compendium*. Wallingford (Reino Unido), CAB International (disponible en <http://www.cabi.org/cpc/>, consultado el 16 de abril de 2016).
- Calzolari, A. y Mazzucchi, U.** 1989. Attempts to detect *Xanthomonas fragariae* in symptomless strawberry plants. *Acta Horticulturae*, 265: 601-604.
- Civerolo, E.L., Feliciano, A.J., Melvin, J.A. y Gubler, W.D.** 1997a. A detached leaf bioassay for *Xanthomonas fragariae*. En A. Mahadevin, ed. *Proceedings of the 9th International Conference of Plant Pathogenic Bacteria*, págs. 89-94. Universidad de Madras, Madras, India.
- Civerolo, E.L., Roberts, P., Feliciano, A.J., Melvin, J.A., Buchner, R.P., Jones, J.B. y Gubler, W.D.** 1997b. Comparative detection of *Xanthomonas fragariae* in strawberry plants by detached leaf inoculation, ELISA and PCR. En A. Mahadevin, ed. *Proceedings of the 9th International Conference of Plant Pathogenic Bacteria*, págs. 95-99. Universidad de Madras, Madras, India.
- De Boer, S.H.** 1990. Immunofluorescence for bacteria. En R. Hampton, E. Ball y S. De Boer, eds. *Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens: A laboratory manual*, págs. 295-298. St Paul, MN, APS Press.
- Dickstein, E.R., Jones, J.B. y Stead, D.E.** 2001. Automated techniques. En N.W. Schaad, J.B. Jones y W. Chun, eds. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*, págs. 343-358. St Paul, MN, APS Press.
- Dye, D.W.** 1962. The inadequacy of the usual determinative tests for the identification of *Xanthomonas* spp. *New Zealand Journal of Science*, 5(4): 393-416.
- EPPO** (Organización Europea y Mediterránea de Protección Fitosanitaria). 1997. Data sheet on *Xanthomonas fragariae*. En EPPO/CAB International (I.M. Smith, D.G. McNamara, P.R. Scott, y M. Holderness, eds), ed. *Quarantine pests for Europe*, 2ª ed., págs. 1124-1128. Wallingford (Reino Unido), CAB International.
- EPPO** (Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas). 2006. Protocolo de diagnóstico para *Xanthomonas fragariae*. Normas OEPP PM 7/27(65). *EPPO Bulletin*, 36: 135-144.
- EPPO** (Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas). 2009. Indirect immunofluorescence test for plant pathogenic bacteria. Normas OEPP PM 7/97(1). *EPPO Bulletin*, 39: 413-416.
- Gubler, W.D., Feliciano, A.J., Bordas, A., Civerolo, E.L., Melvin, J. y Welch, N.** 1999. *X. fragariae* and *C. cladosporioides* cause strawberry blossom blight. *California Agriculture*, 53: 26-28.
- Hamza, A.A., Robene-Soustrade, I., Jouen, E., Lefeuvre, P., Chiroleu, F., Fisher-Le Saux, M., Gagnevin, L. y Pruvost, O.** 2012. Multilocus sequence analysis- and amplified fragment length polymorphism-based characterization of xanthomonads associated with bacterial spot of tomato and

- pepper and their relatedness to *Xanthomonas* species. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(3): 183-190.
- Hartung, J.S. y Pooler, M.R.** 1997. Immunocapture and multiplexed-PCR assay for *Xanthomonas fragariae*, causal agent of angular leafspot disease. *Acta Horticulturae*, 439: 821-828.
- Hayward, C.** 1960. A method for characterizing *Pseudomonas solanacearum*. *Nature*, 186: 405-406.
- Hazel, W.J. y Civerolo, E.L.** 1980. Procedures for growth and inoculation of *Xanthomonas fragariae*, causal organism of angular leaf spot of strawberry. *Plant Disease*, 64: 178-181.
- Hildebrand, P.D., Braun, P.G., Renderos, W.E., Jamieson, A.R., McRae, K.B. y Binns, M.R.** 2005. A quantitative method for inoculating strawberry leaves with *Xanthomonas fragariae*, factors affecting infection, and cultivar reactions. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27: 16-24.
- Hildebrand, D.C., Schroth, M.N. y Wilhelm, S.** 1967. Systemic invasion of strawberry by *Xanthomonas fragariae* causing vascular collapse. *Phytopathology*, 57: 1260-1261.
- Janse, J.D.** 2005. Examples of bacterial diseases of cultivated and wild plants – *Xanthomonas fragariae*. En: *Phytobacteriology: principles and practice*. Capítulo 7. Wallingford (Reino Unido), CABI Publishing. págs. 224-225.
- Janse, J.D., Ross, M.P., Gorkink, R.F.J., Derks, J.H.J., Swings, J. Janssens, D. y Scortichini, M.** 2001. Bacterial leaf blight of strawberry (*Fragaria* (×) *ananassa*) caused by a pathovar of *Xanthomonas arboricola*, not similar to *Xanthomonas fragariae* Kennedy & King. Description of the causal organism as *Xanthomonas arboricola* pv. *fragariae* (pv. nov., comb. nov.). *Plant Pathology*, 50: 653-665.
- Kennedy, B.W.** 1965. Infection of Potentilla by *Xanthomonas fragariae*. *Plant Disease Reporter*, 49: 491-492.
- Kennedy, B.W. y King, T.H.** 1962. Angular leaf spot of strawberry caused by *Xanthomonas fragariae* sp. nov. *Phytopathology*, 52: 873-875.
- Koike, H.** 1965. The aluminum-cap method for testing sugarcane varieties against leaf scald disease. *Phytopathology*, 55: 317-319.
- López, M.M., Aramburu, J.M., Cambra, M. y Borrás, V.** 1985. [Detection and identification of *Xanthomonas fragariae* in Spain.] *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Serie Agrícola*, 28: 245-259 (en español).
- López, M.M., Dominguez, F., Morente, C., Salcedo, C.I., Olmos, A. y Civerolo, E.** 2005. *Diagnostic protocols for organisms harmful to plants: Diagnosis Xanthomonas fragariae*. SMT-4-CT98-2252.
- Maas, J.L.**, ed. 1998. *Compendium of strawberry diseases*, 2.^a ed. St Paul, MN, APS Press.
- Maas, J.L., Gouin-Behe, C., Hartung J.S. y Hokanson, S.C.** 2000. Sources of resistance for two differentially pathogenic strains of *Xanthomonas fragariae* in *Fragaria* genotypes. *Horticultural Science*, 35: 128-131.
- Maas, J.L., Pooler, M. y Galletta, G.J.** 1995. Bacterial angular leafspot disease of strawberry: Present status and prospects for control. *Advances in Strawberry Research*, 14: 18-24.
- Mafra, V., Kubo, K.S., Alves-Ferreira, M., Ribeiro-Alves, M., Stuart, R.M., Boava, L.P., Rodrigues, C.M. y Machado, M.A.** 2012. Reference genes for accurate transcript normalization in citrus genotypes under different experimental conditions. *PloS One*, 7(2), e31263.
- Mahuku, G.S. y Goodwin, P.H.** 1997. Presence of *Xanthomonas fragariae* in symptomless strawberry crowns in Ontario detected using a nested polymerase chain reaction (PCR). *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19: 366-370.
- Milholland, R.D., Ritchie, D.F., Dayking, M.E. y Gutierrez, W.A.** 1996. Multiplication and translocation of *Xanthomonas fragariae* in strawberry. *Advances in Strawberry Research*, 15: 13-17.

- Moltmann, E. y Zimmermann, C.** 2005. Detection of *Xanthomonas fragariae* in symptomless strawberry plants by nested PCR. *EPPO Bulletin*, 35: 53-54.
- Opgenorth, D.C., Smart, C.D., Louws, F.J., de Bruijn, F.J. y Kirkpatrick, B.C.** 1996. Identification of *Xanthomonas fragariae* field isolates by rep-PCR genomic fingerprinting. *Plant Disease*, 80: 868-873.
- Parkinson, N., Aritua, V., Heeney, J., Cowie, C., Bew, J. y Stead, D.** 2007. Phylogenetic analysis of *Xanthomonas* species by comparison of partial gyrase B gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(12): 2881-2887.
- Pooler, M.R., Ritchie, D.F. y Hartung, J.S.** 1996. Genetic relationships among strains of *Xanthomonas fragariae* based on random amplified polymorphic DNA PCR, repetitive extragenic palindromic PCR and enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR data and generation of multiplexed PCR primers useful for the identification of this phytopathogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 3121-3127.
- Rademaker, J.L.W., Hoste, B., Louws, F.J., Kersters, K., Swings, J., Vauterin, L., Vauterin, P. y De Bruijn, F.J.** 2000. Comparison of AFLP and rep-PCR genomic fingerprinting with DNA-DNA homology studies: *Xanthomonas* as a model system. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50: 665-677.
- Rademaker, J.L.W., Louws, F.J., Schultz, M.H., Rossbach, U., Vauterin, L., Swings, J. y de Bruijn, F.J.** 2005. A comprehensive species to strain taxonomic framework for *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 95: 1098-1111.
- Rat, B.** 1993. *Xanthomonas fragariae*: Causal agent of angular leaf spot of strawberry. En J.G. Swings y E.L. Civerolo, eds. *Xanthomonas*, págs. 69-70. Londres, Chapman and Hall.
- Roberts, P.D., Hodge, N.C., Bouzar, H., Jones, J.B., Stall, R.E., Berger, R.D. y Chase, A.R.** 1998. Relatedness of strains of *Xanthomonas fragariae* by restriction fragment length polymorphism, DNA-DNA reassociation, and fatty acid analyses. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 3961-3965.
- Roberts, P.D., Jones, J.B., Chandler, C.K., Stall, R.E. y Berger, R.D.** 1996. Survival of *Xanthomonas fragariae* on strawberry in summer nurseries in Florida detected by specific primers and nested PCR. *Plant Disease*, 80: 1283-1288.
- Rowhani, A., Feliciano, A.J., Lips, T. y Gubler, W.D.** 1994. Rapid identification of *Xanthomonas fragariae* in infected strawberry leaves by enzyme-linked immunosorbent assay. *Plant Disease*, 78: 248-250.
- Saddler, G.S. y Bradbury, J.F.** 2005. *Xanthomonas*. En G.M. Garrity, editor jefe; D.J. Brenner, N.R. Krieg y J.T. Stanley, eds Vol. 2. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2.^a ed., Vol. 2, Parte B, págs. 63-90. Nueva York, Springer.
- Sasser, M.** 1990. Identification of bacteria through fatty acid analysis. En Z. Klement, K. Rudolph & D.C. Sands, eds. *Methods in phytopathology*, págs. 200-204. Budapest, Akademiai Kiado.
- Schaad, N.W., Jones, J.B. y Lacy, G.H.** 2001. *Xanthomonas*. En N.W. Schaad, J.B. Jones y W. Chun, eds. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*, 3.^a ed., págs. 175-200. St Paul, MN, APS Press.
- Schaad, N.W., Tamaki, S., Hatziloukas, E. y Panapoulos, N.J.** 1995. A combined biological enzymatic amplification (Bio-PCR) technique to detect *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in bean seed extracts. *Phytopathology*, 85: 243-248.
- Stackebrandt, E., Murray, R.G.E. y Truper, H.G.** 1988. *Proteobacteria* classis nov., a name for the phylogenetic taxon that includes the "purple bacteria and their relatives". *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38: 321-325.

- Stefani, E., Mazzucchi, U. y Calzolari, A.** 1989. Evidence of endophytic movement of *Xanthomonas fragariae* Kenn. and King in strawberry. *Phytopathologia Mediterranea*, 28: 147-149.
- Stöger, A. y Ruppitsch, W.** 2004. A rapid and sensitive method for the detection of *Xanthomonas fragariae*, causal agent of angular leafspot disease in strawberry plants. *Journal of Microbiological Methods*, 58: 281-284.
- Swings, J., Vauterin, L. y Kersters, K.** 1993. The bacterium *Xanthomonas*. En J. Swings y E.L. Civerolo, eds. *Xanthomonas*, págs. 138-144. Londres, Chapman and Hall.
- Turechek, W.W., Hartung, J.S. y McCallister, J.** 2008. Development and optimization of a real-time detection assay for *Xanthomonas fragariae* in strawberry crown tissue with receiver operating characteristic curve analysis. *Phytopathology*, 98(3): 359-368.
- Van den Mooter, M. y Swings, J.** 1990. Numerical analyses of 295 phenotypic features of 266 *Xanthomonas* strains and related strains and an improved taxonomy of the genus. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40: 348-369.
- Vandroemme, J., Baeyen, S., Van Vaerenbergh, J., De Vos, P. y Maes, M.** 2008. Sensitive real-time PCR detection of *Xanthomonas fragariae* in strawberry plants. *Plant Pathology*, 57(3): 438-444.
- Vandroemme, J., Cottyn, B., Baeyen, S., De Vos, P. y Maes, M.** 2013. Draft genome sequence of *Xanthomonas fragariae* reveals reductive evolution and distinct virulence-related gene content. *BMC Genomics*, 14(1), 829.
- Weisberg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, B.A. y Lane, D.J.** 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173: 697-703.
- Weller, S.A., Beresford-Jones, N.J., Hall, J., Thwaites, R., Parkinson, N. y Elphinstone, J.G.** 2007. Detection of *Xanthomonas fragariae* and presumptive detection of *Xanthomonas arboricola* pv. *fragariae*, from strawberry leaves, by real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods*, 70: 379-383.
- Weller, S.A., Elphinstone, J.G., Smith, N.C., Boonham, N. y Stead, D.E.** 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* strains with a quantitative, multiplex, real-time, fluorogenic PCR (TaqMan) Assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(7): 2853-2858.
- Zimmermann, C., Hinrichs-Gerger, J., Moltmann, E. y Buchenauer, H.** 2004. Nested PCR for detection of *Xanthomonas fragariae* in symptomless strawberry plants. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 111: 39-51.

9 Figuras



Figura 1. Síntomas de *Xanthomonas fragariae* en (A, izquierda) el haz de la hoja y en (B, derecha) el envés de la hoja. Fotografía por gentileza de A.M.C. Schilder, Universidad Estatal de Michigan, East Lansing, MI (Estados Unidos de América).



Figura 2. Exudado bacteriano de *Xanthomonas fragariae* en el envés de una hoja. Fotografía por gentileza de W.W. Turechek, Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Washington, DC (Estados Unidos de América).



Figura 3. Síntomas de *Xanthomonas fragariae* en el cáliz de un fruto.

Fotografía por gentileza de A.M.C. Schilder, Universidad Estatal de Michigan, East Lansing, MI (Estados Unidos de América).

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma

2004-11: El CN añadió el tema al programa de trabajo.

2006-04: La CMF-1 añadió el tema *Xanthomonas fragariae* (2004-012) al programa de trabajo.

2014-01: Consulta de expertos.

2015-06: El CN aprobó, mediante decisión por medios electrónicos, remitir el protocolo a consulta a los miembros (2015_eSC_Nov_03).

2016-03: El GTPD aprobó, mediante decisión por medios electrónicos, que se presentara el protocolo al CN para su adopción (2016_eTPDP_Mar_05).

2016-06: El CN aprobó, mediante decisión por medios electrónicos, que el texto se remitiera al período de notificación de 45 días de los protocolos de diagnóstico (2016_eSC_Nov_01).

2016-08: El CN aprobó el PD en nombre de la CMF (no se recibieron objeciones).

NIMF 27. Anexo 14. *Xanthomonas fragariae* (2016). Roma, CIPF, FAO.

2017-01: La Secretaría de la CIPF corrigió un error editorial de menor importancia en la Sección 8.

Última actualización de la historia de la publicación: 2017-01.

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia
Tel. +39 06 5705 4812 - Fax: +39 06 5705 4819
Correo electrónico: ippc@fao.org - Web: www.ippc.int



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 27

PROTOCOLOS DE DIAGNÓSTICO

NIMF 27
ANEXO 15

ESP

PD 15: *Virus de la tristeza de los cítricos*

Producido por la Secretaría de la Convención Internacional
de Protección Fitosanitaria (CIPF)

NIMF 27

Protocolos de diagnóstico para plagas reglamentadas

PD 15: *Virus de la tristeza de los cítricos*

Adoptado en 2016; publicado en 2016

ÍNDICE

1.	Información sobre la plaga	3
2.	Información taxonómica	4
3.	Detección e identificación	4
3.1	Rango de hospedantes	5
3.2	Síntomas	5
3.3	Indexación biológica	6
3.4	Muestreo y preparación de las muestras para las pruebas serológicas y moleculares. 6	
3.4.1	Muestreo	6
3.4.2	Preparación de impresiones de tejidos	7
3.4.2.1	Preparación de impresiones de tejidos para las pruebas serológicas	7
3.4.2.2	Preparación de impresiones de tejidos y de frotis de áfidos para las pruebas de amplificación molecular	8
3.4.3	Preparación de extractos de plantas para las pruebas serológicas y de amplificación molecular	8
3.5	Pruebas serológicas	9
3.5.1	Inmunoimpresión directa-ELISA	9
3.5.2	DAS-ELISA	10
3.6	Pruebas moleculares	10
3.6.1	Purificación del ARN, inmunocaptura y síntesis de ADNc	11
3.6.1.1	Purificación del ARN	11
3.6.1.2	Inmunocaptura	11
3.6.1.3	Síntesis de ADNc	11
3.6.2	IC-RT-PCR	11
3.6.3	RT-PCR anidada con IC en un único tubo cerrado	12
3.6.4	Consideraciones generales relativas a la RT-PCR y la RT-PCR anidada	12
3.6.5	RT-PCR en tiempo real	12
3.6.7	Interpretación de los resultados de la RT-PCR convencional y en tiempo real	13
3.6.1	Controles para las pruebas moleculares	13
3.6.7.1	RT-PCR convencional y RT-PCR con IC	14
3.6.7.2	RT-PCR en tiempo real	14
3.7	Validación mediante un estudio del desempeño de la prueba	15
4.	Identificación de cepas agresivas del CTV	15

4.1	Indexación biológica	16
4.2	Pruebas serológicas con MCA13	16
4.2.1	Immunoimpresión directa-ELISA	16
4.2.2	DAS-ELISA	16
5.	Registros	17
6.	Puntos de contacto para información adicional	17
7.	Agradecimientos	17
8.	Referencias	18
9.	Figuras	21

1. Información sobre la plaga

El virus de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*, CTV) causa una de las enfermedades más dañinas de este cultivo, con epidemias devastadoras que han cambiado el curso de la industria de los cítricos (Moreno *et al.*, 2008). El término portugués “tristeza” incorporado en el nombre en inglés del virus, que significa justamente “tristeza” o “melancolía”, se refiere al decaimiento observado en muchas especies de cítricos injertados sobre patrones de *Citrus aurantium* (naranja amarga) o de *Citrus limon* (limonero). Aunque la tristeza es fundamentalmente una enfermedad de la línea de injerto (Román *et al.*, 2004), algunas cepas del CTV inducen otros síndromes, como acanaladuras o picado del tallo (en inglés, *stem pitting*), enanismo, menor productividad y baja calidad del fruto en muchos cultivares comerciales, incluso en ejemplares injertados sobre patrones tolerantes a la tristeza.

El CTV se originó probablemente en Malasia y en otros países de Asia sudoriental, la supuesta área de origen de los cítricos, y se ha dispersado a casi todos los países productores de cítricos mediante el movimiento de material vegetal infectado. La posterior dispersión a nivel local por medio de varias especies de áfidos (pulgonos) vectores ha generado grandes epidemias.

Las primeras informaciones de pérdidas de árboles injertados sobre naranja amarga son de Sudáfrica, a comienzos del siglo XX, y de Argentina y Brasil en la década de 1930, seguramente tras la introducción de plantas infectadas por el CTV, probablemente infestadas por el áfido vector más eficaz como transmisor del virus, *Toxoptera citricida* Kirkaldy. El decaimiento inducido por el CTV en árboles injertados sobre patrones de naranja amarga los ha matado o dejado improductivos (Bar-Joseph *et al.*, 1989; Cambra *et al.*, 2000a). Se han observado brotes del CTV en los Estados Unidos, algunos países del Caribe y algunos países mediterráneos (en particular Italia y Marruecos). Se calcula que el CTV ha afectado a 38 millones de árboles en el continente americano (principalmente en Argentina, el Brasil, Venezuela y California, en los Estados Unidos), a 60 millones de árboles en la cuenca del Mediterráneo (sobre todo en España, con unos 50 millones de árboles afectados) y a unos 5 millones de árboles en otros sitios, lo que suma más de 100 millones de árboles en total. La tristeza puede manejarse usando como patrones especies de cítricos que inducen tolerancia a la enfermedad. Algunas cepas agresivas del CTV pueden causar acanaladuras o picado del tallo en ciertos cultivares de cítricos independientemente del patrón utilizado. Esto afecta considerablemente a la calidad del fruto y al rendimiento de millones de árboles infectados por estas cepas agresivas en la mayoría de las explotaciones de cítricos de todo el mundo, excepto en las de la cuenca del Mediterráneo, donde las cepas agresivas no están presentes o no son predominantes. Para manejar de manera eficaz la enfermedad del picado del tallo o acanaladuras, algunos productores de cítricos han adoptado una estrategia que consiste en inocular de forma profiláctica a los árboles con cepas del CTV poco virulentas, también conocida como protección cruzada (Broadbent *et al.*, 1991; da Graça y van Vuuren, 2010).

El CTV es la especie más numerosa y compleja del género *Closterovirus* (Moreno *et al.*, 2008). Los viriones son flexuosos y filamentosos, de 2 000 nm de longitud y 11 nm de diámetro, y su genoma es de ARN monocatenario de sentido positivo y no segmentado. El genoma del CTV contiene 12 marcos de lectura abiertos (ORF, del inglés *open reading frame*), que codifican al menos 17 proteínas, y dos regiones no traducidas (UTR, del inglés *untranslated region*). Los ORF 7 y 8 codifican proteínas con pesos moleculares estimados de 27,4 kDa (P27) y 24,9 kDa (P25) y que se han identificado como las proteínas de la cápsida. La diversidad del CTV es mayor de lo que se pensaba anteriormente: los nuevos genotipos han divergido de la población ancestral o han surgido por recombinación con cepas descritas anteriormente (Harper *et al.*, 2008). Las poblaciones del CTV de los cítricos tienen carácter de cuasiespecies, es decir, son mezclas complejas de genotipos víricos y ARN vírico defectuoso desarrolladas durante la propagación vegetativa a largo plazo, por medio de los injertos, de cepas aisladas del virus y por la mezcla de estas cepas con otras procedentes de áfidos vectores. Como consecuencia, las cepas aisladas del CTV contienen diversas variantes de secuencias, entre las que suele predominar una (Moreno *et al.*, 2008).

El CTV se transmite con facilidad a nivel experimental al injertarse sobre cítricos sanos material vegetal infectado por el virus. Lo transmiten de forma natural y semipersistente ciertas especies de áfidos. El vector más eficaz del CTV en todo el mundo es *T. citricida*. *T. citricida* está firmemente establecido en Asia, Australia, África subsahariana, América Central y del Sur, el Caribe, Florida (Estados Unidos) y el norte peninsular de España y Portugal, así como en las Islas Madeira (Ilharco *et al.*, 2005; Moreno *et al.*, 2008). Sin embargo, en España, Israel, algunas áreas cítricas de California (Estados Unidos) y en todos los lugares en los que *T. citricida* está ausente, el vector principal es *Aphis gossypii* Glover (Yokomi *et al.*, 1989; Cambra *et al.*, 2000a; Marroquín *et al.*, 2004). Se ha publicado una comparativa de los efectos de distintas especies de áfidos vectores en la dispersión del CTV (Gottwald *et al.*, 1997). También se han descrito otras especies de áfidos como vectores del CTV (Moreno *et al.*, 2008), entre las que se encuentran *Aphis spiraecola* Patch, *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonsicolombe), *Myzus persicae* (Sulzer), *Aphis craccivora* Koch y *Uroleucon jaceae* (Linnaeus). Aunque en estudios de transmisión experimental se comprobó que las especies de áfidos mencionadas son menos eficaces como vectores del CTV que *T. citricida* y *A. gossypii*, son las especies de áfidos predominantes en algunas áreas, por lo que es probable que participen de alguna forma en la dispersión del CTV, compensando su baja eficacia de transmisión con su abundancia (Marroquín *et al.*, 2004).

Se ha estudiado en distintas partes del mundo la dispersión espacial y temporal del CTV en plantaciones de cítricos (Gottwald *et al.*, 2002). Estos estudios ponen de manifiesto que podrá transcurrir mucho tiempo entre la introducción de una fuente primaria de inóculo del CTV y la aparición de una epidemia de tristeza (Garnsey y Lee, 1988).

2. Información taxonómica

Nombre:	<i>Citrus tristeza virus</i> (CTV)
Sinónimos:	Tristeza virus
Posición taxonómica:	<i>Closteroviridae</i> , <i>Closterovirus</i>
Nombres comunes:	Virus de la tristeza de los cítricos, podredumbre de las raicillas.

3. Detección e identificación

La detección e identificación del CTV puede lograrse mediante pruebas biológicas, serológicas o de amplificación molecular (figuras 1 y 2). El uso de cualquiera de estas pruebas es el requisito mínimo para la detección e identificación del CTV (p. ej., en el diagnóstico rutinario de la plaga si está establecida ampliamente en un país). En los casos en que la organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) necesite más seguridad en la identificación del CTV (p. ej., para la detección en un área en la que no se tenga conocimiento de la presencia del virus, o en un envío procedente de un país en el que se ha declarado la ausencia del virus), deberían realizarse más pruebas. En los casos en que la identificación inicial se haya realizado mediante una prueba de amplificación molecular, las pruebas posteriores deberían ser serológicas, y viceversa. También podrán realizarse más pruebas con el fin de determinar qué cepa del CTV está presente, en cuyo caso podrá ser necesario secuenciar el amplicón producido mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). En todos los casos, para que la prueba se considere válida, se deben incluir controles positivos y negativos. Las técnicas recomendadas para las pruebas biológicas, serológicas y de amplificación molecular se describen en las siguientes secciones. En la Figura 2 se presenta un diagrama de flujo para la identificación de cepas del CTV.

En este protocolo de diagnóstico, los métodos (incluidas las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en ellos se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad y/o reproducibilidad adquirido. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

3.1 Rango de hospedantes

En condiciones naturales, el CTV infecta con facilidad a la mayoría de las especies de *Citrus* y de *Fortunella*, así como a algunas especies de géneros de la familia Rutaceae conocidos como parientes de los cítricos y que también son posibles hospedantes del CTV, concretamente: *Aegle*, *Aeglopsis*, *Afraegle*, *Atalantia*, *Citropsis*, *Clausena*, *Eremocitrus*, *Hespertusa*, *Merrillia*, *Microcitrus*, *Pamburus*, *Pleiospermium* y *Swinglea* (Duran-Vila y Moreno, 2000; Timmer *et al.*, 2000). Casi todos los clones y muchos de los híbridos de *Poncirus trifoliata* (naranja trifoliado o espinoso), así como *Fortunella crassifolia* (kumquat Meiva o largo) y algunos *Citrus grandis* (pomelo) son resistentes a la mayoría de las cepas del CTV (Moreno *et al.*, 2008). Por lo tanto, el CTV está ausente en estas especies, o está presente en concentraciones muy bajas. *Citrus reticulata* (mandarino), *Citrus sinensis* (naranja dulce) y *Citrus latifolia* (limero de Tahití) son algunos de los cultivares más vulnerables a la infección natural por el CTV, seguidos de ciertos cultivares de *Citrus paradisi* (toronjero), *Citrus unshiu* (mandarino Satsuma) y *C. limon*. Entre las especies usadas como patrón, *Citrus macrophylla* (alemow), *Citrus volkameriana* (limonero volkameriano), *Citrus reshni* (mandarino Cleopatra) y *Citrus limonia* (limero de Rangpur) son muy vulnerables a la infección natural por el CTV, mientras que los citrangeres Carrizo y Troyer (híbridos de naranja dulce y naranja trifoliado) y *C. aurantium* se infectan en raras ocasiones. Los patrones de *P. trifoliata* y de *C. paradisi* × *P. trifoliata* (citrumelo) son resistentes a la mayoría de las cepas del CTV. Las especies *Passiflora gracilis* y *Passiflora coerulea* se usan como hospedantes experimentales distintos de los cítricos.

3.2 Síntomas

La expresión de los síntomas en cítricos hospedantes infectados por el CTV es muy variable y depende de las condiciones ambientales, de la especie hospedante y de la agresividad de la cepa del CTV. Además, el virus podrá permanecer latente durante varios años. Algunas cepas del CTV son poco virulentas y no producen efectos detectables en la mayoría de las especies comerciales de cítricos, incluidos ejemplares de cítricos injertados sobre *C. aurantium*. En general, los mandarinos son especialmente tolerantes a la infección por el CTV. *C. sinensis*, *C. aurantium* (como plantón, no como patrón injertado), *Citrus jambhiri* (limonero rugoso) y *C. limonia* no suelen presentar síntomas cuando están infectados, pero pueden reaccionar ante algunas cepas agresivas. Los cítricos hospedantes que suelen manifestar síntomas son el limero, el toronjero, algunos cultivares de pomelo, alemow y naranja dulce, algunos cítricos híbridos y ciertos parientes de los cítricos de la familia Rutaceae mencionados en la Sección 3.1.

En función de la cepa del CTV y de la especie de cítrico o de la combinación injerto-patrón, el virus podrá no causar ningún síntoma o causar alguno de los siguientes: tristeza (decaimiento); acanaladuras o picado del tallo, o amarilleo de los plantones, que se observa sobre todo en condiciones de invernadero. Estos tres síndromes se describen en los párrafos siguientes. En la Figura 1 se muestran los principales síntomas causados por el CTV.

Una de las consecuencias de mayor importancia económica de la infección por el CTV es la tristeza, una enfermedad de la línea de injerto que se caracteriza por el decaimiento de los árboles injertados sobre patrones de naranja amargo o limonero. Los injertos de naranja dulce, mandarino y toronjero sobre estos patrones sufren enanismo y clorosis, y a menudo mueren al cabo de varios meses o años (es decir, sufren un decaimiento lento), mientras que otros injertos experimentan un decaimiento rápido o colapso algunos días después de la observación del primer síntoma. El decaimiento se produce como resultado de los efectos fisiológicos del virus sobre el floema de los patrones vulnerables, justo por debajo de la línea de injerto. Los árboles con decaimiento lento generalmente presentan un abultamiento por encima de la línea de injerto, una línea marrón justo en el punto de unión del injerto y punteado o panal de abeja (en inglés *inverse pinhole pitting* o *honeycombing*) en la cara interna de la corteza del patrón de naranja amargo. En hospedantes vulnerables se observan comúnmente los siguientes síntomas: enanismo, hojas abarquilladas, aclaramiento de las nerviaciones, hojas cloróticas, acanaladuras o picado del tallo, y tamaño reducido del fruto. Sin embargo, algunas cepas del virus, sobre todo en el sector citrícola de la cuenca del Mediterráneo, no inducen síntomas de decaimiento hasta muchos años después de la infección, incluso en árboles injertados sobre naranja amargo.

Las cepas agresivas del CTV pueden afectar a los árboles gravemente, induciendo picado o acanaladuras en el tronco y las ramas del limero, el toronjero y el naranjo dulce. A veces, el picado o las acanaladuras pueden dar un aspecto irregular o fibroso al tronco y a las ramas de los árboles adultos, generar cavidades profundas en la madera bajo zonas deprimidas de la corteza y ocasionar una reducción de la calidad de los frutos y del rendimiento. La mayoría de las cepas del CTV afectan gravemente a los patrones de alemow, que desarrollan picado o acanaladuras que reducen el vigor del árbol.

El síndrome de amarilleo de los plántones se caracteriza por enanismo, producción de hojas cloróticas o pálidas, menor desarrollo radicular e interrupción del crecimiento de los árboles injertados sobre plántones de naranjo amargo, toronjero y limonero cultivados en condiciones de invernadero (20-26 °C).

3.3 Indexación biológica

El objetivo de la indexación biológica es detectar la presencia del CTV en lotes o selecciones de plantas o en muestras cuyo estado sanitario se está evaluando, y estimar la agresividad de la cepa en plántones de *Citrus aurantifolia* (limero agrio o mexicano), *C. macrophylla* o *Citrus paradisi* Macfadyen (toronjero Duncan). El indicador es un patrón inoculado mediante métodos convencionales del que se conservan, en condiciones estándar (Roistacher, 1991), de cuatro a seis réplicas (o dos o tres si no se pueden tomar suficientes muestras). En estas plantas indicadoras sensibles, cualquiera de los siguientes síntomas evidencia la infección por el CTV tras la inoculación del patrón: aclaramiento de las nerviaciones en hojas jóvenes; abarquillamiento o deformación de las hojas; entrenudos cortos; acanaladuras o picado del tallo, y amarilleo de los plántones. Los síntomas se comparan con los de las plantas utilizadas como controles positivo y negativo. En Roistacher (1991) y en Moreno *et al.* (2008) hay ilustraciones de los síntomas provocados por el CTV en plantas indicadoras.

La indexación biológica se utiliza de forma generalizada en programas de certificación y se considera un método sensible y fiable para la detección de cepas nuevas o inusuales del virus. Sin embargo, presenta algunos inconvenientes: no es una prueba rápida (los síntomas tardan de tres a seis meses en desarrollarse tras la inoculación); solo puede emplearse en material de propagación; se necesitan instalaciones dedicadas, como espacio en un invernadero con temperatura controlada y protegido contra insectos, y se necesita personal dedicado que pueda cultivar plantas hospedantes indicadoras sanas y vigorosas capaces de mostrar los síntomas pertinentes, así como personal con experiencia que esté en condiciones de interpretar correctamente los síntomas de enfermedad observados que puedan confundirse con los de otros agentes transmisibles por injerto. Además, existen cepas del CTV asintomáticas (cepas latentes) que, justamente por no inducir síntomas, no son detectables en las plantas indicadoras, p. ej., la cepa K del CTV descrita por Albertini *et al.* (1988).

Se han publicado pocos datos cuantitativos sobre la especificidad, la sensibilidad, otros parámetros de diagnóstico y la fiabilidad de los ensayos biológicos realizados mediante injerto de plantas indicadoras (indexación) para la detección, el diagnóstico o la identificación del CTV. Cambra *et al.* (2002), en el proyecto de protocolos de diagnóstico europeos (DIAGPRO), y Vidal *et al.* (2012) compararon la indexación, en limero mexicano, con el ensayo de inmunopresión directa-inmunoabsorción enzimática (ELISA) (Sección 3.5.1) (con anticuerpos monoclonales 3DF1 + 3CA5) y con la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real con inmunopresión (Sección 3.6.5), y concluyeron que, para la detección del CTV, la indexación biológica en limero mexicano puede sustituirse eficazmente por cualquiera de los dos métodos de laboratorio.

3.4 Muestreo y preparación de las muestras para las pruebas serológicas y moleculares

3.4.1 Muestreo

La NIMF 31 (*Metodologías para muestreo de envíos*) brinda orientación general sobre las metodologías de muestreo y en Cambra *et al.* (2002) se describe específicamente el muestreo del CTV. Para detectar e identificar el CTV con métodos biológicos, serológicos o de amplificación molecular, es imprescindible que la selección de las muestras sea adecuada. Los cambios en un sistema de muestreo

aceptado podrían hacer que un protocolo de diagnóstico eficaz genere falsos positivos o falsos negativos. La muestra estándar para árboles adultos es de cinco brotes jóvenes o pedúnculos de frutos, diez hojas completamente desarrolladas, o cinco flores o frutos recogidos alrededor de la copa de cada árbol y de cada rama principal. Las muestras (brotes u hojas completamente desarrolladas y pedúnculos) pueden tomarse de naranjo dulce, mandarino, limonero y toronjero en cualquier momento del año en climas mediterráneos templados, pero en climas tropicales y subtropicales, la primavera y el otoño son los períodos óptimos de muestreo para obtener concentraciones altas del CTV. En estos climas, se observa una concentración reducida del CTV en mandarinos Satsuma durante el verano, por lo que el período recomendado de muestreo abarca todas las estaciones vegetativas, excepto los días calurosos (35–40 °C) del verano. Sin embargo, pueden tomarse muestras de las raíces en períodos cálidos, en caso necesario. Las flores y los frutos (cuando los haya) también son materiales adecuados para el muestreo (Cambra *et al.*, 2002). Las muestras del fruto más adecuadas son las del tejido del pedúnculo en la zona del albedo, donde el pedúnculo se une al fruto, o de la columela. En el muestreo estándar de plantas de vivero se recogen dos brotes jóvenes o cuatro hojas por planta. Según Roistacher (1991), para la indexación normalmente se recogen, en cualquier época del año (pero preferiblemente durante el período vegetativo), pequeños fragmentos de corteza sin yemas, o incluso hojas, de brotes o ramas de al menos un año de las plantas infectadas.

Los brotes, los peciolos de las hojas, los pedúnculos de los frutos y las flores se pueden conservar a una temperatura aproximada de 4 °C durante un máximo de siete días hasta su tratamiento. Los frutos pueden almacenarse durante un mes a una temperatura aproximada de 4 °C; el almacenamiento durante más tiempo podrá resultar en concentraciones más bajas y en la posibilidad de obtener falsos negativos con los métodos de diagnóstico.

Las muestras compuestas, para su análisis como muestras individuales mediante pruebas serológicas o de amplificación molecular, pueden recogerse juntas (normalmente dos hojas o un brote de una a diez plantas de vivero, o diez hojas o cinco brotes por árbol adulto recogidas alrededor de la copa). En ciertas circunstancias (p. ej. en el diagnóstico rutinario del CTV extendido ampliamente en un país o área) se podrán efectuar pruebas sobre varias plantas simultáneamente, utilizando una muestra compuesta obtenida de un cierto número de plantas. La decisión de realizar las pruebas en muestras compuestas o de una sola planta con métodos serológicos o de amplificación molecular dependerá de la concentración del virus en las plantas, de la prevalencia esperada del CTV en esa área (Vidal *et al.*, 2012), del límite de detección del método de prueba que se utilizará y del nivel de seguridad requerido por la ONPF.

Se pueden analizar ejemplares de áfidos individuales (frescos o conservados en alcohol al 70 %) para determinar la presencia del CTV. Los áfidos se recogen directamente de colonias establecidas o se capturan mediante trampas: se recomienda el uso de trampas de succión, trampas amarillas de agua de Moericke clásicas o trampas adhesivas para brotes. Los especímenes recogidos se usarán preferentemente para las pruebas de frotis por aplastamiento y RT-PCR en tiempo real (Bertolini *et al.*, 2008) u otras pruebas de amplificación molecular (Marroquín *et al.*, 2004).

3.4.2 Preparación de impresiones de tejidos

3.4.2.1 Preparación de impresiones de tejidos para las pruebas serológicas

Se realizan cortes limpios de brotes tiernos, peciolos de hojas, pedúnculos de frutos u ovarios de flores. Las secciones recién cortadas se presionan con cuidado contra una membrana de nitrocelulosa o de éster de celulosa (0,45 mm) y la huella o impresión se deja secar durante 2-5 min. Para las pruebas serológicas rutinarias, deberían hacerse al menos dos impresiones por cada pedúnculo o brote seleccionado (una de cada extremo del brote) y una por cada peciolo de la hoja u ovario de la flor. Las membranas con las impresiones se pueden conservar durante varios meses en un lugar seco y oscuro.

3.4.2 Preparación de impresiones de tejidos y de frotis de áfidos para las pruebas de amplificación molecular

Se recomienda recoger el material vegetal a mano para evitar la contaminación de las muestras con las tijeras. Se recogen alrededor de la copa del árbol brotes tiernos con hojas completamente desarrolladas o maduras. Se presionan los peciolo de dos hojas o dos brotes directamente sobre papel Whatman¹ 3MM (0,45 mm) o sobre una membrana de nailon de carga positiva. Según Bertolini *et al.* (2008), se realizan varias impresiones parcialmente superpuestas de distintas hojas sobre aproximadamente 0,5 cm² del papel o la membrana. La huella o impresión se deja secar durante 2-5 min. Para las pruebas de amplificación molecular rutinarias, se debería hacer una impresión por cada pedicelo de hoja seleccionado. Los especímenes individuales de áfidos se aplastan directamente sobre papel Whatman¹ 3MM o sobre una membrana de nailon de carga positiva con la base redondeada de un tubo Eppendorf¹ para conseguir la rotura completa del espécimen (Bertolini *et al.*, 2008). Las membranas impresas o aplastadas se pueden conservar durante varios meses en un lugar seco y oscuro.

Los métodos directos de preparación de muestras (impresión de tejidos o aplastamiento) sin preparación de extractos se han validado como una alternativa a la preparación convencional de extractos para el tratamiento de las muestras (Vidal *et al.*, 2012).

3.4.3 Preparación de extractos de plantas para las pruebas serológicas y de amplificación molecular

Se toman 0,2-0,5 g de material vegetal fresco y se cortan en trozos pequeños con cuchillas de afeitar desechables o con tijeras tratadas con lejía para evitar la contaminación de una muestra a otra, y se colocan en un tubo o una bolsa de plástico adecuados. Los extractos para las pruebas serológicas pueden prepararse en tubos o en bolsas de plástico. Las muestras para las pruebas de amplificación molecular solo deberían prepararse en bolsas de plástico individuales, para evitar la contaminación entre muestras. La muestra se homogeneiza por completo en 4–10 ml (1:20 p/v, a no ser que el fabricante indique otra cosa) de tampón de extracción con un homogeneizador de tejidos eléctrico, un rodillo manual, un martillo o un instrumento similar. El tampón de extracción es solución salina con tampón fosfato (PBS) de pH 7,2-7,4 (8 g de NaCl, 0,2 g de KCl, 2,9 g de Na₂HPO₄·12H₂O, 0,2 g de KH₂PO₄, y 1 litro de agua destilada), complementado con un 0,2 % de dietilditiocarbamato de sodio (DIECA) o un 0,2 % de mercaptoetanol, u otro tampón adecuadamente validado.

¹ En este protocolo de diagnóstico, los métodos (incluidas las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en ellos se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad y/o reproducibilidad alcanzado. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

3.5 Pruebas serológicas

Los ensayos de inmunoadsorción enzimática (ELISA) con anticuerpos monoclonales o policlonales validados son muy recomendables para analizar numerosas muestras a efectos de la detección e identificación del CTV. La producción de anticuerpos monoclonales específicos del CTV (Vela *et al.*, 1986; Permar *et al.*, 1990) y otros examinada por Nikolaeva *et al.* (1996) resolvió el problema de la especificidad del diagnóstico que presentaban los anticuerpos policlonales (Cambra *et al.*, 2011), y así aumentó la sensibilidad del diagnóstico de las pruebas serológicas. Una mezcla de los dos anticuerpos monoclonales 3DF1 y 3CA5, o sus versiones recombinantes (Terrada *et al.*, 2000), reconoce todas las cepas del CTV de distintas colecciones internacionales sometidas a la prueba (Cambra *et al.*, 1990). En Cambra *et al.* (2000a) se presenta una descripción, caracterización y validación detalladas de estos anticuerpos monoclonales. Según se informa, una mezcla de los anticuerpos monoclonales 4C1 y 1D12 producida en Marruecos reacciona contra un amplio espectro de cepas del CTV (Zebzami *et al.*, 1999), pero no hay datos de validación disponibles.

3.5.1 Inmunoimpresión directa-ELISA

La inmunoimpresión directa-ELISA o impresión directa de tejidos-ELISA (en inglés *direct tissue print-ELISA*, *direct tissue print-ELISA* o *direct tissue blot immunoassay* [DTBIA]), se realiza según lo indicado en Garnsey *et al.* (1993) y en Cambra *et al.* (2000b) usando el método que se describe a continuación. Plant Print Diagnostics SL¹ comercializa un kit completo (validado por el desempeño de la prueba y en varios estudios publicados) basado en los anticuerpos monoclonales 3DF1 y 3CA5 específicos del CTV (Vela *et al.*, 1986) que incluye membranas impresas con controles positivos y negativos y todos los reactivos, tampones y sustrato. Agdia¹ comercializa un kit similar, basado en los anticuerpos 4C1 y 1D12 según Zebzami *et al.* (1999), pero no ha sido validado.

Las membranas impresas previamente con los tejidos (de un tamaño recomendado de aproximadamente 7 × 13 cm) se colocan en un recipiente adecuado (una bandeja, un envase hermético o una bolsa de plástico), cubiertas con una solución al 1 % de albúmina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés) en agua destilada y se incuban durante 1 h a temperatura ambiente, o bien durante la noche, unas 16 h, a 4 °C (se recomienda hacer esto último). Una ligera agitación durante este paso es beneficiosa. La solución de BSA se desecha, pero las membranas se mantienen en el mismo recipiente. Se prepara una solución conjugada constituida por concentraciones iguales de los anticuerpos monoclonales 3DF1 y 3CA5 específicos del CTV, marcados con fosfatasa alcalina (aproximadamente 0,1 µg/ml de cada anticuerpo monoclonal en PBS) o de proteínas fusionadas (scFv-AP/S) de los fragmentos 3DF1 y 3CA5 expresadas en *Escherichia coli* (dilución adecuada en PBS) (Terrada *et al.*, 2000). La solución conjugada se vierte sobre las membranas hasta cubrir las, y las membranas se incuban durante 3 h a temperatura ambiente con agitación suave. Después se desecha la solución conjugada. Las membranas y el recipiente se enjuagan con tampón de lavado (PBS, pH 7,2–7,4, con un 0,05 % de Tween 20) y se lavan agitándolas (de forma manual o mecánica) durante 5 min; el tampón de lavado se desecha y el lavado se repite dos veces. A continuación, se vierte sobre las membranas el sustrato para la fosfatasa alcalina (pastillas Sigma¹ Fast de 5-bromo-4-cloro-3-indol fosfato/nitroazul de tetrazolio (BCIP/NBT) que, según las instrucciones del fabricante, resultan en una concentración final de 0,33 mg/ml de NBT y 0,175 mg/ml de BCIP) y las membranas se incuban hasta que aparece un color violeta-púrpura en los controles positivos (unos 10–15 min). La reacción se detiene lavando las membranas con agua corriente. Las membranas se extienden sobre papel absorbente y se dejan secar. Las impresiones se examinan con una lupa de baja potencia (×10 a ×20). La presencia de precipitados de color violeta-púrpura en la región vascular del material vegetal revela la presencia del CTV.

3.5.2 DAS-ELISA

El ensayo de inmunoadsorción enzimática en fase doble de anticuerpos (DAS-ELISA) se realiza según lo indicado por Garnsey y Cambra (1991) usando el método que se describe a continuación. Se comercializan kits completos preparados con los anticuerpos monoclonales 3DF1 y 3CA5 validados específicos del CTV (Plant Print Diagnostics SL¹) y con diferentes anticuerpos policlonales (Agdia¹, Agritest¹, Bioreba¹, Loewe¹, Sediag¹).

Se usan dos pocillos de una placa de microvaloración para cada muestra y al menos dos pocillos para los controles positivo y negativo. Se prepara una dilución adecuada de los anticuerpos policlonales o monoclonales (3DF1 y 3CA5) (normalmente con una concentración total de inmunoglobulinas de 1-2 µg/ml) en un tampón de carbonato de pH 9,6 (1,59 g de Na₂CO₃, 2,93 g de NaHCO₃ y 1 litro de agua destilada), y se añaden 200 µl en cada pocillo. La placa se incuba durante 4 h a 37 °C o durante la noche (unas 16 h) a 4 °C. Los pocillos se lavan tres veces con tampón de lavado (PBS, pH 7,2-7,4, con un 0,05 % de Tween 20). A continuación, se añaden en cada pocillo 200 µl del extracto de la planta (Sección 3.4.3). Tras incubar las placas durante 16 h a 4 °C, se lavan tres veces como se describió en la técnica de inmunopresión directa-ELISA (Sección 3.5.1). Se preparan mezclas de anticuerpos policlonales o monoclonales (3DF1 y 3CA5) específicos marcados con fosfatasa alcalina en diluciones adecuadas (aproximadamente 0,1 µg/ml en PBS con un 0,5 % de BSA) y a continuación se añaden 200 µl en cada pocillo. Se incuban durante 3 h a 37 °C. Las placas se lavan otra vez como se describió en la técnica de inmunopresión directa-ELISA (Sección 3.5.1). Se prepara una solución de 1 mg/ml de fosfatasa alcalina (p-nitrofenil-fosfato) en tampón de sustrato (se diluyen 97 ml de dietanolamina en 800 ml de agua destilada, se ajusta el pH a 9,8 con HCl concentrado y se completa con agua destilada hasta un volumen total de 1 000 ml) y se añaden 200 µl en cada pocillo. Las placas se incuban a temperatura ambiente y se leen a 405 nm, en intervalos regulares, en un plazo de 120 min, o siguiendo las instrucciones del proveedor del anticuerpo policlonal usado.

El ensayo ELISA se considera negativo si el valor medio de la densidad óptica (DO) de los dos pocillos de la muestra duplicada es <0,1 o es <2× el valor de la DO del control negativo de los extractos de plantas sanas. El ensayo ELISA se considera positivo si el valor medio de la DO de los dos pocillos de la muestra duplicada es ≥2× el valor de la DO del control negativo de los extractos de plantas sanas. Cuando se usan anticuerpos policlonales, es primordial que los controles negativos sean tan parecidos como sea posible a la matriz analizada en la misma placa.

El método que usa los anticuerpos monoclonales 3DF1 y 3CA5 se validó en una prueba interlaboratorios del proyecto DIAGPRO (Cambra *et al.*, 2002). En la Sección 3.7 se compara ese método con otras técnicas y se indican los parámetros de diagnóstico.

Mientras que algunas mezclas de anticuerpos monoclonales detectan con especificidad, sensibilidad y fiabilidad todas las cepas del CTV, algunos anticuerpos policlonales no son específicos y tienen una sensibilidad limitada (Cambra *et al.*, 2011). Por lo tanto, en situaciones en las que se hayan utilizado anticuerpos policlonales en una prueba y la ONPF necesite mayor seguridad en la identificación del CTV, se recomienda el uso de métodos adicionales.

3.6 Pruebas moleculares

Tras obtenerse la secuencia completa de nucleótidos del ARN genómico del CTV, se desarrollaron diversos procedimientos de diagnóstico basados en la detección específica del ARN del virus, como la hibridación molecular con sondas de ADNc (complementario) o ARNc y varios métodos basados en la transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) (Moreno *et al.*, 2008). Estos métodos basados en la RT-PCR han mejorado considerablemente la sensibilidad de la detección, permitiendo la cuantificación de las copias de ARN vírico en tejido de cítricos infectados o en especies de áfidos virulíferos del CTV (Bertolini *et al.*, 2008). El uso de una técnica de alto rendimiento como la RT-PCR en tiempo real evita la posible necesidad de un tratamiento posterior a la amplificación (p. ej., la electroforesis en gel); por lo tanto, es más rápido y presenta una probabilidad menor de contaminación cruzada que la PCR convencional.

Excepto en el caso de la RT-PCR con inmunocaptura (IC) (para la que no es necesario el aislamiento del ARN), el ARN debería extraerse aplicando protocolos adecuadamente validados. Las muestras deberían colocarse en bolsas de plástico individuales para evitar la contaminación cruzada durante la extracción. Otra opción es inmovilizar las manchas de extractos de plantas, impresiones de secciones histológicas de material vegetal o muestras obtenidas por aplastamiento en papel secante o membranas de nailon y analizarlos mediante RT-PCR en tiempo real (Bertolini *et al.*, 2008). No se recomienda utilizar muestras de manchas o impresiones histológicas en la PCR convencional porque, al tener menor sensibilidad que la RT-PCR en tiempo real, puede dar falsos negativos.

3.6.1 Purificación del ARN, inmunocaptura y síntesis de ADNc

3.6.1.1 Purificación del ARN

La purificación del ARN debería realizarse aplicando protocolos debidamente validados o usando un kit de purificación de ARN según las instrucciones del fabricante. El ARN extraído debería conservarse, hasta que se use como molde, a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (preferiblemente) o a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y durante menos de un año. El ARN debería conservarse en pequeñas cantidades para evitar su degradación por efecto de ciclos repetidos de congelación-descongelación.

3.6.1.2 Inmunocaptura

La inmunocaptura puede utilizarse en lugar de la purificación del ARN. Para este procedimiento, se prepara una mezcla diluida de anticuerpos, que contiene $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ de anticuerpos policlonales específicos del CTV o una dilución de anticuerpos monoclonales ($0,5\text{ }\mu\text{g/ml}$ de 3DF1 y $0,5\text{ }\mu\text{g/ml}$ de 3CA5) en tampón de carbonato de pH 9,6 (véase la composición del tampón de carbonato descrita en la Sección 3.5.2). La mezcla de anticuerpos se reparte en microtubos ($100\text{ }\mu\text{l}$ por tubo) y los tubos se incuban durante 3 h a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los tubos recubiertos se lavan dos veces con $150\text{ }\mu\text{l}$ de tampón de lavado estéril (PBS, pH 7,2–7,4, con un 0,05 % de Tween 20; véase la composición del PBS descrita en la Sección 3.4.3). El extracto vegetal ($100\text{ }\mu\text{l}$), que se puede aclarar mediante centrifugación o por filtración con papel de filtro o bien usarse directamente como extracto bruto, se reparte en partes alícuotas en los microtubos recubiertos de anticuerpos. Los tubos se incuban durante al menos 2 h en hielo o durante 2 h a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tras esta fase de inmunocaptura, los microtubos se lavan tres veces con $150\text{ }\mu\text{l}$ de tampón de lavado estéril. La síntesis de ADNc y la amplificación mediante PCR se realizan en estos tubos lavados.

3.6.1.3 Síntesis de ADNc

Puesto que la conservación del ARN durante su almacenamiento es problemática, se recomienda sintetizar ADNc, que se puede conservar durante largos períodos con unas necesidades de temperatura mínimas en comparación con las del ARN. Existen varios kits comerciales para la síntesis de ADNc.

3.6.2 IC-RT-PCR

Según Olmos *et al.* (1999), los cebadores son:

PIN1: 5'-GGT TCA CGC ATA CGT TAA GCC TCA CTT-3'

PIN2: 5'-TAT CAC TAG ACA ATA ACC GGA TGG GTA-3'

La mezcla de la RT-PCR contiene $14,3\text{ }\mu\text{l}$ de agua ultrapura, $2,5\text{ }\mu\text{l}$ de tampón de polimerasa de ADN Taq $10\times$, $1,5\text{ }\mu\text{l}$ de MgCl_2 25 mM , $1,25\text{ }\mu\text{l}$ de dNTPs 5 mM , $2\text{ }\mu\text{l}$ de Triton X-100 al 4 %, $1\text{ }\mu\text{l}$ de cebador PIN1 $25\text{ }\mu\text{M}$, $1\text{ }\mu\text{l}$ de cebador PIN2 $25\text{ }\mu\text{M}$, $1,25\text{ }\mu\text{l}$ de dimetil sulfóxido (DMSO), $0,1\text{ }\mu\text{l}$ de transcriptasa inversa AMV $10\text{ U}/\mu\text{l}$ y $0,1\text{ }\mu\text{l}$ de polimerasa de ADN Taq $5\text{ U}/\mu\text{l}$. La mezcla de reacción ($25\text{ }\mu\text{l}$) se añade directamente a los microtubos recubiertos de anticuerpos lavados. Los parámetros de ciclado para la RT-PCR son: 45 min a $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 2 min a $92\text{ }^{\circ}\text{C}$ seguidos de 40 ciclos de 30 s a $92\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 s a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 1 min a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, con una fase de extensión final de 10 min a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ seguida de enfriamiento a $8\text{ }^{\circ}\text{C}$. El tamaño esperado del amplicón es de 131 pares de bases (pb).

El método se validó en una prueba interlaboratorios del proyecto DIAGPRO (Cambra *et al.*, 2002). En la Sección 3.7 se presenta una comparación con otras técnicas y se indican los parámetros de diagnóstico.

3.6.3 RT-PCR anidada con IC en un único tubo cerrado

Según Olmos *et al.* (1999), los cebadores son:

PEX1: 5'-TAA ACA ACA CAC ACT CTA AGG-3'

PEX2: 5'-CAT CTG ATT GAA GTG GAC-3'

PIN1: 5'-GGT TCA CGC ATA CGT TAA GCC TCA CTT-3'

PIN2: 5'-TAT CAC TAG ACA ATA ACC GGA TGG GTA-3'

El dispositivo de compartimentación de un microtubo de 0,5 ml para la RT-PCR anidada en un único tubo cerrado corresponde a lo indicado por Olmos *et al.* (1999). La mezcla maestra de la RT-PCR está formada por dos mezclas de reacción:

A (vertida en el fondo del microtubo): 15,8 µl de agua ultrapura, 3 µl de tampón de polimerasa de ADN Taq 10×, 3,6 µl de MgCl₂ 25 mM, 2 µl de dNTPs 5 mM, 2,2 µl de Triton X-100 al 4 %, 0,6 µl de cebador PEX1 25 µM, 0,6 µl de cebador PEX2 25 µM, 1,5 µl de DMSO, 0,2 µl de transcriptasa inversa AMV 10 U/µl y 0,5 µl de polimerasa de ADN Taq 5 U/µl.

B (colocada en el cono): 2,6 µl de agua ultrapura, 1 µl de tampón de polimerasa de ADN Taq 10×, 3,2 µl de cebador PIN1 25 µM y 3,2 µl de cebador PIN2 25 µM.

Los parámetros de ciclado para la RT-PCR son: 45 min a 42 °C y 2 min a 92 °C seguidos de 25 ciclos de 30 s a 92 °C, 30 s a 45 °C y 1 min a 72 °C. Tras este primer paso, el tubo se agita con el vórtex y se centrifuga (a 6000 r.p.m. durante 5 s) para mezclar B con los productos de la primera amplificación. A continuación, se vuelve a poner el tubo en el termociclador y la reacción prosigue de la siguiente forma: 40 ciclos de 30 s a 92 °C, 30 s a 60 °C y 1 min a 72 °C, con una fase de extensión final de 10 min a 72 °C seguida de enfriamiento a 8 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 131 pb.

El método se validó en una prueba interlaboratorios del proyecto DIAGPRO (Cambra *et al.*, 2002). En la Sección 3.7 se presenta una comparación con otras técnicas y se indican los parámetros de diagnóstico.

3.6.4 Consideraciones generales relativas a la RT-PCR y la RT-PCR anidada

Es posible que los protocolos de RT-PCR deban modificarse y optimizarse cuando se usen reactivos o termocicladores diferentes.

Si se usa la RT-PCR convencional para la detección del CTV, se recomienda la RT-PCR con IC. La RT-PCR convencional sin IC no es sensible y podrá dar falsos negativos. La presencia de inhibidores puede afectar a la sensibilidad de la RT-PCR convencional.

El análisis de una muestra es negativo si no se detecta el amplicón específico del CTV del tamaño esperado en la muestra en cuestión, pero sí en todos los controles positivos. El análisis de una muestra es positivo si se detecta el amplicón específico del CTV del tamaño esperado en la muestra en cuestión, siempre que no haya amplificación en ninguno de los controles negativos.

3.6.5 RT-PCR en tiempo real

Se han descrito dos ensayos de RT-PCR en tiempo real, uno por Bertolini *et al.* (2008) y otro por Saponari *et al.* (2008).

Según Bertolini *et al.* (2008), los cebadores y la sonda son:

3'UTR1: 5'-CGT ATC CTC TCG TTG GTC TAA GC-3'

3'UTR2: 5'-ACA ACA CAC ACT CTA AGG AGA ACT TCT T-3'

181T: FAM-TGG TTC ACG CAT ACG TTA AGC CTC ACT TG-TAMRA

La reacción se produce en un volumen final de 25 µl. La mezcla de la RT-PCR en tiempo real contiene 0,95 µl de agua ultrapura, 12,5 µl de mezcla maestra para RT-PCR AgPath-ID One-Step 2× (Applied Biosystems¹), 1 µl de mezcla de enzimas para RT-PCR 25×, 2,4 µl de cebador 3'UTR1 10 µM, 2,4 µl de cebador 3'UTR2 10 µM, 0,75 µl de sonda marcada con FAM 181T 5 µM y 5 µl de ARN extraído o desprendido de una membrana añadidos a 20 µl de la mezcla de la RT-PCR en tiempo real. Los parámetros de ciclado son: 10 min a 45 °C y 10 min a 95 °C seguidos de 45 ciclos de 15 s a 95 °C y 1 min a 60 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 95 pb.

Para la RT-PCR en tiempo real con inmunopresión se estimó una sensibilidad de diagnóstico de 0,98, una especificidad de 0,85 y una razón de verosimilitud positiva y negativa de 6,63 y 0,021, respectivamente (Vidal *et al.*, 2012). Estos parámetros de diagnóstico muestran que la RT-PCR en tiempo real con inmunopresión es más sensible que la inmunopresión directa-ELISA, lo que valida su uso para la detección y el diagnóstico rutinarios del CTV, y hace que sea muy recomendable para evaluar la condición de libre del CTV de cualquier material vegetal. La alta sensibilidad de esta técnica permite el análisis preciso de muestras compuestas (de lotes de hasta 10 árboles o plantas de vivero) como una sola muestra para diagnóstico en pruebas realizadas en cualquier época del año, y también permite analizar especies de áfidos para detectar concentraciones bajas del CTV. En la Sección 3.7 se describen otros parámetros de diagnóstico para la validación de la RT-PCR en tiempo real con inmunopresión.

Según Saponari *et al.* (2008), los cebadores y la sonda son:

P25F: 5'-AGC RGT TAA GAG TTC ATC ATT RC-3'

P25R: 5'-TCR GTC CAA AGT TTG TCA GA-3'

CTV-CY5: CY5-CRC CAC GGG YAT AAC GTA CAC TCG G

La reacción se produce en un volumen final de 25 µl. La mezcla de la RT-PCR en tiempo real contiene: 6,6 µl de agua ultrapura, 12,5 µl del kit de RT-PCR para sondas iScript One-Step 2× (Bio-Rad¹), 0,5 µl de la supermezcla de transcriptasa inversa iScript, 1 µl del cebador P25F 10 µM, 2 µl del cebador P25R 10 µM, 0,4 µl de sonda CTV-CY5 5 µM y 2 µl de ARN extraído o desprendido de una membrana añadidos a 23 µl de la mezcla de la RT-PCR en tiempo real. Los parámetros de ciclado son: 2 min a 55 °C y 5 min a 95 °C seguidos de 40 ciclos de 15 s a 95 °C y 30 s a 59 °C. El tamaño esperado del amplicón es de 101 pb.

No se han descrito parámetros de diagnóstico (sensibilidad, especificidad, exactitud, razón de verosimilitud positiva y negativa y probabilidad de enfermedad tras la prueba) para este protocolo de RT-PCR en tiempo real.

3.6.7 Interpretación de los resultados de la RT-PCR convencional y en tiempo real

3.6.1 Controles para las pruebas moleculares

Para considerar fidedigno el resultado de las pruebas, en cada serie de aislamiento de ácidos nucleicos y de amplificación del ácido nucleico de la plaga objetivo o del ácido nucleico objetivo se deberían tener en cuenta los controles adecuados, que dependerán del tipo de prueba utilizada y del grado de certidumbre necesario. Para la RT-PCR, deberían utilizarse, como mínimo, un control positivo de ácido nucleico y un control negativo de amplificación (control sin molde).

Control positivo del ácido nucleico. Este control se utiliza para determinar la eficiencia del método de prueba (aparte de la de la extracción) y en la RT-PCR, de la amplificación. Se podrá utilizar ARN previamente preparado (almacenado) o material vegetal infectado por el CTV impreso en una membrana. El ARN almacenado o las preparaciones del CTV deberían comprobarse periódicamente para determinar la calidad del control conforme aumenta el tiempo de almacenamiento.

Control interno. Para la RT-PCR en tiempo real descrita por Saponari *et al.* (2008), podría incorporarse ARNm (mensajero) del gen mitocondrial de la *NADH deshidrogenasa 5 (nad5)* en el protocolo de la RT-PCR, como control interno, a fin de descartar la posibilidad de falsos negativos debido a deficiencias en la extracción del ácido nucleico o a su degradación, o a la presencia de inhibidores de la RT-PCR. Al tratarse de un objetivo del hospedante, se debe tener cuidado de no contaminar el laboratorio con ADN *nad5*, lo que resultaría en una falsa confianza en la reacción del control interno.

Control negativo de la amplificación (control sin molde). Este control es necesario para la RT-PCR convencional y en tiempo real a fin de descartar falsos positivos por contaminación durante la preparación de la mezcla de reacción. El agua de calidad apta para PCR libre de ARNasa que se utilizó para preparar la mezcla de reacción se añade en la fase de amplificación.

Control positivo de la extracción Este control se utiliza para velar por que el ácido nucleico objetivo se haya extraído en una cantidad y con una calidad suficientes para realizar la RT-PCR y que el virus objetivo sea detectable. El ácido nucleico se extrae de tejido infectado del hospedante o de tejidos de plantas sanas o de insectos a los que se ha añadido una concentración del CTV.

En la RT-PCR, deben adoptarse precauciones a fin de evitar la contaminación cruzada por aerosoles procedentes del control positivo o de las muestras positivas.

Control negativo de la extracción. Este control se utiliza para controlar la contaminación durante la extracción del ácido nucleico o la reacción cruzada con el tejido hospedante. El control comprende ácido nucleico extraído de tejido no infectado del hospedante y posteriormente amplificado. Cuando se prevea analizar muchas muestras positivas se recomienda utilizar varios controles.

3.6.7.1 RT-PCR convencional y RT-PCR con IC

La RT-PCR específica del patógeno solo se considerará válida si:

- (1) el control positivo genera un amplicón del tamaño correcto para el virus, y
- (2) no se producen amplicones del tamaño correcto para el virus en el control negativo de la extracción ni en el control negativo de la amplificación.

Si también se recurre a cebadores de ARNm del gen mitocondrial de la *NADH deshidrogenasa 5 (nad5)* de control interno, (directo: 5'-GAT GCT TCT TGG GGC TTC TTG TT-3', inverso: 5'-CTC CAG TCA CCA ACA TTG GCA TAA-3'; producto de 181 pb) entonces el control negativo de la extracción (tejido vegetal sano), si se utiliza, el control positivo y cada una de las muestras analizadas deben producir un amplicón de 115 pb. Si no se logra la amplificación de las muestras con los cebadores de control interno, la causa puede ser, por ejemplo, una deficiente extracción del ARN, que no se incluyó el ARN en la mezcla de la reacción, que el extracto de ARN contiene compuestos inhibidores de la RT-PCR o que el ARN se ha degradado.

La prueba de una muestra se considerará positiva si produce un amplicón del tamaño correcto.

3.6.7.2 RT-PCR en tiempo real

La RT-PCR en tiempo real específica del patógeno solo se considerará válida si:

- (1) el control positivo produce una curva de amplificación con los cebadores específicos del virus, y
- (2) el control negativo de la extracción y el control negativo de la amplificación no producen curvas de amplificación con los cebadores específicos del virus.

La prueba de una muestra se considerará positiva si produce una curva de amplificación típica, de tipo exponencial. Cada laboratorio tiene que comprobar el valor de ciclo umbral (Ct) cuando realice la prueba por primera vez.

3.7 Validación mediante un estudio del desempeño de la prueba

En una prueba interlaboratorios del proyecto DIAGPRO (Cambra *et al.*, 2002) realizada por diez laboratorios que analizaron un conjunto de diez muestras codificadas entre las que había muestras de tejido infectado por el CTV y de tejido sano de la colección del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), la técnica de inmunopresión directa-ELISA con anticuerpos monoclonales DF1 y 3CA5 alcanzó una exactitud del 99 % (número de negativos verdaderos y positivos verdaderos diagnosticados por la técnica/número de muestras analizadas). Esta exactitud es mayor que la obtenida con la técnica DAS-ELISA (98 %), la RT-PCR con IC (94 %) y la RT-PCR anidada con IC en un único tubo cerrado (89 %). La sensibilidad de la inmunopresión directa-ELISA fue de 0,98 mientras que las otras técnicas mencionadas mostraron sensibilidades de 0,96, 0,96 y 0,93, respectivamente (Vidal *et al.*, 2012). La especificidad del diagnóstico de la inmunopresión directa-ELISA fue de 1,0, mientras que la de las otras técnicas fue de 1,0, 0,91 y 0,82, respectivamente. El valor predictivo positivo (resultados positivos en pruebas de muestras que efectivamente tienen la enfermedad; Sackett *et al.*, 1991) de la inmunopresión directa-ELISA fue de 1,0, mientras que el valor predictivo positivo de las otras técnicas fue de 1,0, 0,94 y 0,89, respectivamente. El valor predictivo negativo (Sackett *et al.*, 1991) de la inmunopresión directa-ELISA fue de 0,97, mientras que el valor predictivo negativo de las otras técnicas fue de 0,95, 0,94 y 0,88, respectivamente (Harju *et al.*, 2000).

La inmunopresión directa-ELISA con los anticuerpos monoclonales 3DF1 y 3CA52 demostró ser el método más fiable, sencillo y económico para el análisis rutinario de material vegetal para la detección del CTV en comparación con la indexación biológica en limero mexicano, el ensayo ELISA, la RT-PCR con IC y la RT-PCR anidada con IC (Cambra *et al.*, 2002). La inmunopresión directa-ELISA también fue validada por Ruiz-García *et al.* (2005) y analizada por el mismo equipo para demostrar que era tan sensible como la técnica DAS-ELISA (el sistema detectó el 97 % de los árboles positivos analizando cuatro peciolos), pero más fácil de realizar y menos costosa. La inmunopresión directa-ELISA con anticuerpos monoclonales 3DF1 y 3CA52 para la detección del CTV se comparó con la indexación biológica en limero mexicano y la RT-PCR en tiempo real con inmunopresión (Vidal *et al.*, 2012). Se evaluaron varios parámetros de diagnóstico y se determinó que la inmunopresión directa-ELISA era el método más específico y exacto, y el que mostraba la probabilidad más alta de detectar la enfermedad después de la prueba a cualquier nivel de prevalencia del CTV.

4. Identificación de cepas agresivas del CTV

Para la identificación de cepas del CTV se necesita una prueba biológica, serológica o de amplificación molecular.

No hay métodos basados en el ácido nucleico que permitan tipificar las cepas del CTV según su agresividad porque el CTV es un fenotipo. Todavía se desconoce en gran medida la base genética de la alta variabilidad biológica del CTV (Moreno *et al.*, 2008). También se sabe poco sobre la función biológica de su diversidad y, en particular, sobre los efectos de la recombinación. Además, no hay un sistema normalizado de agrupamiento de genotipos (Harper, 2013). Se han usado muy diversos métodos moleculares para diferenciar entre distintas cepas del CTV, como la hibridación molecular, los patrones de ARNdc (de doble cadena), el análisis de fragmentos de restricción de ADNc amplificado del CTV, la amplificación mediante PCR de distintas regiones del genoma, la PCR en tiempo real (Moreno *et al.*, 2008; Yokomi *et al.*, 2010), la secuenciación genómica y las micromatrices (chips) de resecuenciación. Más recientemente, se han probado el análisis secuencial de inmunoensayos enzimáticos y el polimorfismo conformacional de cadena única con electroforesis capilar (Licciardello *et al.*, 2012). Sin embargo, ninguna de estas tecnologías es práctica para la categorización fiable de cepas del CTV de dispersión natural, y ninguna se ha validado todavía; su aplicación se limita a fines de investigación.

Dada la variabilidad genética y biológica del CTV, el uso de técnicas distintas de la secuenciación para identificar sus distintas cepas podrá generar resultados erróneos. El uso de la secuenciación profunda, también conocida como secuenciación de nueva generación, podría aportar en poco tiempo información sobre la secuencia del genoma. No obstante, todavía no se puede relacionar la secuencia de nucleótidos del CTV con las propiedades biológicas y el comportamiento de una determinada cepa (es decir, su agresividad y transmisibilidad). Aunque las cepas del CTV se han clasificado y agrupado en función de su fenotipo, virulencia, rango de hospedantes, composición del epítipo y, más recientemente, por la identidad de la secuencia de uno o más genes (Moreno *et al.*, 2008), no se ha encontrado una correlación clara con el comportamiento biológico (Harper, 2013).

Los métodos recomendados para obtener información sobre las propiedades biológicas de una determinada cepa del CTV son (Figura 2):

- (1) Indexación biológica con varias plantas indicadoras como *C. aurantifolia*, *C. macrophylla*, *C. sinensis* o *C. paradisi* (cultivar Duncan) para la evaluación del picado del tallo, o acanaladuras; y plantones de *C. aurantium* o *C. limon* para la evaluación del amarilleo de los plantones (Roistacher, 1991; Ballester-Olmos *et al.*, 1993).
- (2) Reactividad frente al anticuerpo monoclonal MCA13 (Permar *et al.*, 1990), que reconoce un epítipo que está bien conservado en cepas de efectos graves (agresivas) del CTV pero que está ausente en cepas de efectos leves (menos agresivas) (Pappu, *et al.*, 1993). La reacción con el MCA13 está fuertemente asociada con la capacidad para inducir decaimiento en árboles injertados sobre patrones de naranjo amargo o limonero. La mayoría de las cepas del CTV que producen acanaladuras o picado del tallo en toronjero o naranjo dulce son positivas al MCA13.

4.1 Indexación biológica

La indexación biológica de las cepas agresivas del CTV sigue los procedimientos expuestos en la Sección 3.3.

4.2 Pruebas serológicas con MCA13

4.2.1 Inmunoimpresión directa-ELISA

Plant Print Diagnostics SL¹ comercializa un kit completo, basado en el anticuerpo monoclonal MCA13 específico del CTV, que incluye membranas impresas con controles positivos y negativos y todos los reactivos, tampones y sustrato. El método consiste en lo siguiente.

Las membranas se imprimen con los tejidos y se fijan como se describe en la Sección 3.5.1. Se prepara una solución del anticuerpo monoclonal MCA13 específico del CTV marcado con fosfatasa alcalina (aproximadamente 0,1 µg/ml en PBS), se vierte sobre las membranas, cubriéndolas, y las membranas se incuban durante 3 h a temperatura ambiente, con agitación ligera. El lavado y tratamiento de las membranas y la lectura e interpretación de los resultados se realizan según lo indicado en la Sección 3.5.1. La presencia de precipitados normalmente pequeños y de color violeta-púrpura en la región vascular del material vegetal revela la presencia de cepas del CTV de mayor agresividad.

4.2.2 DAS-ELISA

El ensayo de DAS-ELISA se realiza según lo indicado en Garnsey y Cambra (1991) usando el método descrito a continuación. Plant Print Diagnostics SL¹ comercializa un kit basado en el anticuerpo monoclonal MCA13 específico del CTV.

El recubrimiento se realiza como se describe en la Sección 3.5.2. Se añade el anticuerpo monoclonal MCA13 específico del CTV marcado con fosfatasa alcalina como conjugado a una dilución adecuada (aproximadamente 0,1 µg/ml en PBS con un 0,5 % de BSA). La incubación, el lavado, la adición del sustrato y la interpretación de los resultados se hace según lo indicado en la Sección 3.5.2.

5. Registros

Los registros y las pruebas deberían conservarse según lo descrito en la Sección 2.5 de la NIMF 27 (Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas).

En los casos en que los resultados del diagnóstico puedan repercutir sobre otras partes contratantes, en concreto en casos de incumplimiento o en áreas donde se detecte el virus por primera vez, se debería conservar también el siguiente material, cuando proceda, de un modo que garantice su rastreabilidad:

- La muestra original debería conservarse a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ o liofilizarse y conservarse a temperatura ambiente.
- Las extracciones de ARN deberían conservarse a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que los impresos de secciones histológicas y/o manchas de extractos de plantas en papel o membranas de nailon deben conservarse a temperatura ambiente.
- Los productos de la amplificación mediante RT-PCR deberían conservarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6. Puntos de contacto para información adicional

Puede obtenerse información adicional sobre este protocolo en las siguientes fuentes:

Centro de Protección Vegetal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carretera Moncada-Náquera km 4.5, 46113 Moncada, Valencia (España) (Mariano Cambra; e-mail: mcambra@ivia.es o mcambra@mcambra.es).

Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves 7712, 91540-000 Porto Alegre (Brasil) (Edson Bertolini; e-mail: edson.bertolini@ufrgs.br; tel.: +55 (51) 3308 8100).

APHIS-USDA-PPQ-CPHST, 4700 River Road, Riverdale, MD 20737, Estados Unidos de América (Laurene Levy; e-mail: laurene.levy@aphis.usda.gov; tel.: +1 301 851 2078; fax: +1 301 734 8724).

Citrus Research International (CRI), PO Box 28, 1200 Nelspruit, Mpumalanga (Sudáfrica) (S.P. Fanie van Vuuren; e-mail: faniev@cri.co.za).

Alico, Inc., Suite 100, 10070 Daniels Interstate Court, Fort Myers, FL 33913, Estados Unidos de América (Marta Isabel Francis; e-mail: mfrancis@alicoinc.com; tel.: +1 863 673 4774).

Podrán presentar una solicitud de revisión de un protocolo de diagnóstico las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF), las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) o los órganos auxiliares de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) a través de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (ippc@fao.org), que a su vez remitirá la solicitud al Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico (GTPD).

7. Agradecimientos

El primer proyecto del presente protocolo fue redactado por M. Cambra (IVIA, España [véase la sección anterior]), E. Bertolini (IVIA, España [véase la sección anterior; actualmente en UFRGS]), L. Levy (APHIS-USDA, Estados Unidos [véase la sección anterior]); S.P.F. van Vuuren (CRI, Sudáfrica [véase la sección anterior]) y M.I. Francis, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) (Uruguay [véase la sección anterior; actualmente en Alico, Inc.]).

La mayoría de las técnicas descritas se sometieron a pruebas interlaboratorios en el proyecto DIAGPRO, financiado por la Unión Europea, o se evaluaron en proyectos del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España.

8. Referencias

En el presente anexo se hace referencia a las NIMF. Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/core-activities/standards-setting/ispms>.

- Albertini, D., Vogel, R., Bové, C. y Bové, J.M.** 1988. Transmission and preliminary characterization of *Citrus tristeza virus* strain K. En L.W. Timmer, S.M. Garnsey y L. Navarro, eds. *Proceedings of the 10th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*. págs. 17–21. Riverside, CA. (www.iocv.org/proceedings.html).
- Ballester-Olmos, J.F., Pina, J.A., Carbonell, E., Moreno, P., Hermoso de Mendoza, A., Cambra, M. y Navarro, L.** 1993. Biological diversity of *Citrus tristeza virus* (CTV) isolates in Spain. *Plant Pathology*, 42: 219–229.
- Bar-Joseph, M., Marcus, R. y Lee, R.F.** 1989. The continuous challenge of *Citrus tristeza virus* control. *Annual Review of Phytopathology*, 27: 291–316.
- Bertolini, E., Moreno, A., Capote, N., Olmos, A., De Luis, A., Vidal, E., Pérez-Panadés, J. y Cambra, M.** 2008. Quantitative detection of *Citrus tristeza virus* in plant tissues and single aphids by real-time RT-PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 120: 177–188.
- Broadbent, P., Bevington, K.R. y Coote, B.G.** 1991. Control of stem pitting of grapefruit in Australia by mild strain protection. En R.H. Bransky, R.F. Lee y L.W. Timmer, eds. *Proceedings of the 11th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*. págs. 64–70. Riverside, CA (www.iocv.org/proceedings.html).
- Cambra, M., Boscia, D., Gil, M., Bertolini, E. y Olmos, A.** 2011. Immunology and immunological assays applied to the detection, diagnosis and control of fruit tree viruses. En A. Hadidi, M. Barba, T. Candresse y W. Jelkmann, eds. *Virus and virus-like disease of pome and stone fruits*, págs. 303–313. Saint Paul, MN, APS Press. 429 págs.
- Cambra, M., Garnsey, S.M., Permar, T.A., Henderson, C.T., Gumph, D. y Vela, C.** 1990. Detection of *Citrus tristeza virus* (CTV) with a mixture of monoclonal antibodies. *Phytopathology*, 80: 103.
- Cambra, M., Gorris, M.T., Marroquín, C., Román, M.P., Olmos, A., Martínez, M.C., Hermoso de Mendoza, A., López, A. y Navarro, L.** 2000a. Incidence and epidemiology of *Citrus tristeza virus* in the Valencian Community of Spain. *Virus Research*, 71: 85–95.
- Cambra, M., Gorris, M.T., Román, M.P., Terrada, E., Garnsey, S.M., Camarasa, E., Olmos, A. y Colomer, M.** 2000b. Routine detection of *Citrus tristeza virus* by direct Immunoprinting-ELISA method using specific monoclonal and recombinant antibodies. En J. da Graça, R.F. Lee y R.K. Yokomi, eds. *Proceedings of the 14th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*, págs. 34–41. Riverside, CA. (www.iocv.org/proceedings.html).
- Cambra, M., Gorris, M.T., Olmos, A., Martínez, M.C., Román, M.P., Bertolini, E., López, A. y Carbonell, E.A.** 2002. European Diagnostic Protocols (DIAGPRO) for *Citrus tristeza virus* in adult trees. En J. da Graça, R. Milne y L.W. Timmer, eds. *Proceedings of the 15th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*. págs. 69–77. Riverside, CA, (www.iocv.org/proceedings.html).
- Duran-Vila, N. y Moreno, P.** 2000. *Enfermedades de los cítricos*. Monografías de la Sociedad Española de Fitopatología (SEF) N.º 2. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa Libros y SEF (www.sef.es). 165 págs.
- Garnsey, S.M. y Cambra, M.** 1991. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for citrus pathogens. En C.N. Roistacher, ed. *Graft-transmissible diseases of citrus: Handbook for detection and diagnosis*, págs. 193–216. Roma, FAO. 286 págs.
- Garnsey, S.M. y Lee, R.F.** 1988. Tristeza. En J.O. Whiteside, S.M. Garnsey y L.W. Timmer, eds. *Compendium of citrus diseases*, págs. 48–50. APS Press. St. Paul, MN. 80 págs.
- Garnsey, S.M., Permar, T.A., Cambra, M. y Henderson, C.T.** 1993. Direct tissue blot immunoassay (DTBIA) for detection of *Citrus tristeza virus* (CTV). En P. Moreno, J. da Graça y L.W. Timmer, eds. *Proceedings of the 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*. págs. 39–50. Riverside, CA. (www.iocv.org/proceedings.html).

- Gottwald, T.R., Garnsey, S.M., Cambra, M., Moreno, P., Irej, M. y Borbón, J.** 1997. Comparative effects of aphid vector species on increase and spread of *Citrus tristeza virus*. *Fruits*, 52: 397–404.
- Gottwald, T.R., Polek, M.L. y Riley, K.** 2002. History, present incidence, and spatial distribution of *Citrus tristeza virus* in the California Central Valley. En N. Duran-Vila, R. G. Milne y J.V. da Graça, eds. *Proceedings of the 15th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*. págs. 83-94. Riverside, CA, (www.iocv.org/proceedings.html).
- da Graça, J.V. y van Vuuren, S.P.** 2010. Managing *Citrus tristeza virus* losses using cross protection. En A.V. Karasev y M.E. Hilf, eds. *Citrus tristeza virus complex and tristeza diseases*, págs. 247–260. Eagan, MN, APS Press. 304 págs.
- Harju, V.A., Henry, C.M., Cambra, M., Janse, J. y Jeffries, C.** 2000. Diagnostic protocols for organisms harmful to plants-DIAGPRO. *EPPO Bulletin*, 30: 365–366.
- Harper, S.J.** 2013. *Citrus tristeza virus*: Evolution of complex and varied genotypic groups. *Frontiers in Microbiology*, doi:10.3389/fmicb.2013.00093.
- Harper, S.J., Dawson, T.E. y Pearson, M.N.** 2008. Molecular analysis of the coat protein and minor coat protein genes of New Zealand *Citrus tristeza virus* isolates that overcome the resistance of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Australasian Plant Pathology*, 37: 379–386.
- Iharco, F.A., Sousa-Silva, C.R. y Alvarez-Alvarez, A.** 2005. First report on *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) in Spain and continental Portugal. *Agronomia Lusitana*, 51: 19–21.
- Licciardello, G., Raspagliesi, D., Bar-Joseph, M. y Catara, A.** 2012. Characterization of isolates of *Citrus tristeza virus* by sequential analyses of enzyme immunoassays and capillary electrophoresis-single-strand conformation polymorphisms. *Journal of Virological Methods*, 181: 139–147.
- Marroquín, C., Olmos, A., Gorris, M.T., Bertolini, E., Martínez, M.C., Carbonell, E.A., Hermoso de Mendoza, A.H. y Cambra, M.** 2004. Estimation of the number of aphids carrying *Citrus tristeza virus* that visit adult citrus trees. *Virus Research*, 100: 101–108.
- Moreno, P., Ambros, S., Albiach-Martí, M.R., Guerri, J. y Peña, L.** 2008. *Citrus tristeza virus*: A pathogen that changed the course of the citrus industry. *Molecular Plant Pathology*, doi:10.1111/J.1364-3703.2007.00455.X.
- Nikolaeva, O.V., Karasev, A.V., Powell, C.A., Gumpf, D.J., Garnsey, S.M. y Lee, R.F.** 1996. Mapping of epitopes for *Citrus tristeza virus*-specific monoclonal antibodies using bacterially expressed coat protein fragments. *Phytopathology*, 86: 974–979.
- Olmos, A., Cambra, M., Esteban, O., Gorris, M.T. y Terrada, E.** 1999. New device and method for capture, reverse transcription and nested PCR in a single closed tube. *Nucleic Acids Research*, 27: 1564–1565.
- Pappu, H.R., Manjunath, K.L., Lee, R.F. y Niblett, C.L.** 1993. Molecular characterization of a structural epitope that is largely conserved among severe isolates of a plant virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90: 3641–3644.
- Permar, T.A., Garnsey, S.M., Gumpf, D.J. y Lee, R.** 1990. A monoclonal antibody that discriminates strains of *Citrus tristeza virus*. *Phytopathology*, 80: 224–228.
- Roistacher, C.N.** 1991. *Graft-transmissible diseases of citrus: Handbook for detection and diagnosis*. Roma, FAO. 286 págs.
- Román, M.P., Cambra, M., Juárez, J., Moreno, P., Durán-Vila, N., Tanaka, F.A.O., Alves, E., Kitajima, E.W., Yamamoto, P.T., Bassanezi, R.B., Teixeira, D.C., Jesús Jr, W.C., Ayres, J.A., Gimenes-Fernandes, N., Rabenstein, F., Giroto, L.F. y Bové, J.M.** 2004. Sudden death of citrus in Brazil: A graft transmissible, bud union disease. *Plant Disease*, 88: 453–467.
- Ruiz-García, N., Mora-Aguilera, G., Rivas-Valencia, P., Ochoa-Martínez, D., Góngora-Canul, C., Loeza-Kuk, E.M., Gutiérrez-E, A., Ramírez-Valverde, G. y Álvarez-Ramos, R.** 2005. Probability model of *Citrus tristeza virus* detection in the tree canopy and reliability and efficiency of direct immunoprinting-ELISA. En M.E. Hilf, N. Duran-Vila y M. A. Rocha-Peña, eds.

- Proceedings of the 16th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*. págs. 196-204. Riverside, CA. (www.iocv.org/proceedings.html).
- Sackett, D.L., Haynes, R.B., Guyatt, G.H. y Tugwell, P.** 1991. *Clinical epidemiology: A basic science for clinical medicine*, segunda edición. Boston, MA, Little Brown and Co. 441 págs.
- Saponari, M., Manjunath, K. y Yokomi, R.K.** 2008. Quantitative detection of *Citrus tristeza virus* in citrus and aphids by real-time reverse transcription-PCR (TaqMan). *Journal of Virological Methods*, 147: 43–53.
- Terrada, E., Kerschbaumer, R.J., Giunta, G., Galeffi, P., Himmler, G. y Cambra, M.** 2000. Fully “Recombinant enzyme-linked immunosorbent assays” using genetically engineered single-chain antibody fusion proteins for detection of *Citrus tristeza virus*. *Phytopathology*, 90: 1337–1344.
- Timmer, L.W., Garnsey, S.M. y Graham, J.H.** 2000. *Compendium of citrus diseases*. Saint Paul, MN, APS Press. 92 págs.
- Vela, C., Cambra, M., Cortés, E., Moreno, P., Miguet, J., Pérez de San Román, C. y Sanz, A.** 1986. Production and characterization of monoclonal antibodies specific for *Citrus tristeza virus* and their use for diagnosis. *Journal of General Virology*, 67: 91–96.
- Vidal, E., Yokomi, R.K., Moreno, A., Bertolini, E. y Cambra, M.** 2012. Calculation of diagnostic parameters of advanced serological and molecular tissue-print methods for detection of *Citrus tristeza virus*. A model for other plant pathogens. *Phytopathology*, 102: 611-619.
- Yokomi, R.K., Garnsey, S.M., Civerolo, E.L. y Gumpf, D.** 1989. Transmission of exotic citrus tristeza isolates by a Florida colony of *Aphis gossypii*. *Plant Disease*, 73: 552–556.
- Yokomi, R.K., Saponari, M. y Sieburth, P.J.** 2010. Rapid differentiation and identification of potential severe strains of *Citrus tristeza virus* by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assays. *Phytopathology*, 100: 319–327.
- Zebzami, M., Garnsey, S.M., Nadori, E.B. y Hill, J.H.** 1999. Biological and serological characterization of *Citrus tristeza virus* (CTV) isolates from Morocco. *Phytopathologia Mediterranea*, 38: 95–100.

9. Figuras

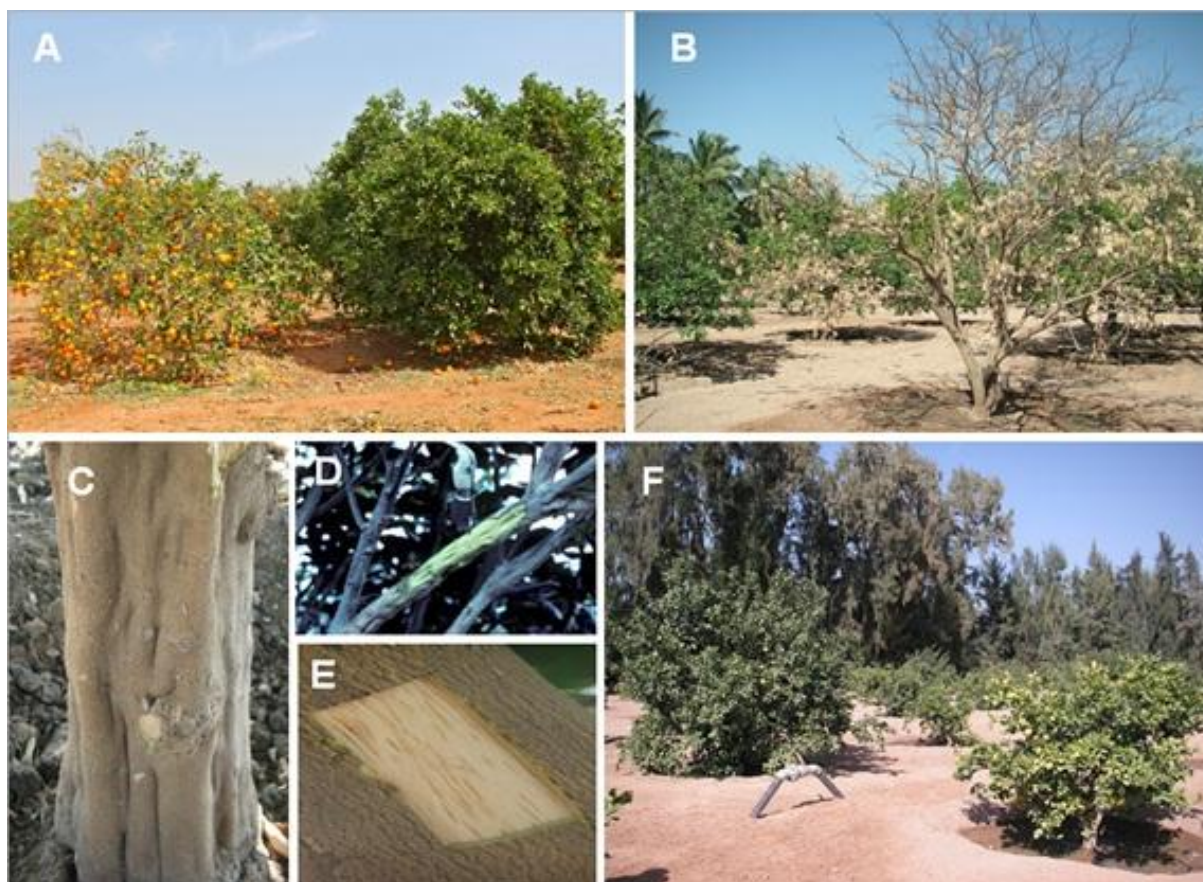


Figura 1. Síntomas de la infección por el virus de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*, CTV): A) síndrome de tristeza o decaimiento en naranjo dulce injertado sobre naranjo amargo infectado por el CTV (izquierda.) y árbol sin síntomas (derecha.); B) colapso o decaimiento rápido en toronjero injertado sobre naranjo amargo; C) acanaladuras en el tronco de un toronjero injertado sobre citrange Troyer causadas por una cepa agresiva de CTV; D) acanaladuras graves en las ramas de un toronjero; E) acanaladuras en el tronco de un naranjo dulce injertado sobre mandarino Cleopatra, y F) enanismo pronunciado en naranjos dulces injertados sobre citrange Carrizo infectados por el CTV (derecha.) comparados con un árbol sano (izquierda.).

Fotografías por gentileza de A: P. Moreno; B, C y E: M. Cambra; D: L. Navarro, y F: M. Cambra y J.A. Pina, todos del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, IVIA, Moncada (España).

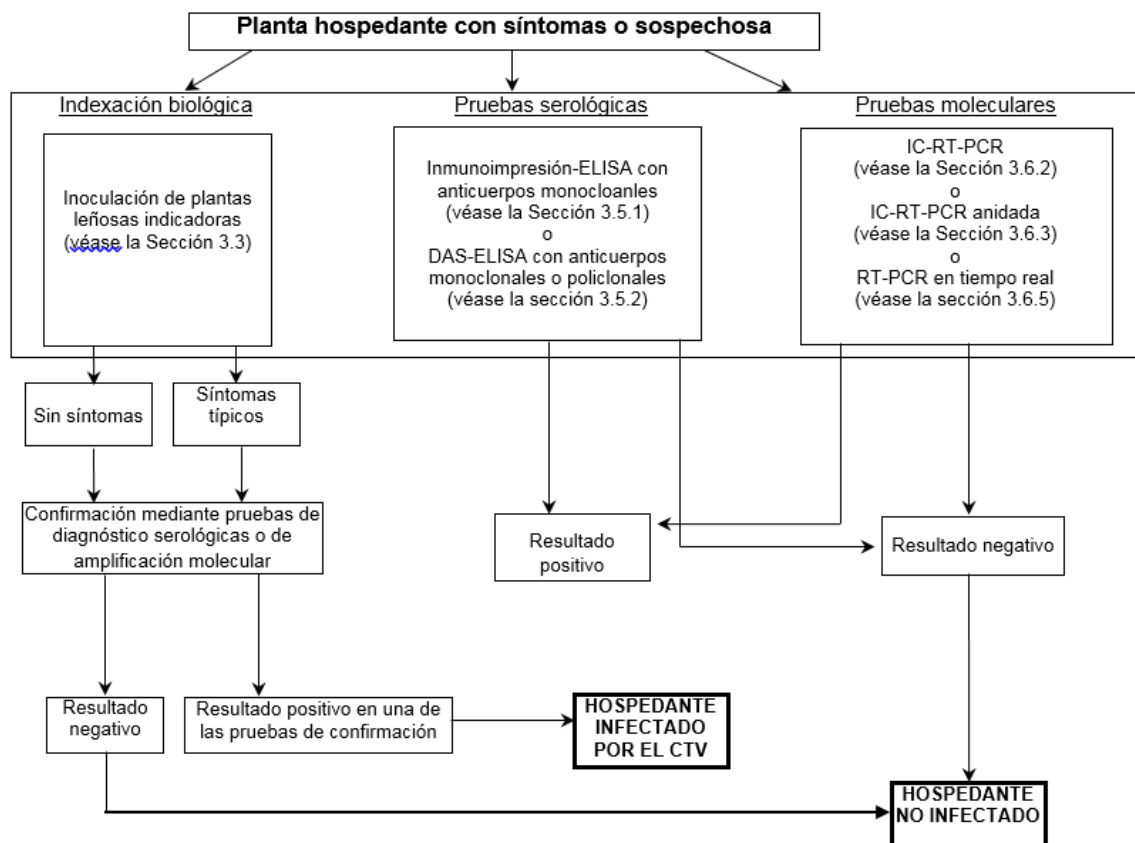


Figura 2. Diagrama de flujo para la detección y la identificación del virus de la tristeza de los cítricos (CTV). DAS, fase doble de anticuerpos; ELISA: ensayo de inmunoadsorción enzimática; IC: inmunocaptura; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; RT: transcripción inversa.

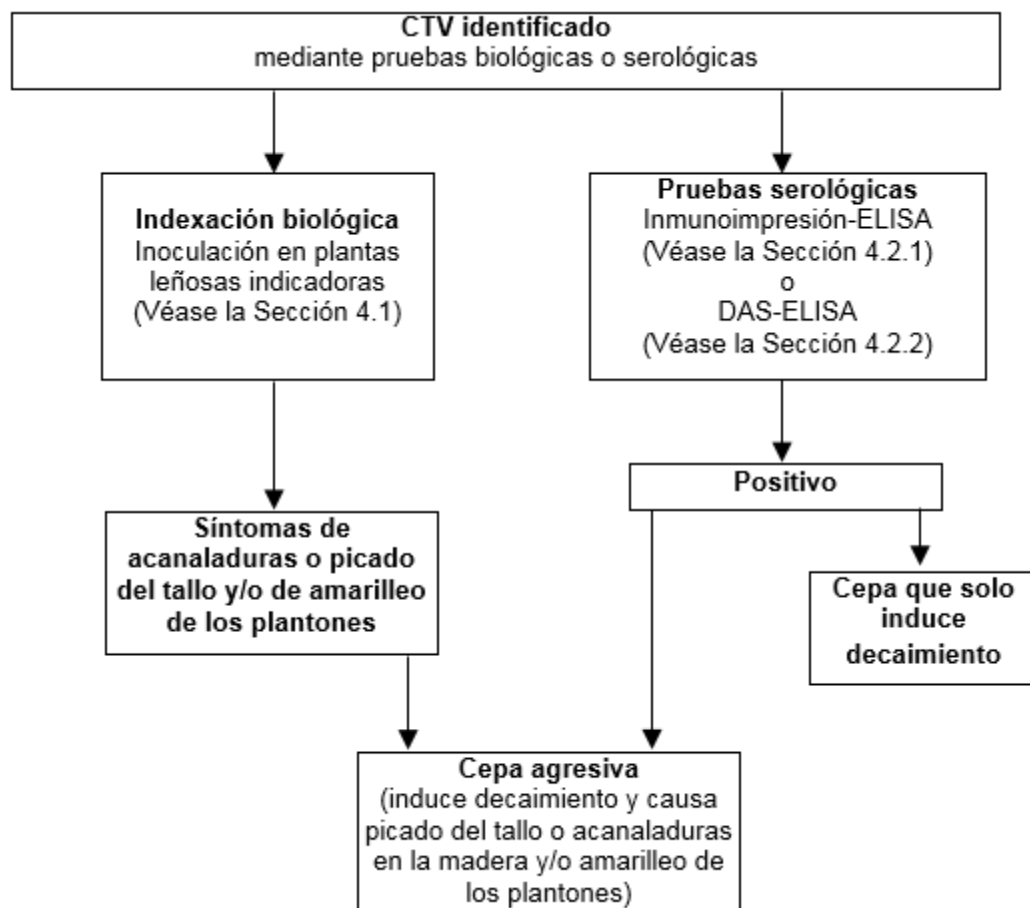


Figura 3. Diagrama de flujo para la identificación de cepas agresivas del virus de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*, CTV).

DAS: fase doble de anticuerpos; ELISA: ensayo de inmunoadsorción enzimática.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2004-11: El CN presentó la cuestión original: *Virus de la tristeza de los cítricos* (2004-021).

2006-04: La CMF-1 añadió esta cuestión al tema del programa de trabajo: *Virus y fitoplasmas* (2006-009).

2006-04: La CMF-1 (2006) añadió este tema al programa de trabajo: *Nematodos* (2006-008).

2014-04: Consulta de expertos.

2015-01: El CN aprobó presentar el texto para consulta a los miembros (2015_eSC_May_02).

2015-02: Consulta a los miembros.

2015-12: El grupo de redacción del PD examinó el proyecto de DP y las respuestas a las observaciones de los miembros.

2015-11: Presentación al CN a efectos de su aprobación para el período de notificación del PD (2016_eTPDP_Feb_02).

2016-03: El CN decidió por medios electrónicos someter la aprobación del PD al período de notificación de 45 días (2016_eSC_May_10).

2016-08: El CN aprobó el PD en nombre de la CMF (no se recibieron objeciones).

NIMF 27. Anexo 15. *Virus de la tristeza de los cítricos* (2016). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de publicación: 2017-01.

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia
Tel. +39 06 5705 4812 - Fax: +39 06 5705 4819
Correo electrónico: ippc@fao.org - Web: www.ippc.int



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Proteger de las plagas los recursos vegetales del mundo

PROTOSCOLOS DE DIAGNÓSTICO

NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS 27

NIMF 27
ANEXO 16

ESP

PD 16: Género *Liriomyza*

Producido por la Secretaría de la Convención Internacional
de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

Este protocolo de diagnóstico fue adoptado por el Comité de Normas, en nombre de la Comisión de Medidas Fitosanitarias, en agosto de 2016.

Este anexo es una parte prescriptiva de la NIMF 27.

NIMF 27

Protocolos de diagnóstico para plagas reglamentadas

PD 16: Género *Liriomyza*

Adoptado en 2016; publicado en 2016

ÍNDICE

1.	Información sobre la plaga	3
2.	Información taxonómica.....	4
3.	Detección.....	5
3.1	Recogida y conservación de los especímenes	6
3.1.1	Recogida de adultos	6
3.1.2	Recogida de etapas de desarrollo inmaduras.....	7
4.	Identificación.....	7
4.1	Identificación morfológica de los adultos de <i>Liriomyza</i>	8
4.1.1	Preparación de la genitalia de los machos adultos de <i>Liriomyza</i> para el examen microscópico	8
4.1.1.1	Determinación del sexo de las moscas.....	8
4.1.1.2	Preparación del distifalo del macho para su examen	8
4.1.2	Identificación de la familia Agromyzidae	9
4.1.3	Identificación del género <i>Liriomyza</i>	9
4.1.4	Identificación de las especies de <i>Liriomyza</i>	10
4.1.4.1	Caracteres morfológicos de los adultos de <i>Liriomyza</i> spp.	10
4.1.4.2	Estructura del distifalo de los machos adultos de <i>Liriomyza</i> spp.....	13
4.1.4.3	Características morfológicas de las etapas inmaduras de las cuatro especies objetivo de <i>Liriomyza</i>	14
4.2	Identificación molecular de las especies de <i>Liriomyza</i>	14
4.2.1	Controles para las pruebas moleculares	15
4.2.2	Extracción de ADN.....	15
4.2.3	Identificación de las cuatro especies objetivo mediante PCR-RFLP	15
4.2.3.1	Amplificación del gen <i>COII</i>	16
4.2.3.2	Digestión mediante enzimas de restricción y separación de los productos.....	16
4.2.4	Cebadores de PCR específicos para la identificación de las cuatro especies objetivo.....	17
4.2.4.1	Amplificación del gen <i>COI</i>	17
4.2.5	Diferenciación de las especies crípticas <i>L. langei</i> y <i>L. huidobrensis</i>	18
4.2.5.1	PCR-RFLP	18

4.2.5.2	Comparación de secuencias de ADN.....	19
4.2.6	Código de barras de ADN.....	19
5.	Registros.....	20
6.	Puntos de contacto para información adicional.....	20
7.	Agradecimientos.....	20
8.	Referencias.....	21
9.	Figuras.....	24

1. Información sobre la plaga

Agromyzidae es una familia de pequeñas moscas cuyas larvas se alimentan de tejidos internos de plantas, a menudo como minadoras o perforadoras de hojas y tallos. La mayoría de las especies de agromícidos infestan específicamente a un hospedante determinado o se restringen a un pequeño grupo de plantas emparentadas entre sí. Sin embargo, unas pocas especies muy polífagas se han convertido en plagas agrícolas y hortícolas en muchos lugares del mundo. Es el caso de cuatro especies de *Liriomyza* incluidas en la legislación sobre cuarentena vegetal de diversos países: *L. bryoniae*, *L. huidobrensis*, *L. sativae* y *L. trifolii*, todas ellas plagas polífagas tanto de cultivos ornamentales como hortícolas. En el presente protocolo, la identificación hasta el nivel de la especie se limita a estas cuatro especies.

El género *Liriomyza* está presente sobre todo en la zona templada del hemisferio norte, pero hay también especies en las regiones afrotropical, neotropical y oriental. En las más de 300 especies de *Liriomyza*, las moscas adultas tienen un aspecto muy similar: todas son pequeñas (1–3 mm de longitud) y, en vista superior, son en buena medida negras con frons (frente) y escutelo (escudete) amarillos en la mayoría de las especies (Figura 1). Por lo tanto, la diferenciación de las especies del género puede resultar difícil. Además, para identificar las cuatro especies de interés cuarentenario, el especialista responsable del diagnóstico no solo debe distinguir entre estas cuatro especies, sino que también debe distinguirlas de otras especies de *Liriomyza* pertinentes de la fauna local.

L. bryoniae es, fundamentalmente, una especie paleártica, de la que hay registros en toda Europa y Asia, así como en Egipto y Marruecos, en África del Norte (CABI, 2013). Es muy polífaga y se ha registrado su presencia en 16 familias de plantas (Spencer, 1990). Es una plaga del tomate, las cucurbitáceas (en particular del melón, la sandía y el pepino) y de la lechuga, el frijol (judía) y el altramuza cultivados en invernadero (Spencer, 1989, 1990).

L. huidobrensis, que se considera originaria de América del Sur, se ha dispersado actualmente por gran parte del mundo, en particular por partes de América del Norte, Europa, África, Asia y el Pacífico (Lonsdale, 2011; CABI, 2013). Sin embargo, la definición taxonómica de la especie se ha modificado recientemente y se ha separado en dos especies crípticas —*L. huidobrensis* y *L. langei*— y existe incertidumbre en cuanto a la delimitación precisa de sus distribuciones relativas. Actualmente, *L. langei* se ha confirmado solamente en los Estados Unidos y es muy probable que todas las poblaciones invasoras de fuera de los Estados Unidos correspondan a la especie ahora definida taxonómicamente como *L. huidobrensis* (Scheffer y Lewis, 2001; Scheffer *et al.*, 2001; Takano *et al.*, 2008; Lonsdale, 2011). *L. huidobrensis* es muy polífaga y se ha registrado su presencia en 14 familias de plantas (Spencer, 1990). Los cultivos de más importancia económica a los que infesta son la remolacha azucarera, la espinaca, el guisante (arveja), el frijol (judía), la patata (papa) y plantas ornamentales (sobre todo del género *Gypsophila* y rara vez el clavel y el crisantemo) (Spencer, 1989).

L. sativae es originaria de América del Norte, Central y del Sur y actualmente se ha dispersado a muchos lugares de Asia, África y el Pacífico, pero no a Europa ni a Australia (Lonsdale, 2011; CABI, 2013). Sin embargo, es probable que las notas sobre la distribución de *L. sativae* estén incompletas, ya que hay datos que indican que el área de distribución de la especie continúa ampliándose rápidamente. Esta especie, también muy polífaga, es plaga de muchas hortalizas y flores cultivadas (Spencer, 1973, 1990). Se ha registrado su presencia en nueve familias de plantas, aunque sus principales hospedantes son las familias Cucurbitaceae, Fabaceae y Solanaceae (Spencer, 1973, 1990).

L. trifolii, también originaria de América del Norte, Central y del Sur, se ha dispersado a grandes zonas de Europa, África, Asia y el Pacífico, muy probablemente como consecuencia del comercio de esquejes de crisantemo (Martinez y Etienne, 2002; Lonsdale, 2011; CABI, 2013). Es muy polífaga y se ha registrado su presencia en 25 familias de plantas (Spencer, 1990). Los cultivos de mayor importancia económica a los que infesta son el frijol (judía), el apio, el crisantemo, el pepino, las gerberas, la *Gypsophila*, la lechuga, la cebolla, la papa (patata) y el tomate (Spencer, 1989).

En el protocolo de diagnóstico se ha incluido una última (quinta) especie, *L. strigata*, debido a que está emparentada estrechamente tanto con *L. bryoniae* como con *L. huidobrensis* y, por lo tanto, el especialista responsable del diagnóstico debe ser capaz de descartarla para identificar con certeza las cuatro especies cuarentenarias. *L. strigata* es una especie euroasiática (Pitkin *et al.* [s. f.], citando a Spencer [1976], Dempewolf [2001], Ellis [2013] y Pape *et al.* [2013]). Aunque los límites orientales no están definidos claramente, su área de distribución se extiende más allá de los montes Urales (Spencer, 1976) y se ha registrado su presencia, con dudas, en Asia sudoriental (Dempewolf, 2004). Es muy polífaga, habiéndose registrado su presencia en 29 familias de plantas de todo el mundo (Spencer, 1990).

2. Información taxonómica

- Nombre:** *Liriomyza* Mik, 1894
- Sinónimos:** *Agrophila* Liroy, 1864, *Antineura* Melander, 1913, *Haplomyza* Hendel, 1914, *Praspedomyza* Hendel, 1931, *Craspedomyza* Enderlein, 1936, *Triticomyza* Blanchard, 1938
- Posición taxonómica:** Insecta, Diptera, Agromyzidae, Phytomyzinae
- Nombre:** *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach, 1858)
- Sinónimos:** *Liriomyza solani* Hering, 1927; *Liriomyza hydrocotylae* Hering, 1930; *Liriomyza mercurialis* Hering, 1932; *Liriomyza triton* Frey, 1945; *Liriomyza citrulli* Rohdendorf, 1950; *Liriomyza nipponallia* Sasakawa, 1961
- Nombres comunes en español:** minador del tomate, minador de hojas, minador de la hoja, mosca minadora, submarino
- Nombre:** *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926)
- Sinónimos:** *Liriomyza cucumifoliae* Blanchard, 1938; *Liriomyza decora* Blanchard, 1954; *Liriomyza dianthi* Frick, 1958

La relación taxonómica entre *L. huidobrensis* (Blanchard) y *L. langei* Frick es compleja. *L. huidobrensis* fue descrita originalmente por Blanchard (1926) a partir de especímenes capturados en Cineraria en la Argentina. Frick (1951) describió *L. langei* de California como una especie que, según señaló, era principalmente una plaga del guisante (arveja), aunque también había producido daños en *Aster*. Luego, en 1973, Spencer consideró que las dos especies eran sinónimas, ya que eran indistinguibles morfológicamente (y, de hecho, siguen siéndolo). Las dos especies fueron separadas formalmente en dos especies crípticas (Lonsdale, 2011) tras el estudio de sus secuencias de ADN mitocondrial y nuclear (Scheffer, 2000; Scheffer y Lewis, 2001) y con el respaldo de experimentos posteriores de cría (Takano *et al.*, 2008). El nombre *L. langei* Frick se rescató para la especie críptica de California, y el nombre *L. huidobrensis* (Blanchard) se aplicó a la especie críptica de América del Sur y Central.

Lonsdale (2011) intentó esbozar unos caracteres morfológicos de diagnóstico que sirvieran para diferenciar la “mayoría” de los especímenes de las dos especies, pero comprobó que los caracteres eran “sutiles y a veces se solapaban”, por lo que recomendó basar la identificación en datos moleculares siempre que fuera posible. Scheffer y sus colaboradores consideran que las áreas de distribución de las dos especies no se solapan (aunque Lonsdale [2011] registró *L. huidobrensis* en California, una vez en 1968 y otra en 2008, afirma que se desconoce si las poblaciones se establecieron) y que todas las poblaciones invasoras que habían estudiado eran de *L. huidobrensis* definida como tal (Scheffer y Lewis, 2001; Scheffer *et al.*, 2001). Esto significa que debe considerarse que las menciones de especímenes de California en artículos anteriores a los de Scheffer se refieren, con casi total certeza, a *L. langei*. *L. langei* es predominantemente una especie californiana, aunque ha sido introducida, según parece, en Hawái, Oregón y Washington; las poblaciones halladas en Florida, Utah y Virginia a mediados de la década de 1990 no se establecieron (Lonsdale, 2011). En México solamente se ha confirmado *L. huidobrensis* (Lonsdale, 2011), pero Takano *et al.* (2005) informaron de que se interceptaron especímenes de *L. langei* (descrito como el clado californiano) en una inspección en el Japón sobre hortalizas frescas procedentes de México.

Nombres comunes en español: minador sudamericano del guisante, minadora de los crisantemos, minador serpentina, minador de la papa, minador de las chacras, minador de la hoja, minador de hojas, mosca minadora, submarino

Nombre: *Liriomyza sativae* Blanchard, 1938

Sinónimos: *Agromyza subpusilla* Frost, 1943; *Liriomyza verbenicola* Hering, 1951; *Liriomyza pullata* Frick, 1952; *Liriomyza canomarginis* Frick, 1952; *Liriomyza minutiseta* Frick, 1952; *Liriomyza propepusilla* Frost, 1954; *Liriomyza munda* Frick, 1957; *Liriomyza guytona* Freeman, 1958; *Lemurimyza lycopersicae* Pla y de la Cruz, 1981.

Nombres comunes en español: minador de las hortalizas, minadora de los crisantemos, minador del frijol, minador serpentina, minador de la hoja, minador de hojas, mosca minadora, minador de los vegetales, submarino

Nombre: *Liriomyza trifolii* (Burgess, 1880)

Sinónimos: *Agromyza phaseolunulata* Frost, 1943; *Liriomyza alliovora* Frick, 1955

Nombres comunes en español: minador americano de las hojas, minador pequeño del frijol, minador común, mosca minadora, minador de la hoja, minador de hojas, minador de las hojas, submarino

3. Detección

Las perforaciones de alimentación y las galerías (o minas) suelen ser los primeros signos, y los más obvios, de la presencia de *Liriomyza*. Aunque los funcionarios encargados de la cuarentena deberían poder percibir claramente las galerías completamente formadas, los signos tempranos de la infestación son mucho menos obvios y se pasan por alto con facilidad (Spencer, 1989). Las galerías permanecen intactas y prácticamente sin variación durante semanas. La forma de las galerías se suele considerar una guía fiable para la identificación de las especies de agromícidos (dado que muchas de ellas son específicas con respecto al hospedante). No obstante, en el caso de las especies de plagas polífagas influyen en la forma de las galerías el hospedante, el estado físico y fisiológico de cada hoja y el número de larvas que minan una misma hoja. Dada esta mayor variabilidad, la identificación basada exclusivamente en la forma de las galerías debe interpretarse con cautela (EPPO, 2005). En las figuras 2 a 4 se proporcionan ejemplos de formas de las galerías de las cuatro especies cuarentenarias y de *L. strigata*.

Las hembras de mosca perforan las hojas de las plantas hospedantes con el ovipositor y producen unas lesiones que sirven como lugares de alimentación (de las moscas hembras y también de los machos) o de oviposición. Las perforaciones de alimentación de las especies de *Liriomyza* son redondeadas, habitualmente de 0,2 mm de diámetro, y se perciben como puntos blancos en el haz de la hoja. Las perforaciones de oviposición suelen ser más pequeñas (0,05 mm) y con una forma circular más uniforme. Las perforaciones de alimentación que realizan las especies de plagas de agromícidos polífagas *Chromatomyia horticola* y *Chromatomyia syngenesiae* son claramente más grandes y ovaladas que las que producen las moscas *Liriomyza*. No hay diferencias en el aspecto de las perforaciones de alimentación y de oviposición de las distintas especies de *Liriomyza* y no es posible identificar las especies basándose en el patrón de distribución de las perforaciones en la hoja. Las perforaciones de alimentación destruyen un gran número de células y son claramente visibles a simple vista (EPPO, 2005).

Las larvas se alimentan sobre todo del haz de la hoja, minando a través del clorénquima en empalizada. Las galerías suelen ser blanquecinas, con rastros de deyecciones que forman líneas negras discontinuas a lo largo de la hoja. Las repetidas circunvoluciones en una misma zona pequeña de la hoja generan a menudo un cambio de color de la galería, siendo habitual la aparición de áreas negras húmedas o marrones secas como resultado de las reacciones al minador de las hojas inducidas en la planta (EPPO, 2005).

Existen tres estadios larvarios y todos ellos se alimentan dentro de las hojas. Las larvas se alimentan predominantemente en la planta en la que se han depositado los huevos. Las larvas de *Liriomyza spp.* abandonan la hoja cuando están preparadas para pupar (Parrella y Bethke, 1984) y el orificio de salida tiene una forma característica de hendidura semicircular, a diferencia de las larvas de *C. horticola* y *C. syngenesiae* que pupan dentro de la hoja, en el extremo final de la galería larvaria, y suelen proyectar sus espiráculos anteriores hacia el exterior por el envés de la hoja. Por tanto, podrán encontrarse puparios de *Liriomyza* en los restos de cosechas, en el suelo o, a veces, sobre la superficie foliar.

Las distintas etapas de desarrollo de las especies se podrán encontrar en distintos lugares de la planta o de sus alrededores:

- huevos: insertados justo por debajo de la superficie foliar
- larvas: dentro de galerías en las hojas
- pupas: en los restos de cosechas, en el suelo o, a veces, en la superficie foliar
- adultos: volando libres o en la superficie de las hojas cuando realizan perforaciones de alimentación o de oviposición.

3.1 Recogida y conservación de los especímenes

Los especímenes de *Liriomyza* se pueden recoger en etapas de desarrollo inmaduras, presentes en muestras de hojas con galerías, o en su estadio adulto. Para confirmar la identificación de la especie se necesitan machos adultos, ya que los caracteres morfológicos que se utilizan para el diagnóstico se basan en la genitalia de los machos. Las hembras adultas a menudo solo son identificables con certeza hasta el nivel del género. La recogida de múltiples especímenes de una planta o procedencia aumentará la probabilidad de obtener moscas macho, lo cual es importante a no ser que se vayan a realizar pruebas moleculares para el diagnóstico de etapas de desarrollo inmaduras.

3.1.1 Recogida de adultos

Las moscas adultas normalmente se encuentran en el follaje y se pueden recoger a mano o barrerse del follaje con una red de mano para introducirlas en frascos de vidrio, o bien pueden recogerse con un muestreador de succión. Otra opción es recogerlas con trampas adhesivas amarillas, sobre todo en los invernaderos. Sin embargo, el método más práctico y fiable para obtener especímenes de minador de las hojas de especies como las del género *Liriomyza* es recoger hojas con galerías que contengan larvas vivas. Las larvas se pueden introducir en un frasco grande para criarlas en el laboratorio hasta su transformación en moscas adultas. Las técnicas de cría de agromícidos se describen en Griffiths (1962) y en Fisher *et al.* (2005). 2005.

Los adultos y las larvas se pueden sumergir en etanol al 70% y almacenarse indefinidamente, aunque perderán su color gradualmente. Los frascos con especímenes en etanol deberían cerrarse herméticamente para prevenir fugas y embalsarse con material de acolchado en una caja resistente. También es posible almacenar los especímenes adultos en seco, por ejemplo, fijados con alfileres.

Los especímenes que se utilizarán en pruebas de diagnóstico moleculares deberían matarse y conservarse en etanol al 96 %–100 %, almacenarse congelados (a aproximadamente $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $-4,0\text{ }^{\circ}\text{C}$) o conservarse en tarjetas FTA (Whatman)1 (Blacket et al., 2015).

3.1.2 Recogida de etapas de desarrollo inmaduras

Si la finalidad es recoger y conservar muestras vegetales, se deberían seleccionar hojas con perforaciones o galerías que se sospecha que son de alimentación y colocarlas entre hojas de periódico para que se sequen lentamente.

Las hojas con galerías ocupadas por larvas que se quieran destinar a la cría en el laboratorio de otras etapas de desarrollo, en particular de adultos, para su identificación, se deben empaquetar en papel tisú de laboratorio ligeramente humedecido, pero no excesivamente empapado, y enviarse por correo en bolsas acolchadas y selladas. En el laboratorio, las hojas con galerías que contienen larvas vivas se pueden disponer en placas de Petri selladas herméticamente, en las que se introducen porciones de papel de filtro humedecido, y las placas se almacenan en una incubadora a aproximadamente $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ (vigilando cada dos o tres días para retirar las hojas en las que hayan crecido hongos, bacterias, etc.).

4. Identificación

Solo los especímenes macho adultos de minador de las hojas se pueden identificar mediante examen morfológico, dado que no hay claves adecuadas para la identificación hasta el nivel de la especie de las hembras adultas, ni de los huevos, larvas o pupas. Los machos de mosca adultos se pueden identificar examinando sus caracteres morfológicos, en concreto, la genitalia. Los caracteres morfológicos de la genitalia de los machos se examinan con un microscopio de gran resolución (con un aumento de aproximadamente $100\times$). La aplicación de este protocolo con preparaciones de buena calidad debería permitir identificar con certeza, exclusivamente mediante examen morfológico, los adultos de las cuatro especies cuarentenarias de *Liriomyza* (con la excepción de *L. huidobrensis* y *L. langei* por los motivos expuestos en la Sección 1).

Para las pruebas de identificación moleculares puede utilizarse cualquiera de las etapas de desarrollo, incluidos los estadios inmaduros en los que no es posible la identificación morfológica hasta el nivel de la especie. Además, en los casos en que se cuente con especímenes adultos atípicos o dañados, las pruebas moleculares podrán proporcionar más información de interés sobre su identidad. Sin embargo, la especificidad de las pruebas moleculares podrá ser limitada, ya que se han desarrollado con una finalidad y se han evaluado con un número limitado de especies y utilizando muestras de regiones geográficas distintas. Por lo tanto, los resultados de las pruebas moleculares deben interpretarse con precaución.

4.1 Identificación morfológica de los adultos de *Liriomyza*

Para identificar con certeza cualquiera de las cuatro especies objetivo de *Liriomyza* es necesario examinar la genitalia de los machos (en concreto, el distifalo: Figura 5). A continuación se describe brevemente un método adecuado de preparación de los especímenes (basado en Malipatil y Ridland, 2008). En Spencer (1981, 1992), Spencer y Steyskal (1986) y EPPO (2005) se aportan otros pormenores o variaciones del método. Para confirmar la identificación de la especie, los datos de la estructura del distifalo deberían compararse con los caracteres de la morfología externa (Cuadro 1).

4.1.1 Preparación de la genitalia de los machos adultos de *Liriomyza* para el examen microscópico

4.1.1.1 Determinación del sexo de las moscas

En los machos, los lóbulos del epandrio, que son oscuros y pubescentes y no están tan esclerotizados como el tubo de la hembra, se curvan alrededor del postabdomen y hacia abajo, de la parte dorsal hacia la ventral (Figura 6a). Entre los lóbulos se observa una abertura longitudinal, triangular cuando está completamente abierta, a través de la cual puede observarse el resto de la genitalia del macho. Los lóbulos apenas se extienden más allá del último terguito. En las hembras, los segmentos abdominales posteriores al sexto forman un tubo negro fuertemente esclerotizado que se extiende por detrás del terguito 6 (Figura 6b), con una abertura circular al final del tubo, visible en la vista posterior. El terguito 6 cubre la mitad basal del tubo en vista superior, aunque es visible en las vistas lateral y ventral.

4.1.1.2 Preparación del distifalo del macho para su examen

Para permitir la limpieza de los tejidos y la observación, el abdomen debería retirarse del cuerpo. El abdomen se separa con cuidado del resto del cuerpo de la mosca con unas agujas de disección finas (que se pueden fabricar pegando el extremo romo de microalfileres puntiagudos al extremo de una cerilla de madera, haciendo primero un agujero poco profundo con un alfiler normal). Para limpiar los tejidos, el abdomen se puede hervir en una solución al 10 % de hidróxido de potasio (KOH) o hidróxido de sodio (NaOH) durante 2–4 min, o bien puede dejarse en KOH o NaOH frío al 10 % de un día para otro. Tras transferirlo a un baño de agua destilada para neutralizar el KOH o el NaOH, el abdomen tratado está preparado para transferirlo a una gota de glicerol sobre un portaobjetos con cavidad.

Con ayuda de una lupa binocular y de las agujas de disección finas se disecciona cuidadosamente el complejo genital de las membranas que lo rodean, la cutícula y la musculatura asociada. El complejo genital se coloca con las agujas de disección finas para su observación en vista lateral con un microscopio compuesto, con un aumento de hasta 400×. Luego se recoloca el complejo genital para la observación del distifalo en vista ventral, con un aumento de 400×, sin cubreobjetos. El distifalo se debe observar en varias posiciones (p. ej., lateral, dorsal y ventral), para lo cual es necesario recolocararlo con menos aumentos.

Para realizar preparaciones semipermanentes (p. ej., para las identificaciones sistemáticas), el complejo genital se debería transferir a una gota de glicerol sobre un portaobjetos plano limpio. La genitalia se sumerge suavemente en el líquido de montaje y se cubre cuidadosamente con un cubreobjetos circular para dispersar el líquido de manera uniforme.

Si se necesitan preparaciones permanentes, el abdomen se debería limpiar en KOH y neutralizarse en ácido acético glacial frío de la forma antes descrita. A continuación, el abdomen puede transferirse a etanol al 70 % y, con ayuda de una lupa binocular y de las agujas de disección finas, se disecciona cuidadosamente el complejo genital de las membranas que lo rodean, la cutícula y la musculatura asociada. La genitalia diseccionada se debería transferir primero a etanol puro durante 2–4 min y luego a esencia de clavo (en la cual, si es necesario, puede almacenarse indefinidamente). La genitalia se transfiere a etanol al 70 % (durante aproximadamente 10 min), luego a etanol al 95 % (durante aproximadamente 10 min) y, finalmente, a esencia de clavo (durante al menos 5 min). A continuación, la genitalia se puede montar permanentemente

sobre un portaobjetos en una gota de bálsamo del Canadá bajo un cubreobjetos. Todas las preparaciones deben etiquetarse con la información pertinente en la que detalle el lugar de obtención, el hospedante, la fecha de obtención, el nombre del colector (si se conoce), el nombre de la especie, el nombre del identificador y un código que permita vincular la muestra con el resto del espécimen.

El resto del espécimen de mosca se debería montar en una tarjeta triangular con una etiqueta adecuada que permita vincularlo con su genitalia montada en portaobjetos.

4.1.2 Identificación de la familia Agromyzidae

La familia *Agromyzidae* engloba unas 2 500 especies distribuidas por todo el mundo (Spencer, 1989, 1990). Spencer (1972, 1973, 1987), Dempewolf (2004) y Boucher (2010) han publicado descripciones detalladas de la morfología de los agromícidos.

En el presente documento se utiliza la nomenclatura morfológica descrita en Yeates *et al.* (2004); un recurso en línea en el que se muestran ilustraciones claras de la anatomía de una mosca *Acalypratae* típica (como las *Agromyzidae*).

La siguiente combinación de caracteres define a la familia *Agromyzidae* (Hennig, 1958; Spencer, 1987; Boucher 2010) (Figura 7):

- pequeño tamaño, de 1 a 6 mm, pero habitualmente de 1 a 3 mm
- presencia de vibrisas
- presencia de una a siete setas frontales
- ala con discontinuidad costal en el ápice de la vena subcostal (Sc)
- ala con la celda cubital pequeña; venas alares A_1+CuA_2 que no alcanzan el margen del ala
- escleritos pregenitales del macho con terguitos 6-8 fusionados en un complejo, con solo dos espiráculos entre el terguito 5 y el segmento genital
- la parte anterior del séptimo segmento abdominal de la hembra forma un oviscapto.

Generalmente, las larvas (Figura 8a) son cilíndricas, más estrechas en su parte anterior, con sendas proyecciones en las que se ubican los espiráculos anterior y posterior (figuras 8b y d), el primero situado en la superficie dorsal del protórax y el segundo en la parte trasera, orientados hacia atrás. Las larvas tienen también piezas bucales fuertemente esclerotizadas; las mandíbulas, cuyo eje longitudinal está aproximadamente en ángulo recto en relación con el resto del esqueleto cefalofaríngeo (Figura 8c), normalmente poseen dos o más pares de dientes del mismo tamaño dirigidos hacia delante, con los cornos ventrales (“astas” pareadas dirigidas hacia atrás) normalmente más cortos que los dorsales.

En la práctica, los agromícidos son reconocibles porque sus larvas se alimentan del tejido vivo de las plantas (tres cuartas partes de ellos son minadores de las hojas). Sin embargo, hay también minadores de hojas en otras familias de dípteros, como *Anthomyiidae* y *Drosophilidae*. En Ferrar (1987) se ofrece información resumida sobre la morfología y la biología de los estadios inmaduros de los agromícidos, con una amplia bibliografía e ilustraciones del esqueleto cefalofaríngeo y de los espiráculos posteriores de varias especies.

4.1.3 Identificación del género *Liriomyza*

Las moscas adultas del género *Liriomyza* poseen los siguientes caracteres morfológicos (EPPO, 2005; Spencer, 1976):

- sétulas frontorbitales reclinadas (que apuntan hacia atrás)
- área prescutelar oscura concolora con el escudo en la mayoría de las especies, raramente amarilla
- escutelo amarillo en la mayoría de las especies, raramente oscuro

- la vena subcostal se pliega en la parte distal y termina independientemente de la costal
- la vena costal se extiende hasta la vena M_{1+2}
- celda discal (dm) pequeña
- presencia de segunda vena transversa (dm-cu) (posterior) en la mayoría de las especies
- presencia de órgano estridulador en los machos (constituido por un “rascador”, un reborde quitinizado en los fémures posteriores y una “lima”, una línea de escamas quitinizadas bajas en la membrana que une los terguitos y los esternitos abdominales).

En la práctica, la mayoría de las especies de *Liriomyza* (también de las cuatro especies objetivo incluidas en este protocolo de diagnóstico), vistas desde arriba, son primordialmente negras con frons amarillo y escutelo amarillo intenso. Las patas son amarillas de tonos diversos. Las especies objetivo presentan una venación alar típica (Figura 9) y la genitalia de los machos es la habitual del género.

Varios géneros podrán confundirse con *Liriomyza*. Los géneros estrechamente emparentados *Phytomyza*, *Chromatomyia* y *Phytoliriomyza* generalmente se pueden distinguir de *Liriomyza* por las sétulas frontorbitales proclinadas (inclinadas hacia adelante) —en *Liriomyza* siempre son reclinadas, aunque ocasionalmente son erectas o ausentes— y por el escutelo, que generalmente es gris o negro y ocasionalmente ligeramente amarillento en el centro —pero completamente amarillo en la mayoría de las especies de *Liriomyza*—. En *Phytomyza* y *Chromatomyia*, la vena costal se extiende solamente hasta la R_{4+5} , mientras que en *Phytoliriomyza* y *Liriomyza* se extiende hasta la M_{1+2} (Spencer, 1977). Las especies de *Phytoliriomyza* son galígenas (forman agallas en tallos u hojas) y se alimentan de los tejidos internos, mientras que las especies de *Chromatomyia*, *Phytomyza* y *Liriomyza* son típicamente minadoras de las hojas.

4.1.4 Identificación de las especies de *Liriomyza*

4.1.4.1 Caracteres morfológicos de los adultos de *Liriomyza* spp.

En el Cuadro 1 se ofrece un resumen simplificado de los principales caracteres de diagnóstico de *L. bryoniae*, *L. huidobrensis*, *L. sativae* y *L. trifolii* (así como de *L. strigata*, a efectos de su descarte). El cuadro se complementa con las imágenes ilustrativas (microfotografías) del distifalo de las figuras 10 y 11.

En Spencer (1965, 1973), Dempewolf (2004), Malipatil et al. (2004) y Shiao (2004) se aportan descripciones e ilustraciones más detalladas de la morfología de estas especies. Los rasgos de diagnóstico claves se muestran en la Biblioteca de imágenes de plagas y enfermedades (PaDIL) (Malipatil 2007a, 2007b, 2007c).

Los adultos también se pueden identificar mediante claves. En Malipatil y Ridland (2008) se describe una clave para 17 especies de importancia económica, algunas endémicas de Australia. Además, en Dempewolf (2004) se ofrece un sistema de identificación mediante microfotografías de especies de plagas de todo el mundo. En lo que respecta concretamente a las claves para las especies de *Liriomyza*, los estudios de Spencer aportan varias claves y catálogos regionales exhaustivos. En ellos se describe la fauna local de cada región, que obviamente varía de unas regiones a otras, y esta información influye de forma diferencial en la eliminación positiva de taxones no buscados. Una lista completa de estas obras puede encontrarse en Spencer (1973). Además, puede resultar útil tener en cuenta la planta hospedante en la que se ha detectado la posible especie cuarentenaria de *Liriomyza*, puesto que se reduce así el número de otras especies de agromícidos que podrán estar presentes en el mismo contexto biológico y cuya consideración podrá ser necesario descartar (p. ej., para Europa, véase Ellis [s. f.]).

Cuadro 1. Caracteres morfológicos de los adultos de las especies de *Liriomyza* seleccionadas[†]

	<i>L. bryoniae</i>	<i>L. huidobrensis</i> [†]	<i>L. sativae</i>	<i>L. strigata</i>	<i>L. trifolii</i>
Distifalo del macho	Dos lóbulos distales, con bordes redondeados	Dos lóbulos distales que se juntan solo en los bordes; bordes de los lóbulos prolongados anteroventralmente	Un solo lóbulo distal con una ligera constricción en su parte media en vista dorsoventral; el lóbulo está más esclerosado y su parte basal es más corta	Dos lóbulos distales que se juntan desde los bordes hasta las bases; bordes de los lóbulos prolongados anteroventralmente	Un lóbulo distal con una constricción profunda en su parte media en vista dorsoventral; lóbulo menos esclerosado y con una parte basal más larga
Setas verticales	Ambas setas verticales sobre fondo amarillo	Ambas setas verticales sobre fondo negro	Setas verticales externas sobre fondo negro, que podrá extenderse justo hasta las setas verticales internas situadas, en caso contrario, sobre fondo amarillo	Coloración negra detrás de los ojos que se extiende al menos hasta las setas verticales externas, pero setas verticales internas sobre fondo amarillo	Ambas setas verticales sobre fondo amarillo
Anepisterno	Predominantemente amarillo con una pequeña marca negra en la parte frontal del margen inferior	Amarillo con una mancha negra variable, generalmente en las tres cuartas partes inferiores	Predominantemente amarillo con un área oscura de tamaño variable, desde una pequeña barra a lo largo del margen inferior hasta una mancha a lo largo de todo el margen inferior, con una extensión ascendente amplia por el margen frontal y una extensión ascendente estrecha por el margen posterior	Amarillo pero con una mancha negra variable en los márgenes inferior y frontal, que puede extenderse por la mitad inferior	Amarillo con una pequeña marca gris negruzca en la parte frontal del margen inferior
Vena CuA₁	longitud de <i>a</i> doble que la de <i>b</i>	longitud de <i>a</i> 2-2,5 veces mayor que <i>b</i>	longitud de <i>a</i> 3-4 veces mayor que <i>b</i>	longitud de <i>a</i> 2-3 veces mayor que <i>b</i>	longitud de <i>a</i> 3-4 veces mayor que <i>b</i>
Tercer segmento antenal	Pequeño y amarillo	Ligeramente dilatado, normalmente oscurecido	Pequeño y amarillo	Pequeño y amarillo	Pequeño y amarillo
Frons y órbitas	Frons de color amarillo intenso, órbitas ligeramente más pálidas	Frons amarillo, generalmente más anaranjado que amarillo limón pálido; parte superior de las órbitas ligeramente oscura al	Frons y órbitas de color amarillo intenso	Frons y órbitas amarillos	Frons y órbitas amarillos

	<i>L. bryoniae</i>	<i>L. huidobrensis</i> [‡]	<i>L. sativae</i>	<i>L. strigata</i>	<i>L. trifolii</i>
		menos hasta las setas orbitales superiores			
Fémures	De color amarillo intenso con algunas estriaciones parduzcas	Amarillos, variablemente oscurecidos con estriaciones negras	De color amarillo intenso	Amarillos con algunas estriaciones parduzcas	Amarillos, ocasionalmente con ligeras estriaciones parduzcas
Mesonoto	Negro, predominantemente brillante pero con fondo mate perceptible	Negro mate	Negro brillante	Negro, brillante pero ligeramente mate	Negro mate con tono de fondo gris
Terguitos abdominales de los machos	Segundo y tercer tergutitos visibles divididos por una estriación amarilla en su parte media	Solamente el segundo tergutito visible dividido por una estriación amarilla en su parte media	Solamente el segundo tergutito visible dividido por una estriación amarilla en su parte media	–	Del segundo al quinto tergutitos visibles divididos por una estriación amarilla en su parte media
Longitud alar	1,75-2,1 mm	1,7-2,25 mm	1,3-1,7 mm	1,8-2,1 mm	1,3-1,7 mm

Fuente: Recopilado a partir de Spencer (1973, 1976), con información sobre el distifalo de EPPO (2005) e información sobre los tergutitos abdominales del macho de Shiao (2004) (que no incluyó a *L. strigata* en su análisis).

[†] Véanse también las figuras 7 a 11.

[‡] *L. langei* es imposible de distinguir morfológicamente de *L. huidobrensis*.

4.1.4.2 Estructura del distifalo de los machos adultos de *Liriomyza* spp.

Las especies de *Liriomyza* consideradas aquí se dividen en dos grupos naturales diferenciados por la estructura de la genitalia de los machos (en concreto, del distifalo), así como por el color del cuerpo y la estructura de los espiráculos posteriores de las larvas:

- grupo 1: *L. bryoniae*, *L. huidobrensis* y *L. strigata*
- grupo 2: *L. sativae* y *L. trifolii*.

Sin embargo, los caracteres externos de las moscas adultas que son útiles para la identificación (Cuadro 1), en especial los que se basan en el color, no encajan perfectamente en estos dos grupos.

El distifalo es una estructura muy pequeña y frágil recubierta por membranas. Se trata de la parte terminal del edeago (u órgano intromitente, que forma parte de la genitalia del macho) (Figura 5) y su compleja estructura tridimensional tiene un valor considerable para el diagnóstico. De hecho, el distifalo proporciona un único rasgo que permite identificar de manera fiable las cuatro especies objetivo. La estructura básica del distifalo difiere en los dos grupos naturales de especies: en el grupo 1 presenta dos lóbulos distales situados uno al lado del otro (Figura 10), mientras que en el grupo 2 tiene un único lóbulo distal con una constricción en su parte media que lo divide en dos secciones definidas, la inferior y la superior (Figura 11). A continuación se proporciona una clave que permite la identificación de las cuatro especies objetivo basándose en el distifalo. Por motivos prácticos, se incluye también en la clave *L. strigata*, que está estrechamente emparentada con *L. bryoniae* y *L. huidobrensis* y que también es polífaga y, por tanto, puede encontrarse en plantas hospedantes similares.

No obstante, las diferencias entre algunos de los pares de especies son sutiles y las observaciones de la estructura del distifalo debería cotejarse con las de la morfología externa (Cuadro 1) para asegurarse de que no se ha malinterpretado la estructura del distifalo. Si todas las observaciones se corresponden, se pueden descartar todas las demás especies de *Liriomyza*, incluidas las no descritas aquí.

Clave diagnóstica para la identificación de *Liriomyza* spp. basándose en el distifalo del macho

Esta clave se complementa con las figuras 10 y 11.

1. Con un solo lóbulo distal (Figura 11e, f)**2**
 - Con un par de lóbulos distales (Figura 10a–c, g–k)**3**
2. Con constricción profunda entre las partes apical y basal del lóbulo: sección basal fuertemente curvada (Figura 11f)***L. trifolii***
 - Con constricción poco profunda solamente entre las partes apical y basal del lóbulo: la sección basal no está fuertemente curvada (Figura 11e)***L. sativae***
3. Bordes de los lóbulos circulares (no prolongados anteroventralmente); uniformemente esclerosados (Figura 10a)***L. bryoniae***
 - Bordes de los lóbulos proyectados (prolongados anteroventralmente) (Figura 10b, c)**4**
4. Lóbulos que se juntan en la parte media solamente por los bordes (Figura 10h).....***L. huidobrensis****
 - Lóbulos que se juntan en la parte media desde los bordes hasta las bases (Figura 10i).....***L. strigata***

* *L. langei* es imposible de distinguir morfológicamente de *L. huidobrensis*.

4.1.4.3 Características morfológicas de las etapas inmaduras de las cuatro especies objetivo de *Liriomyza*

De las cuatro etapas de desarrollo (huevo, larva, pupa y adulto) solo los machos de mosca adultos pueden identificarse con certeza hasta el nivel de la especie por sus características morfológicas (la forma de su genitalia). Las características morfológicas de las larvas y de las pupas se pueden utilizar para distinguir entre los miembros de los dos grupos naturales de especies descritos en la Sección 4.1.4.2. Esta información puede ayudar en la identificación de la especie, pero es insuficiente por sí misma. Para distinguir entre las especies incluidas en el protocolo, la identificación morfológica se puede complementar con ensayos moleculares (Sección 4.2).

Huevos

Los huevos se depositan dentro del tejido foliar. Son blancos y ovalados, de unos 0,25 mm de longitud. No permiten identificar ni el género ni la especie.

Larvas y pupas

Hay tres estadios larvarios que se alimentan a medida que excavan a través del tejido foliar. Las larvas recién emergidas tienen unos 0,5 mm de largo, pero al terminar su desarrollo alcanzan los 3,0 mm. Su forma macroscópica es la típica de los agromícidos (véase la Sección 4.1.2). Las pupas (Figura 12) son cilíndricas ovaladas, de unos 2,0 mm de longitud, muy ligeramente aplanadas ventralmente y con espiráculos anteriores y posteriores protuberantes. En la práctica, se pueden distinguir morfológicamente las larvas y las pupas de los dos grupos naturales (pero no las especies dentro de los grupos) de la manera siguiente:

Larvas del grupo 1

Las larvas de *L. bryoniae*, *L. huidobrensis* y *L. strigata* son de color crema pero en el estadio final desarrollan una mancha dorsal de color amarillo anaranjado en el extremo anterior, que puede extenderse por los lados hasta la superficie ventral (Figura 13). Los espiráculos posteriores son elípticos, con poros en el borde. El número de poros puede resultar difícil de observar; según Spencer (1973): *L. bryoniae* tiene 7–12 poros, *L. huidobrensis* unos 6–9 poros, y *L. strigata* 10–12 poros. Los puparios son de color variable, de amarillo anaranjado a marrón oscuro. En *L. bryoniae* y *L. strigata* el color de los puparios corresponde, en su mayor parte, aunque no exclusivamente, al extremo más claro de la gama de colores. Los puparios de *L. huidobrensis* son, por lo general, gris antracita. La forma de los espiráculos larvarios se mantiene en el pupario, aunque los poros son más difíciles de discernir.

Larvas del grupo 2

Las larvas de *L. sativae* y *L. trifolii* son translúcidas cuando acaban de emerger; posteriormente, todo el cuerpo se vuelve amarillo anaranjado. Los espiráculos posteriores tienen forma de tricornio; cada espiráculo tiene tres poros, cada uno en una proyección diferente, los dos exteriores elongados. Los puparios son naranjas amarillentos, en ocasiones más oscuros, de color marrón dorado. La forma de los espiráculos larvarios se mantiene en el pupario pero los detalles son menos patentes.

4.2 Identificación molecular de las especies de *Liriomyza*

Para identificar las especies de *Liriomyza* se han utilizado diversas pruebas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), como la PCR combinada con el análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés); la PCR con detección en el punto final (*end-point PCR*) mediante cebadores específicos de la especie; la PCR en tiempo real (*real-time PCR*), y la comparación de secuencias de ADN. De todas estas pruebas, a continuación se describen las que se pueden utilizar para distinguir entre las cuatro especies objetivo (*L. bryoniae*, *L. huidobrensis*, *L. sativae* y *L. trifolii*) o entre *L. huidobrensis* y *L. langei*.

En este protocolo de diagnóstico, las pruebas (con inclusión de las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en ellas se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad y/o reproducibilidad alcanzado. No se han validado formalmente la sensibilidad ni la reproductibilidad analíticas de ninguno de los métodos publicados para estas especies. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

En las secciones siguientes se describe la especificidad de cada método: la especie de *Liriomyza* utilizada en la evaluación de cada método y la finalidad original para la que se diseñó el análisis. Teniendo en cuenta las limitaciones específicas de las pruebas moleculares, un resultado negativo en una prueba molecular no excluye la posibilidad de identificación positiva mediante pruebas morfológicas.

4.2.1 Controles para las pruebas moleculares

Para considerar fidedigno el resultado de las pruebas, en cada serie de aislamiento de ácidos nucleicos y de amplificación del ácido nucleico de la plaga objetivo se deberían tener en cuenta los controles adecuados, que dependerán del tipo de prueba utilizada y del grado de certidumbre necesario. Para la PCR, deberían utilizarse, como mínimo, un control positivo de ácido nucleico, un control negativo de amplificación (control sin molde) y, cuando sea pertinente, un control negativo de extracción.

4.2.2 Extracción de ADN

Puede extraerse ADN adecuado para pruebas de PCR de un único espécimen de *Liriomyza*, ya sea una larva, pupa o adulto, con diversos equipos (kits) comerciales de extracción de ADN, siguiendo las instrucciones del fabricante (Scheffer *et al.*, 2001, 2006; Kox *et al.*, 2005; Nakamura *et al.*, 2013). Para obtener más información sobre los kits utilizados en cada una de las pruebas descritas a continuación, consulte el artículo original. Los laboratorios podrán determinar que otras técnicas de extracción son igual de eficaces; el ADN se podrá extraer mediante cualquier método de extracción de ADN adecuado para insectos. En todos los protocolos publicados, el tejido tratado se tritura o se muele con un micropistilo estéril o un aparato similar.

Control positivo del ácido nucleico. Este control se utiliza para determinar si la prueba se desarrolló o no según lo previsto en las condiciones experimentales y con los parámetros establecidos. El control positivo puede ser cualquier ácido nucleico que contenga la secuencia objetivo (es decir, ácido nucleico de *Liriomyza* que haya sido analizado previamente).

Control negativo de la amplificación (control sin molde). Este control es necesario para la PCR a fin de descartar falsos positivos por contaminación durante la preparación de la mezcla de reacción o por amplificación inespecífica. En la fase de amplificación se añade, en lugar del volumen correspondiente al ADN, agua de calidad apta para PCR que se utilizó para preparar la mezcla de reacción.

Control negativo de la extracción. Este control se utiliza para controlar la contaminación durante la extracción del ácido nucleico o la reacción cruzada con el tejido hospedante. Consiste en una reacción de extracción en la que no se añade la muestra de tejido.

4.2.3 Identificación de las cuatro especies objetivo mediante PCR-RFLP

Kox *et al.* (2005) describen un análisis mediante PCR-RFLP de una región del gen de la *citocromo oxidasa II (COII)* que se puede utilizar para distinguir las cuatro especies objetivo. La especificidad del análisis se investigó más a fondo analizando otras cuatro especies de *Liriomyza*: *L. strigata*, *L. langei*, *L. chinensis* y *L. scorzonerae*. Este análisis no permitió distinguir entre los especímenes de *L. langei* y los de *L. huidobrensis*, pero las otras tres especies pudieron identificarse satisfactoriamente.

4.2.3.1 Amplificación del gen *COII*

Según Kox *et al.* (2005), las muestras se amplifican en 50 µl de una mezcla de reacción compuesta por las siguientes concentraciones finales de reactivos: 0,6 µM de cada cebador, 0,2 mM de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP), 1 U de polimerasa de ADN HotStarTaq¹, tampón de PCR 1× y 1,5 mM de MgCl₂. En cada reacción se incluye o bien 1–5 µl de ADN como molde o agua de calidad apta para PCR como control negativo. La PCR se lleva a cabo utilizando el siguiente par de cebadores:

TL2-J-3037-directo (F): 5'-ATGGCAGATTAGTGCAATGG-3' (Simon *et al.*, 1994)

K-N-3785Lir-inverso (R): 5'-GTT(A/T)AAGAGACCATT(A/G)CTTG-3' (Kox *et al.*, 2005)

Los parámetros de termociclado para la PCR son una etapa de desnaturalización de 15 min a 95 °C seguida de 35 ciclos de 15 s a 94 °C, 1 min a 55 °C y 45 s a 72 °C, y una etapa de extensión final de 10 min a 72 °C antes del enfriamiento a temperatura ambiente. Después de la amplificación, se someten 5 µl del producto de la PCR a electroforesis en un gel de agarosa al 1,5 % en tampón tris-acetato-EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (tampón TAE) con un marcador de peso molecular de ADN de 100 pares de bases (pb) para confirmar la presencia de productos de la PCR antes del análisis del RFLP.

La PCR del gen *COII* solo se considera válida si:

- el control positivo genera un producto de la amplificación del tamaño esperado para el gen *COII* objetivo
- el control negativo de extracción y el control negativo de amplificación no generan un producto de la amplificación del tamaño esperado para el gen *COII* objetivo.

4.2.3.2 Digestión mediante enzimas de restricción y separación de los productos

Para cada una de las muestras, se digieren 5 µl de producto de la PCR con las enzimas de restricción *DdeI*, *HinfI*, *SspI* y *TaqI*, cada una en una reacción independiente, siguiendo las instrucciones del fabricante. A continuación, el producto de la PCR digerido se separa mediante electroforesis en un gel de agarosa al 3 % en tampón TAE junto con un marcador de peso molecular de ADN de 100 pb como referencia para determinar el tamaño de los fragmentos.

En las condiciones electroforéticas descritas, no es posible determinar el tamaño exacto de los fragmentos de los productos digeridos separados, pero se utilizan los valores de separación relativos para comparar los resultados con los perfiles de RFLP esperados para la especie. Para lograr una comparación más precisa de los tamaños se pueden analizar, junto con las muestras de ensayo, muestras de control positivo que generan fragmentos de tamaños y patrones conocidos. Por cada enzima de digestión utilizada en el análisis se debería incluir un control positivo para comprobar que la enzima digiere el ADN según lo previsto. La prueba de RFLP solo se considera válida si el control positivo produce fragmentos del tamaño esperado para el gen *COII* objetivo. Los patrones de RFLP que se observan en el gel de agarosa permiten la diferenciación de las cuatro especies objetivo de *Liriomyza*. En el Cuadro 2 se presentan los perfiles diagnósticos para las distintas especies correspondientes a cada enzima. Si el perfil compuesto de fragmentos de una muestra se corresponde con el perfil de fragmentos conocido de una de las cinco especies del cuadro, el análisis permite determinar que la muestra pertenece a esa especie. Si el perfil de fragmentos no se corresponde con alguno de los perfiles de fragmentos conocidos de las especies, el análisis no permite determinar a qué especie pertenece la muestra. Si una muestra se diagnostica como *L. huidobrensis*, podrá ser necesario realizar un análisis adicional para confirmar que no se trata de la especie críptica *L. langei* (Sección 4.2.5).

¹ En este protocolo de diagnóstico, los métodos (con inclusión de las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en ellos se definió el nivel inicial de sensibilidad, especificidad y/o reproducibilidad alcanzado. El uso de nombres de reactivos, productos químicos o equipo en estos protocolos de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también podrán ser adecuados. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

Cuadro 2. Perfiles de polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción de las especies de *Liriomyza*

Especie	Tamaños esperados de los fragmentos (pares de bases) en función de la enzima de restricción			
	<i>DdeI</i>	<i>HinfI</i>	<i>SspI</i>	<i>TaqI</i>
<i>L. bryoniae</i>	790	421, 369	392, 326, 72	486, 163, 111, 30
<i>L. huidobrensis</i> [†]	790	421, 369	399, 391	306, 163, 159, 111, 30, 21
<i>L. sativae</i> tipo "estadounidense" [‡]	567, 223	421, 282, 59, 27	399, 391	306, 210, 163, 81, 30
<i>L. sativae</i> tipo "asiático" [‡]	790	421, 310, 59	717, 73	306, 210, 163, 81, 30
<i>L. strigata</i>	790	421, 342, 27	399, 391	267, 219, 141, 72, 67
<i>L. trifolii</i>	619, 171 o 386, 223, 171	421, 310, 59	391, 326, 73	306, 163, 159, 141, 21 o 306, 163, 159, 111, 30, 21

Fuente: Datos de Kox *et al.* (2005).

[†] Incluida la especie críptica *L. langei*.

[‡] Los tipos estadounidense y asiático son variantes conocidas de *L. sativae*.

4.2.4 Cebadores de PCR específicos para la identificación de las cuatro especies objetivo

Nakamura *et al.* (2013) publicaron un análisis mediante PCR múltiple para distinguir las cuatro especies objetivo sin necesidad de una digestión posterior con enzimas de restricción. En el análisis se utilizan seis cebadores específicos para el gen de la *citocromo oxidasa I (COI)*. Cinco de ellos se unen a secuencias exclusivas de cada especie de *Liriomyza* y se usan como cebadores directos. El sexto cebador se une a un segmento del gen COI conservado en todas las especies de *Liriomyza* y se usa como cebador inverso en los distintos pares de cebadores. El tamaño de los productos de la PCR permite discriminar entre *L. bryoniae*, *L. huidobrensis*, *L. sativae*, *L. trifolii* y *L. chinensis*. A diferencia del análisis mediante PCR-RFLP de Kox *et al.* (2005) (Sección 4.2.3), no se ha verificado la especificidad de este análisis para *L. strigata*.

4.2.4.1 Amplificación del gen *COI*

Según Nakamura *et al.* (2013), las muestras se amplifican en 10 µl de una mezcla de reacción compuesta por las siguientes concentraciones finales de reactivos: 0,5 µM de cada uno de los seis cebadores, 0,2 mM de dNTP, 1 U de polimerasa de ADN TaKaRa Ex Taq1, tampón de PCR TaKaRa Ex Taq1 1× y 2 mM de MgCl₂. En cada reacción se incluye o bien 0,5 µl de ADN como molde o agua de calidad apta para PCR como control negativo. La PCR se lleva a cabo con los siguientes seis cebadores diseñados por Nakamura *et al.* (2013):

Lb600-F: 5'-CTAGGAATGATTTATGCAATG-3'

Lc920-F: 5'-CATGACACTTATTATGTTGTTGCA-3'

Lh1150-F: 5'-CAATCGGATCTTCAATTTCCCTTC-3'

Ls1040-F: 5'-TTATTGGTGTAATTTAACC-3'

Lt780-F: 5'-TTATACACCAACTACTTTGTGAA-3'

L1250-R: 5'-GAATWGGRWAAATYACTTGACGTTG-3'

Los parámetros de termociclado para la PCR son una etapa de desnaturalización de 1 min a 94 °C seguida de 32 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s a 55 °C y 2 min a 72 °C. Los productos de la PCR se visualizan mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,8 % con un marcador de peso molecular de ADN de 100 pb para poder determinar el tamaño de los productos.

La PCR múltiplex del gen *COI* solo se considera válida si:

- el control positivo genera un producto de la amplificación del tamaño esperado para el gen *COI* objetivo
- el control negativo de extracción y el control negativo de amplificación no generan un producto de la amplificación del tamaño esperado para el gen *COI* objetivo.

Los tamaños esperados de los productos de la PCR para las cinco especies son: 649 pb (*L. bryoniae*), 359 pb (*L. chinensis*), 107 pb (*L. huidobrensis/L. langei*), 207 pb (*L. sativae*) y 461 pb (*L. trifolii*). En las condiciones electroforéticas descritas, no es posible determinar el tamaño exacto de los fragmentos de los productos de la PCR separados, pero se utilizan los valores de separación relativos para comparar los resultados con los perfiles esperados correspondientes a los cebadores específicos para la especie. Para lograr una comparación más precisa de los tamaños se pueden analizar, junto con las muestras de ensayo, muestras de control positivo con tamaño de banda conocido para la especie.

Una muestra se identifica como perteneciente a una de las cinco especies si produce un único producto de la PCR del tamaño esperado para esa especie. Esta prueba no permite distinguir entre *L. huidobrensis* y *L. langei*. Si se sospecha que una muestra es *L. huidobrensis*, podrá ser necesario realizar un análisis adicional para confirmar que no se trata de la especie críptica *L. langei* (Sección 4.2.5). Esta prueba se desarrolló para la identificación de *Liriomyza* en el Japón y su especificidad tiene esa finalidad concreta. Por lo tanto, no se ha verificado la reactividad cruzada con *L. strigata* ni con poblaciones de *L. trifolii* de fuera del Japón.

4.2.5 Diferenciación de las especies crípticas *L. langei* y *L. huidobrensis*

4.2.5.1 PCR-RFLP

Scheffer *et al.* (2001) describieron un análisis mediante PCR-RFLP para distinguir entre *L. huidobrensis* y *L. langei* basado en una variación en un locus mitocondrial que incluye parte del gen *COI*, el ARNt de leucina y el gen *COII* completo. Esta región de 1 031 pb se amplifica utilizando los cebadores publicados en Simon *et al.* (1994):

C1-J-2797-F: 5'-CCTC-GACGTTATTCAGATTACC-3'

TK-N-3785-R: 5'- GTTAAAGAGACCAGTACTTG-3'

Los parámetros de termociclado para la PCR son una etapa de desnaturalización de 2 min a 92 °C seguida de 35 ciclos de 1 min 30 s a 92 °C, 1 min 30 s a 50 °C y 2 min 30 s a 72 °C, y una etapa de extensión final de 7 min a 72 °C. Después de la amplificación, el producto de la PCR se somete a electroforesis con un marcador de peso molecular de ADN para comprobar si la PCR ha sido eficaz, antes del análisis del RFLP.

La PCR de los genes *COI* y *COII* solo se considera válida si:

- el control positivo genera un producto de la amplificación del tamaño esperado para el gen *COII* objetivo
- el control negativo de extracción y el control negativo de amplificación no generan un producto de la amplificación del tamaño esperado para el gen *COII* objetivo.

El producto de la PCR de cada una de las muestras se digiere con las enzimas de restricción *SpeI* y *EcoRV*, cada una en una reacción independiente, siguiendo las instrucciones del fabricante. A continuación, el producto de la PCR digerido se separa mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,5 % junto con un marcador de peso molecular de ADN de 100 pb para poder determinar el tamaño de los fragmentos.

En las condiciones electroforéticas descritas, no es posible determinar el tamaño exacto de los fragmentos de los productos digeridos separados, pero se utilizan los valores de separación relativos para comparar los resultados con los perfiles de RFLP esperados para la especie. Para lograr una comparación más precisa de los tamaños se pueden analizar, junto con las muestras de ensayo, muestras de control positivo que generan fragmentos de tamaños y patrones conocidos. Por cada enzima de digestión utilizada en el análisis se debería incluir un control positivo para comprobar que la enzima digiere el ADN según lo previsto. La prueba de RFLP solo se considera válida si el control positivo produce fragmentos del tamaño esperado para el gen objetivo.

Las muestras de *L. huidobrensis* producen un único fragmento intacto (de 1 031 pb) cuando se digieren con *SpeI* y dos fragmentos (de 175 pb y 856 pb) cuando se digieren con *EcoRV*. Por el contrario, las muestras de *L. langei* producen dos fragmentos (de 420 pb y 611 pb) cuando se digieren con *SpeI* y un único fragmento intacto (de 1 031 pb) cuando se digieren con *EcoRV*. Si el perfil compuesto de fragmentos de una muestra se corresponde con estos perfiles de fragmentos conocidos, el análisis permite determinar que la muestra pertenece a esa especie.

4.2.5.2 Comparación de secuencias de ADN

Scheffer (2000) publicó información sobre la PCR y las secuencias de ADN de un locus del ADN mitocondrial que incluía secuencias parciales de los genes *COI* y *COII* que permiten diferenciar las dos especies crípticas *L. huidobrensis* y *L. langei*. En un artículo posterior, Scheffer *et al.* (2006) publicaron nuevas secuencias del extremo 3' del gen *COI* para la investigación de la diversidad de las especies. Estos datos se analizaron mediante técnicas filogenéticas moleculares, pero no se utilizaron para elaborar protocolos de diagnóstico.

4.2.6 Código de barras de ADN

Se está trabajando en la elaboración de un recurso más exhaustivo desde el punto de vista taxonómico de registros de secuencias de ADN de la región 5' del gen *COI* de *Liriomyza* utilizados en estudios de códigos de barras de ADN de animales (p. ej. Bhuiya *et al.*, 2011; Maharjan *et al.*, 2014). Actualmente, la base de datos de códigos de barras biológicos BOLD (Barcode of Life Data System: <http://www.boldsystems.org>) contiene registros de códigos de barras de ADN de 31 especies de *Liriomyza* (incluidas las cuatro especies objetivo). También proporciona códigos de barras y procedimientos Q-bank (www.q-bank.eu), una base de datos curada que incluye secuencias obtenidas a partir de material de referencia. En un estudio reciente (Maharjan *et al.*, 2014) se proporcionó información para la separación de *L. huidobrensis*, *L. trifolii*, *L. sativae*, *L. bryoniae* y *L. chinensis*. A pesar de estos avances en los recursos relacionados con la secuenciación del ADN, en el presente documento no se describe con detalle la metodología para la identificación de las especies de *Liriomyza* porque aún no se han publicado en la bibliografía científica reglas para la interpretación de los recursos. Los resultados de la identificación mediante códigos de barras de ADN deberían interpretarse con cautela, teniendo en cuenta los siguientes posibles problemas: 1) la posibilidad de una amplificación preferente en la PCR de copias del gen *COI* del genoma mitocondrial nuclear (es decir, pseudogenes mitocondriales del núcleo de la célula o NUMT, por su acrónimo inglés) o de parasitoides; 2) la

posibilidad de confusión en la identificación con una especie hermana estrechamente emparentada (en los complejos de especies), y 3) distinto alcance geográfico de los especímenes de referencia de las bases de datos de secuencias.

5. Registros

Los registros y las pruebas deberían conservarse según lo descrito en la Sección 2.5 de la NIMF 27 (*Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas*).

En los casos en que los resultados del diagnóstico puedan repercutir en forma desfavorable sobre otras partes contratantes, deberían conservarse los siguientes registros, pruebas y material adicional por lo menos durante un año de un modo que garantice su rastreabilidad: especímenes preservados o montados en portaobjetos, fotografías de estructuras taxonómicas distintivas, extractos de ADN y fotografías de los geles.

6. Puntos de contacto para información adicional

Puede obtenerse información adicional sobre este protocolo en las siguientes fuentes:

State Government of Victoria Department of Economic Development, Jobs, Transport and Resources, AgriBio, 5 Ring Road, Bundoora, Vic. 3083, Australia (Mallik Malipatil; correo electrónico: mallik.malipatil@ecodev.vic.gov.au; tel.: +61 3 9032 7302; fax: +61 3 9032 7604).

Fera Science Ltd (Fera), National Agri-Food Innovation Campus, Sand Hutton, York, YO41 1LZ, Reino Unido (Dominique Collins; correo electrónico: dom.collins@fera.co.uk; tel.: +44 1904 462215, fax: +44 1904 462111).

Podrán presentar una solicitud de revisión de un protocolo de diagnóstico las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF), las organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) o los órganos auxiliares de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) a través de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (ippc@fao.org), que a su vez remitirá la solicitud al Grupo técnico sobre protocolos de diagnóstico (GTPD).

7. Agradecimientos

El primer proyecto de este protocolo fue redactado por Mallik B. Malipatil (Departamento de Desarrollo Económico, Trabajo, Transporte y Recursos [DEDJTR] del Gobierno del Estado de Victoria, Australia), Dominique W. Collins (Fera, Reino Unido) y Mark Blacket (DEDJTR del Gobierno del Estado de Victoria, Australia); Norman Barr (Servicio de Inspección Zoonosológica y Fitosanitaria [APHIS] del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos [USDA]) redactó la sección sobre identificación molecular.

Los siguientes revisores formularon observaciones sobre la versión preliminar de este documento: Stephen Gaimari (Departamento de Alimentación y Agricultura de California [CDFA], Estados Unidos), Anthony Rice (Departamento de Agricultura y Recursos Hídricos [DAWR], Australia), Ren Iwaizumi (Estación de Protección Fitosanitaria de Yokohama, Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Pesca del Japón) y Ramona Vaitkevica (Servicio Estatal de Protección Fitosanitaria de Letonia).

8. Referencias

En el presente anexo se hace referencia a las NIMF. Las NIMF están disponibles en el Portal fitosanitario internacional (PFI): <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispms>.

- Bhuiya, B.A., Amin, S. y Mazumdar, S.** 2011. First report of vegetable leafminer *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) through DNA barcoding from Bangladesh. *Journal of Taxonomy and Biodiversity Research*, 5: 15–17.
- Blacket, M.J., Rice, A.D., Semeraro, L. y Malipatil, M.B.** 2015. DNA-based identifications reveal multiple introductions of the vegetable leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) into the Torres Strait Islands and Papua New Guinea. *Bulletin of Entomological Research*, doi: 10.1017/S0007485315000383
- Blanchard, E.E.** 1926. A dipterous leaf-miner on *Cineraria*, new to science. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 1: 10–11.
- Boucher, S.** 2010. Family Agromyzidae (leaf-mining flies). En B.V. Brown, A. Borkent, J.M. Cumming, D.M. Wood, N.E. Woodley y M. Zumbado, eds. *Manual of Central American Diptera*, Vol. 2, págs. 1057–1071. Ottawa, National Research Council. 728 págs.
- CABI.** 2013. Crop protection compendium. Wallingford (Reino Unido), CABI. Disponible en <http://www.cabicompndium.org/cpc/home.asp> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Dempewolf, M.** 2001. Larvalmorphologie und Phylogenie der Agromyzidae (Diptera). Universidad de Bielefeld, Alemania (tesis)
- Dempewolf, M.** 2004. Arthropods of economic importance: Agromyzidae. Ámsterdam, Netherlands Biodiversity Information Facility. Disponible en <http://wbd.etibioinformatics.nl/bis/agromyzidae.php> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Ellis, W.N. s. f.** Leafminers and plant galls of Europe. Disponible en <http://www.bladmineerders.nl/> (último acceso: 24 de agosto de 2014) (en inglés y neerlandés).
- EPPO (Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas, OEPP).** 2005. *Liriomyza* spp. PM 7/53(1). *EPPO Bulletin*, 35: 335-344.
- Ferrar, P.A.** 1987. A guide to the breeding habits and immature stages of Diptera: Cyclorrhapha. *Entomograph*, 8: 1-907.
- Fisher, N., Ubaidillah, R., Reina, P. y La Salle, J.** 2005. *Liriomyza* parasitoids of Southeast Asia. Melbourne, Australia, CSIRO. Disponible en http://www.ento.csiro.au/science/Liriomyza_ver3/index.html (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Frick, K.E.** 1951. *Liriomyza langei*, a new species of leaf-miner of economic importance in California. *Pan-Pacific Entomologist*, 21: 81-88.
- Griffiths, G.C.D.** 1962. Breeding leaf-mining flies and their parasites. *Entomologist's Record and Journal of Variation*, 74: 178–185, 203–206.
- Hennig, W.** 1958. Die Familien der Diptera Schizophora und ihre phylogenetischen Verwandtschaftsbeziehungen. *Beiträge zur Entomologie*, 8: 505-688.
- Kox, L.F.F., van den Beld, H.E., Lindhout, B.I. y de Goffau, L.J.W.** 2005. Identification of economically important *Liriomyza* species by PCR-RFLP analysis. *EPPO Bulletin*, 35: 79-85.
- Lonsdale, O.** 2011. The *Liriomyza* (Agromyzidae: Schizophora: Diptera) of California. *Zootaxa*, 2850: 1-123.

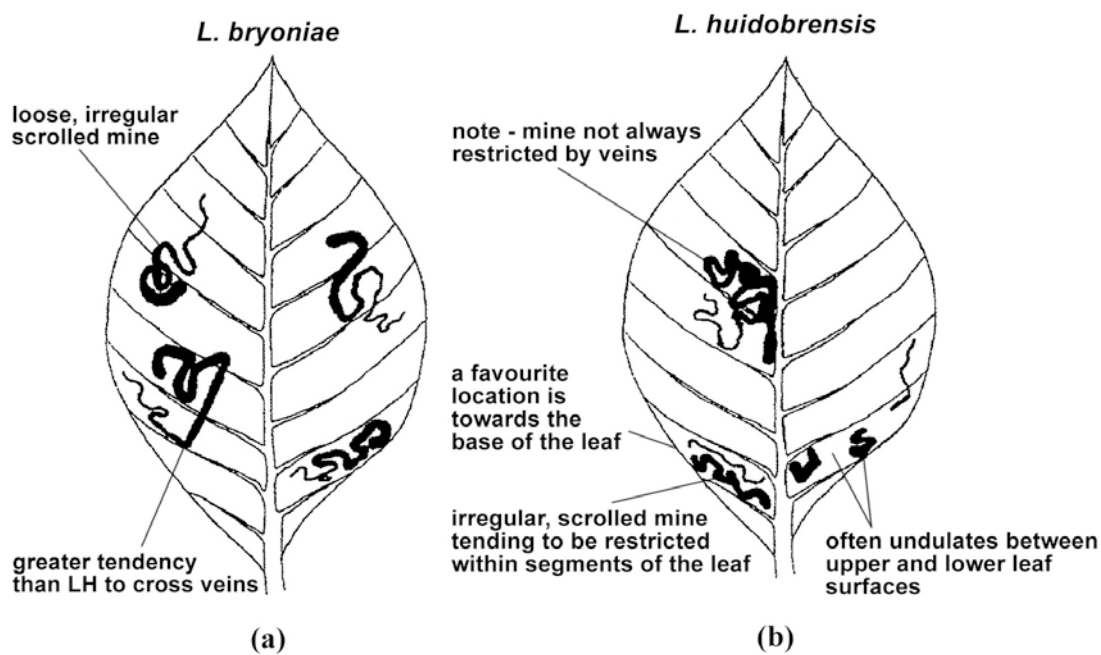
- Maharjan, R., Oh, H-W. y Jung, C.** 2014. Morphological and genetic characteristics of *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) infesting potato crops in Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17: 281-286.
- Malipatil, M.B.** 2007a. Chickpea leafminer (*Liriomyza cicerina*). Pest and Disease Image Library (PaDIL). Disponible en <http://www.padil.gov.au/pests-and-diseases/pest/main/136238> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Malipatil, M.B.** 2007b. Pea leafminer (*Liriomyza huidobrensis*). Pest and Disease Image Library (PaDIL), images and fact sheets. Disponible en <http://www.padil.gov.au/pests-and-diseases/pest/main/136237> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Malipatil, M.B.** 2007c. American serpentine leafminer (*Liriomyza trifolii*). Pest and Disease Image Library (PaDIL), images and fact sheets. Disponible en <http://www.padil.gov.au/pests-and-diseases/pest/main/136236> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Malipatil, M. y Ridland, P.** 2008. *Polyphagous agromyzid leafminers: Identifying polyphagous agromyzid leafminers (Diptera: Agromyzidae) threatening Australian primary industries*. Canberra, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Australian Government. Disponible en <http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/leafminers/> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Malipatil, M.B., Ridland, P.M., Rauf, A., Watung, J. y Kandowanko, D.** 2004. New records of *Liriomyza* Mik (Agromyzidae: Diptera) leafminers from Indonesia. *Formosan Entomologist*, 24: 287-292.
- Martinez, M. y Etienne, J.** 2002. Liste systématique et biogéographique dês Agromyzidae (Diptera) de la région néotropical. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura (Serie II)*, 34: 25-52 (en francés).
- Nakamura, S., Masuda, T., Mochizuki, A., Konishi, K., Tokumaru, S., Ueno, K. y Yamaguchi, T.** 2013. Primer design for identifying economically important *Liriomyza* species (Diptera: Agromyzidae) by multiplex PCR. *Molecular Ecology Resources*, 13: 96-102.
- Pape, T., Beuk, P. y Martinez, M., eds.** 2013. Fauna Europaea, versión 2.6. Disponible en <http://www.faunaeur.org> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Parrella, M.P. y Bethke, J.A.** 1984. Biological studies of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) on chrysanthemum, aster and pea. *Journal of Economic Entomology*, 77: 342-345.
- Pitkin, B., Ellis, W., Plant, C. y Edmunds, R.** s. f. *The leaf and stem mines of British flies and other insects*. Disponible en <http://www.ukflymines.co.uk> (último acceso: 24 de agosto de 2014).
- Scheffer, S.J.** 2000. *Molecular evidence of cryptic species within the Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Journal of Economic Entomology*, 93: 1146-1151.
- Scheffer, S.J. y Lewis, M.L.** 2001. Two nuclear genes confirm mitochondrial evidence of cryptic species within *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 94: 648-653.
- Scheffer, S.J., Lewis, M.L. y Joshi, R.C.** 2006. DNA barcoding applied to invasive leafminers (Diptera: Agromyzidae) in the Philippines. *Annals of the Entomological Society of America*, 99: 204-210.
- Scheffer, S.J., Wijesekara, A., Visser, D. y Hallett, R.H.** 2001. Polymerase chain reaction-restriction fragment-length polymorphism method to distinguish *Liriomyza huidobrensis* from *L. langei*. *Journal of Economic Entomology*, 94: 1177-1182.
- Shiao, S.F.** 2004. *Morphological diagnosis of six Liriomyza species* (Diptera: Agromyzidae) of quarantine importance in Taiwan. *Applied Entomology and Zoology*, 39: 27-39.

- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi B., Liu, H. y Flook, P.** 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87: 651-701.
- Spencer, K.A.** 1965. *A clarification of the status of Liriomyza trifolii* (Burgess) and some related species (Diptera: Agromyzidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 67, 32-40.
- Spencer, K.A.** 1972. *Diptera, Agromyzidae*. Royal Entomological Society of London Handbooks for the Identification of British Insects, Vol. 10, Parte 5(g). Londres, Royal Entomological Society of London. 136 págs.
- Spencer, K.A.** 1973. *Agromyzidae (Diptera) of economic importance*. Series Entomologica 9. La Haya, W. Junk. 418 págs.
- Spencer, K.A.** 1976. The Agromyzidae (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna Entomologica Scandinavica*, 5: partes 1 y 2.
- Spencer, K.A.** 1977. *A revision of the Australian Agromyzidae (Diptera)*. Western Australian Museum Special Publication No. 8. 255 págs.
- Spencer, K.A.** 1981. *A revisionary study of the leaf-mining flies (Agromyzidae) of California*. University of California, Division of Agricultural Sciences Publication 3273. 489 págs.
- Spencer, K.A.** 1987. Agromyzidae. En J.F. McAlpine, ed. *Manual of Nearctic Diptera*, Vol. 2. Monografía núm. 28, págs. 675–1332. Ottawa, Research Branch Agriculture Canada.
- Spencer, K.A.** 1989. Leaf miners. En R. P. Kahn, ed. *Plant protection and quarantine*, Vol. 2, Selected pests and pathogens of quarantine significance, págs. 77–98. Boca Ratón, Florida (Estados Unidos), CRC Press.
- Spencer, K.A.** 1990. *Host specialization in the world Agromyzidae (Diptera)*. Series Entomologica 45. Dordrecht (Países Bajos), Kluwer Academic Publishers. 444 págs.
- Spencer, K.A.** 1992. *Flycatcher: Memoirs of an amateur entomologist*. La Haya (Países Bajos), SPB Academic Publishing. 414 págs.
- Spencer, K.A. y Steyskal, G.C.** 1986. *Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United States*. Agriculture Handbook 638. Washington, DC, United States Department of Agriculture. 478 págs.
- Stehr, F.W.** 1991. *Immature Insects*. Vol. 2 Kendall/Hunt Publishing company, Estados Unidos de América. 974 págs.
- Takano, S.I., Iwaizumi, R., Nakanishi, Y. y Someya, H.** 2008. Laboratory hybridization between the two clades of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Applied Entomology and Zoology*, 43: 397-402.
- Takano, S.I., Iwaizumi, R., Nakanishi, Y., Someya, H. y Iwasaki, A.** 2005. Genetic differentiation and morphological comparison between two clades of *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae). *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 41: 43–46 (en japonés con resumen en inglés).
- Yeates, D.K., Hastings, A., Hamilton, J.R., Colless, D.H., Lambkin, C.L., Bickel, D., McAlpine, D.K., Schneider, M.A., Daniels, G. y Cranston, P.** 2004. *Anatomical atlas of flies*. Melbourne (Australia), CSIRO. Disponible en <http://www.ento.csiro.au/biology/fly/fly.html> (último acceso: 24 de agosto de 2014).

9. Figuras



Figura 1. Adulto de *Liriomyza bryoniae*.
 Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA) del Reino Unido



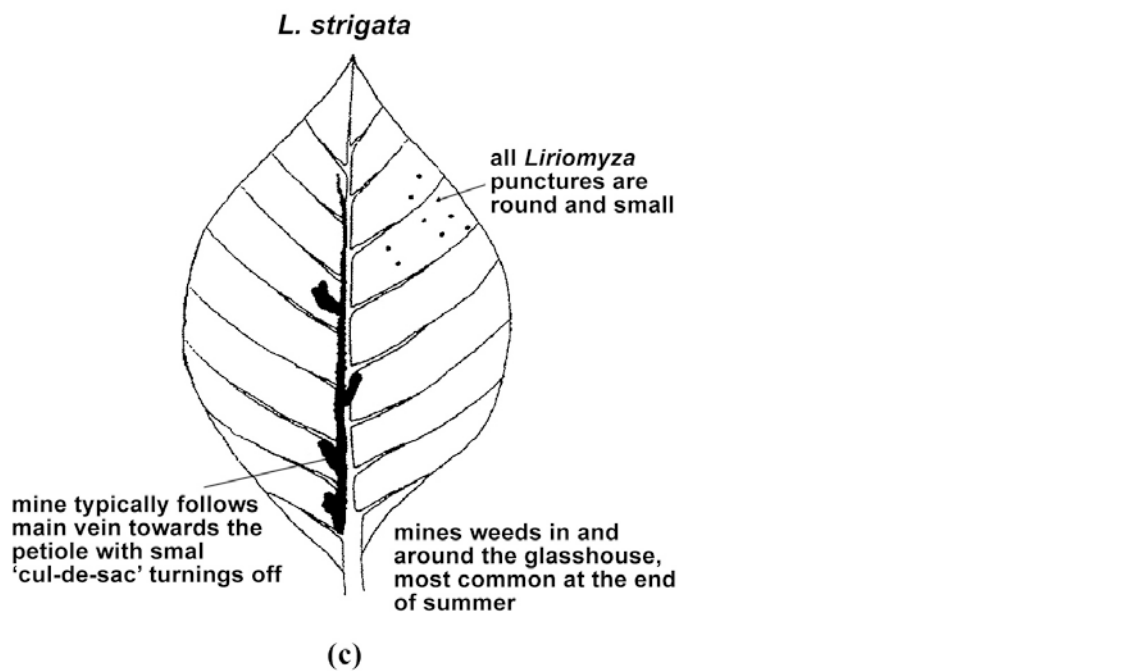


Figura 2. Características típicas de las galerías de a) *Liriomyza bryoniae*, b) *Liriomyza huidobrensis* y c) *Liriomyza strigata*.
Fuente: EPPO (2005).

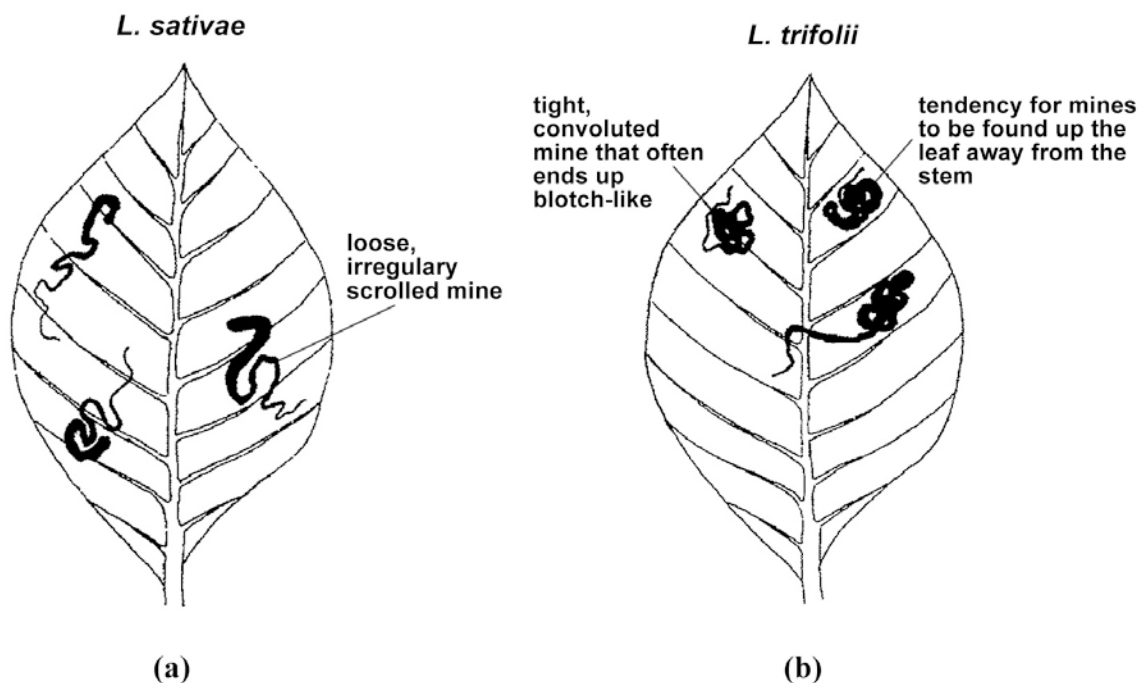


Figura 3. Características típicas de las galerías de a) *Liriomyza sativae* y b) *Liriomyza trifolii*.
Fuente: EPPO (2005).

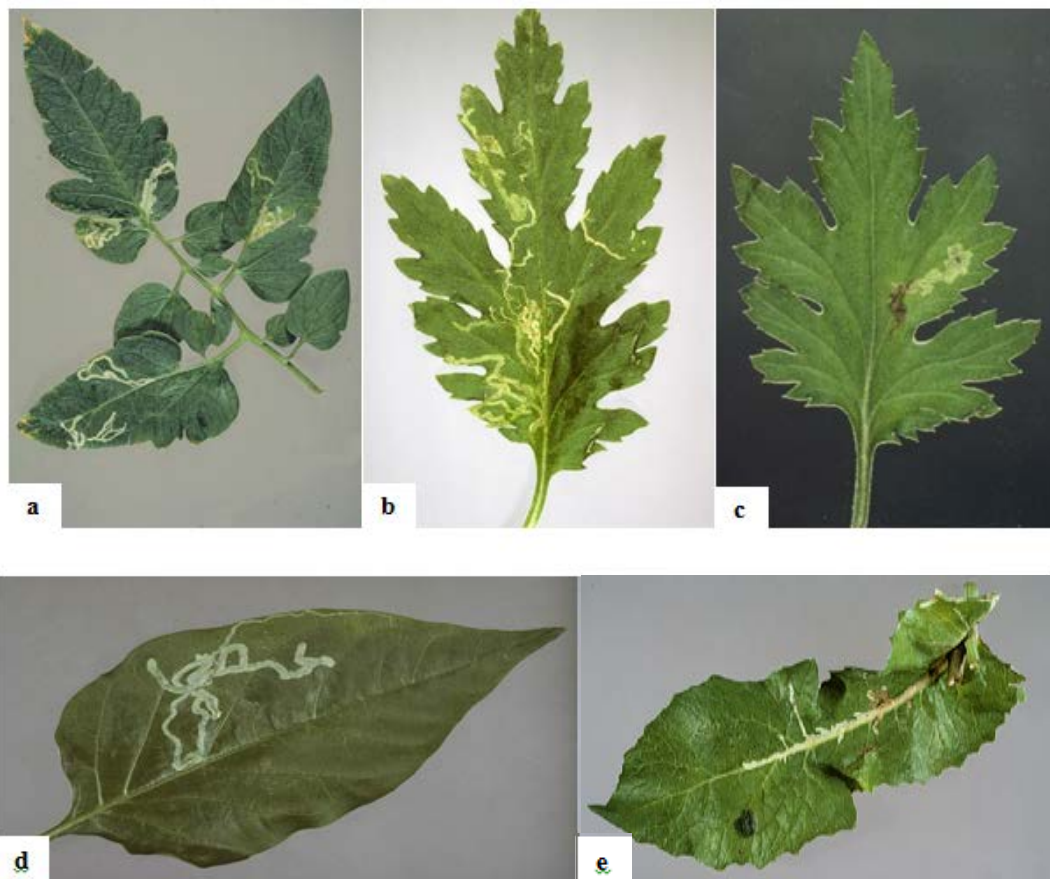


Figura 4. Galerías típicas de *Liriomyza* spp.: a) *L. bryoniae* en tomate; b) *L. huidobrensis* en crisantemo; c) *L. trifolii* en crisantemo; d) *L. sativae* en pimiento; y e) *L. strigata* en un hospedante sin identificar.

Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA) del Reino Unido

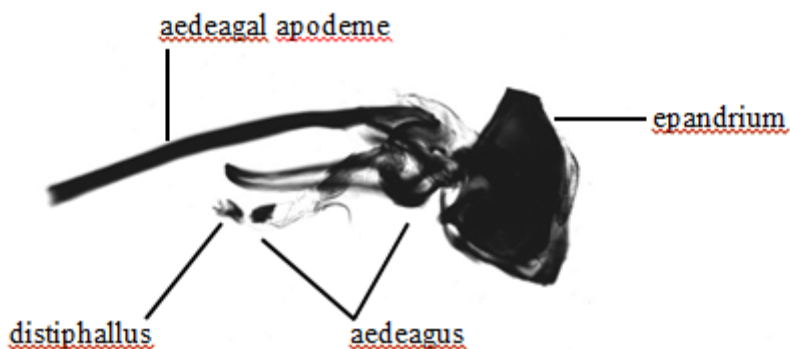
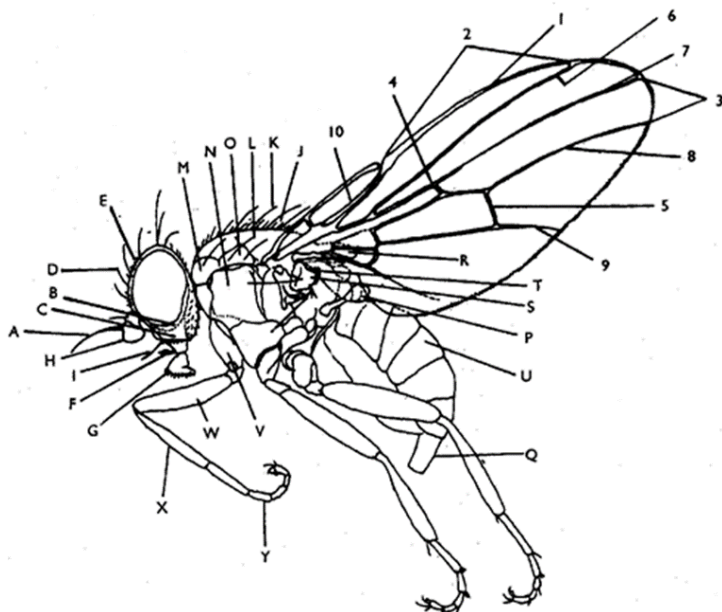


Figura 5. Genitalia de los machos de *Liriomyza huidobrensis* (vista lateral).
 Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA) del Reino Unido.



Figura 6. Abdomen de a) macho y b) hembra de *Liriomyza*.
 Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA) del Reino Unido.



Side view of typical *Agromyza* sp. (after SASAKAWA): A = arista, B = cheek, C = jowl, D = orbital bristles, E = orbital setulae, F = palp, G = proboscis, H = third antennal segment, I = vibrissa, J = acrostichals, K = dorso-central bristles, L = mesonotum, M = humerus, N = mesopleural area, O = notopleural area, P = haltere, Q = ovipositor sheath, R = scutellum, S = squama, T = squamal fringe, U = tergites, V = coxa, W = femur, X = tibia, Y = tarsi.
 1 = costa, 2 = second costal section, 3 = fourth costal section, 4 = first cross-vein, 5 = second cross-vein, 6 = R_1 , 7 = R_{4+5} , 8 = M_{1+2} , 9 = M_{3+4} , 10 = sub-costa.

Figura 7. Morfología de los adultos de Agromyzidae.

Fuente: Spencer (1973).

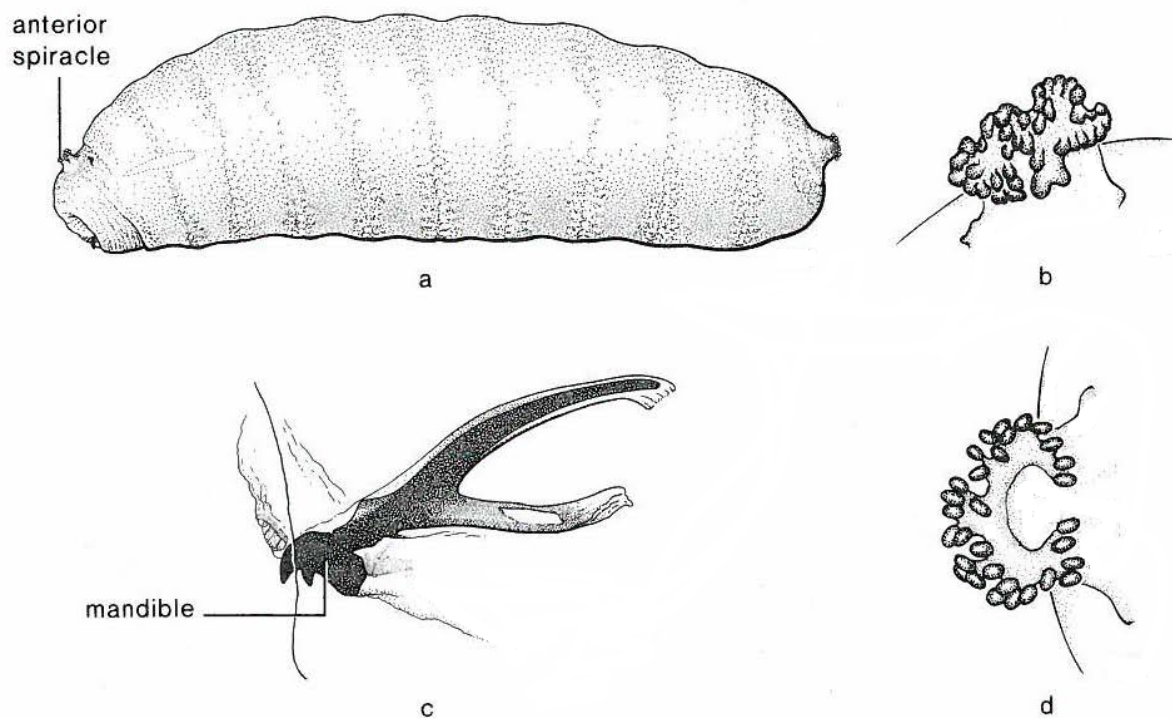


Figura 8. Morfología de las larvas de Agromyzidae (*Phytomyza chelonei*): a) vista lateral; b) espiráculo anterior; c) esqueleto cefalofaríngeo, y d) espiráculo posterior.
 Fuente: Stehr (1991).

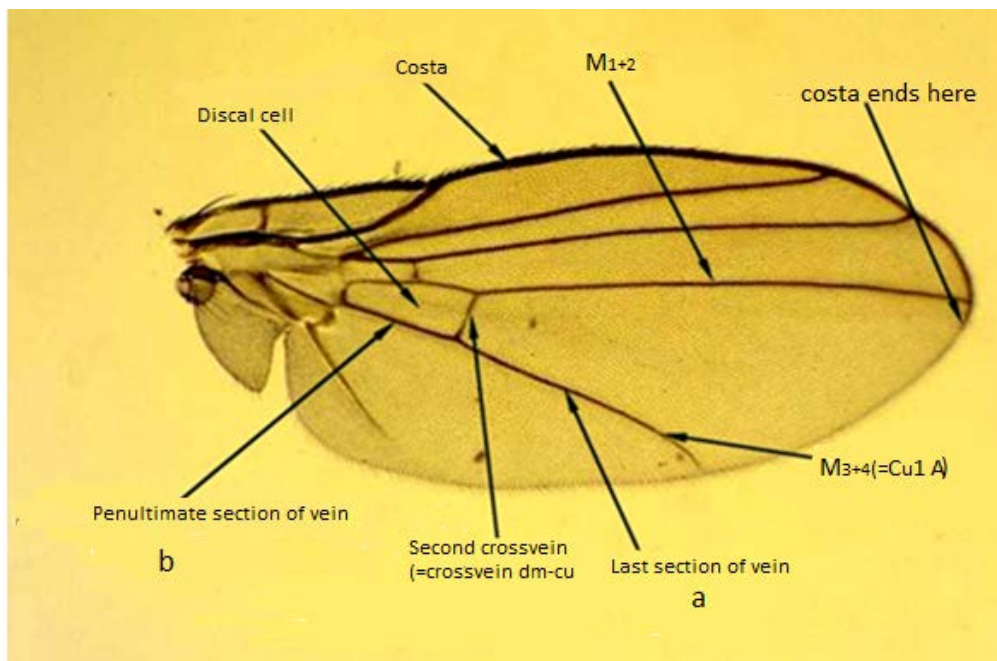


Figura 9. Venación alar de *Liriomyza*.

Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente y Planificación de los Recursos Territoriales e Hídricos (DELWP) del Gobierno del Estado de Victoria (Australia).

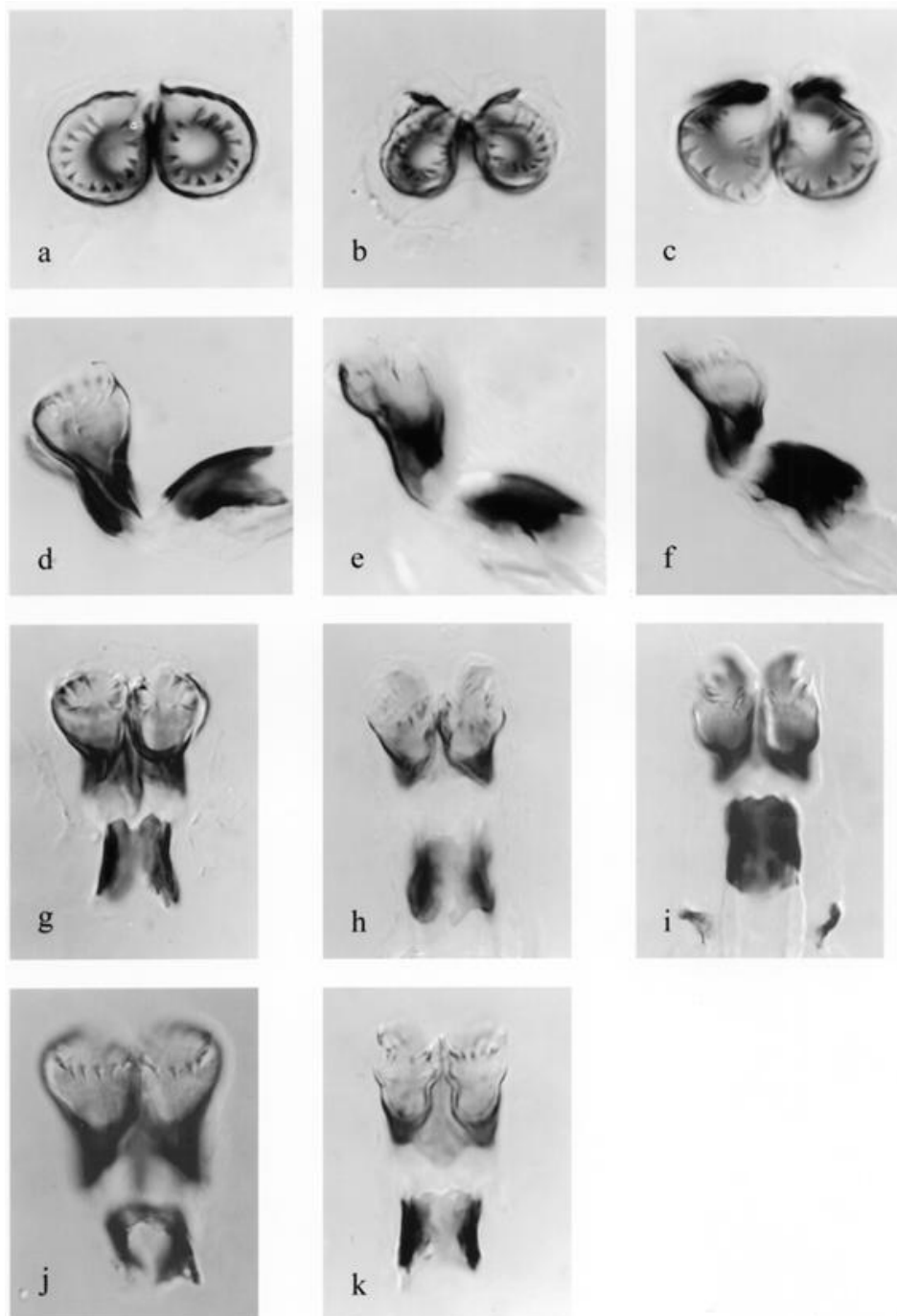


Figura 10. *Distifalo de Liriomyza* spp. (aumento de $\times 400$): a) *L. bryoniae*, vista anterior; b) *L. huidobrensis*, vista anterior; c) *L. strigata*, vista anterior; d) *L. bryoniae*, vista lateral; e) *L. huidobrensis*, vista lateral; f) *L. strigata*, vista lateral; g) *L. bryoniae*, vista dorsoventral; h) *L. huidobrensis*, vista dorsoventral; i) *L. strigata*, vista dorsoventral; j) *L. bryoniae*, vista dorsoventral (en un plano distinto de g]), y k) *L. huidobrensis*, vista dorsoventral (en un plano distinto de h]).
 Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA) del Reino Unido.

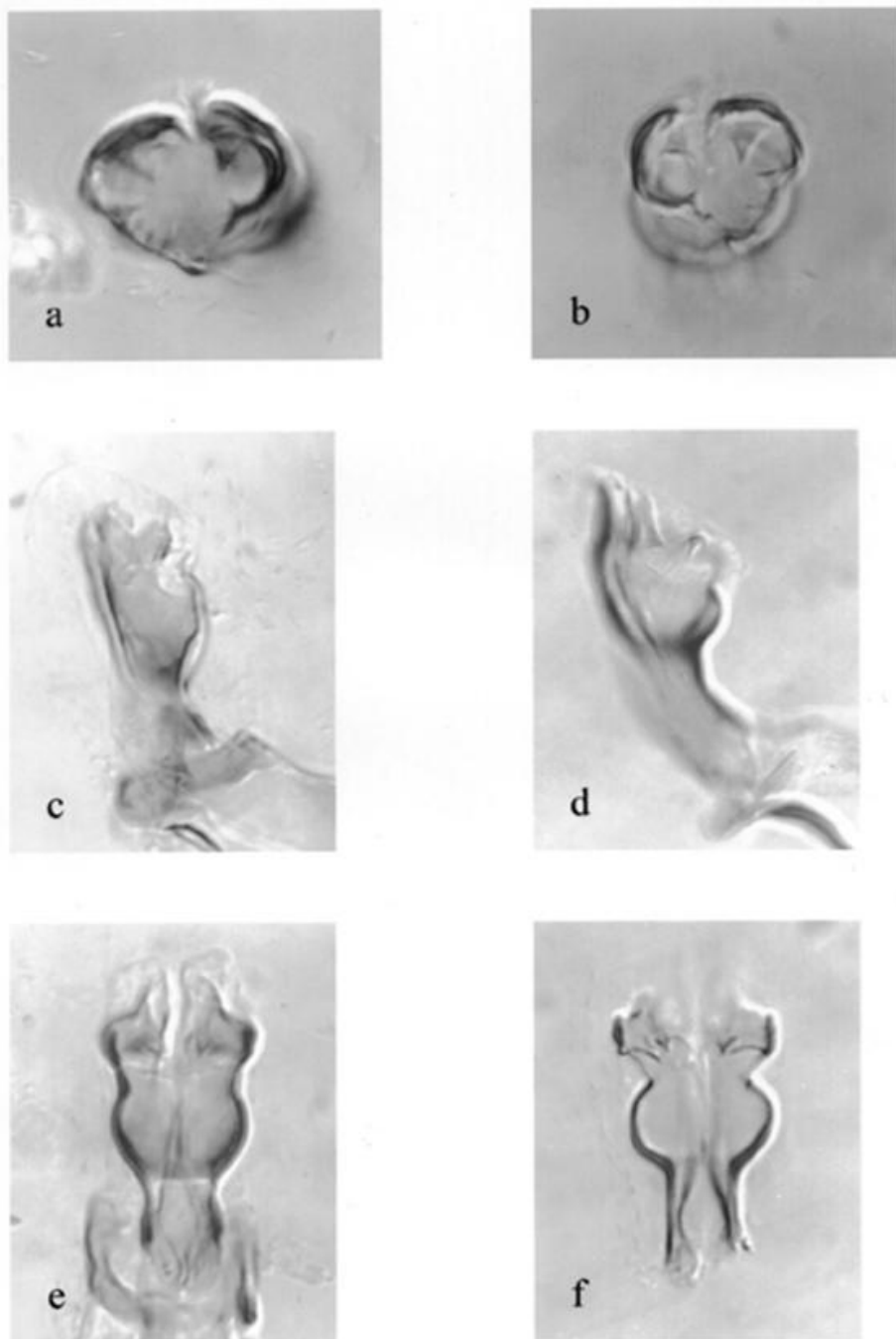


Figura 11. Distifalo de *Liriomyza* spp. (aumento de $\times 400$): a) *L. sativae*, vista anterior; b) *L. trifolii*, vista anterior; c) *L. sativae*, vista lateral; d) *L. trifolii*, vista lateral; e) *L. sativae*, vista dorsoventral, y f) *L. trifolii*, vista dorsoventral.
Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA) del Reino Unido.



Figura 12. Pupa de *Liriomyza* sp

Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente y Planificación de los Recursos Territoriales e Hídricos (DELWP) del Gobierno del Estado de Victoria (Australia).



Figura 13. Tercer estadio larval de *L. bryoniae*

Fotografía por gentileza del Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA) del Reino Unido.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2006-11: El CN añadió la cuestión original: *Liriomyza spp.* (2006-017).

2007-03: En la segunda reunión de la CMF se añadió el tema al programa de trabajo (Insectos y ácaros).

2014-07: El (GTPD) examinó y aprobó el proyecto de decisión por medios electrónicos del CN con miras a su envío para consulta a los miembros.

2014-10: El CN aprobó mediante decisión por medios electrónicos el envío para consulta a los miembros (2014_eSC_Nov_12).

2015-02: Consulta a los miembros.

2016-02: Decisión por medios electrónicos del GTPD de aprobación para envío al CN a efectos de su aprobación durante el período de notificación del PD (2016_eTPDP_Feb_01).

2016-03: La decisión por medios electrónicos del CN relativa a la aprobación se presentará durante el período de notificación del PD de 45 días (2016_eSC_May_09).

2016-08: El CN aprobó el PD en nombre de la CMF (no se recibieron objeciones).

NIMF 27. Anexo 16. Género *Liriomyza* (2016). Roma, CIPF, FAO.

Última modificación de la historia de la publicación: 2017-01.

Esta página se ha dejado en blanco intencionalmente

CIPF

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Los viajes y el comercio internacional hoy son más abundantes que nunca antes. En el desplazamiento de personas y mercancías por todo el mundo, los acompañan organismos que representan riesgos para las plantas.

La organización

- ◆ Hay más de 180 partes contratantes de la CIPF
- ◆ Cada parte contratante tiene una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) y un contacto oficial de la CIPF
- ◆ Nueve organizaciones regionales de protección fitosanitaria (ORPF) obran para facilitar la aplicación de la CIPF en los países
- ◆ La CIPF se enlaza con las organizaciones internacionales pertinentes a fin de contribuir a la creación de capacidad regional y nacional
- ◆ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) proporciona la Secretaría de la CIPF



Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia
Tel. +39 06 5705 4812 - Fax: +39 06 5705 4819
Correo electrónico: ippc@fao.org - Web: www.ippc.int