

NORMAS INTERNACIONALES PARA
MEDIDAS FITOSANITARIAS

NIMF 37

**Determinación de la condición de una fruta como
hospedante de moscas de la fruta (Tephritidae)**

Documento elaborado por la Secretaría de la
Convención Internacional de Protección Fitosanitaria
Adoptado en 2016; publicado en 2019

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 apruebe los puntos de vista, productos o servicios de los usuarios.

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

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.

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.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

2006-11 El CN añadió el tema *Determinación de la susceptibilidad como hospedantes para la mosca de la fruta (Tephritidae)* (2006-031).

2009-05 El CN aprobó el proyecto de especificación para consulta a los miembros.

2010-02 Consulta a los miembros.

2010-04 El CN aprobó la especificación 50.

2010-10 El GTMF redactó la NIMF.

2011-05 El CN examinó el proyecto de NIMF y lo devolvió al GTMF.

2011-08 El GTMF revisó el proyecto de NIMF.

2012-04 El CN aprobó el proyecto de NIMF para consulta a los miembros.

2012-07 Consulta a los miembros.

2013-05 El CN-7 aprobó un período para presentar cuestiones sustanciales sobre el proyecto de NIMF.

2013-07 Período para presentar cuestiones sustanciales.

2013-11 El CN aprobó el proyecto de NIMF a fin de que se remitiera a la CMF-9 para su adopción.

2014-04 Se recibieron objeciones formales 14 días antes de la CMF-9.

2014-04 El administrador revisó el proyecto de NIMF para responder a las objeciones formales.

2014-05 El CN examinó dicho proyecto y lo sometió al examen del GTMF.

2014-05 El GTMF lo examinó.

2014-11 El CN aprobó el proyecto de NIMF a fin de que se remitiera a la CMF-10 para su adopción.

2015-03 En la CPM-10 (2015) se plantearon inquietudes y el proyecto se remitió al CN.

2015-04 El administrador revisó el proyecto de NIMF (en respuesta a las preocupaciones debatidas por las partes interesadas).

2015-05 El CN aprobó el documento con vistas al período para presentar cuestiones sustanciales.

2015-10 El GTMF revisó el proyecto de NIMF.

2015-11 El CN revisó y aprobó la NIMF para su adopción por la CMF-11.

2016-04 La CMF-11 adoptó la norma.

NIMF 37. 2016. *Determinación de la condición de una fruta como hospedante de moscas de la fruta (Tephritidae)*. Roma, CIPF, FAO.

2018-12 La Secretaría de la CIPF suprimió la referencia a la NIMF 30 ya que esta norma había sido revocada por la CMF-13 (2018) tras la reorganización de las NIMF relativas a la mosca de la fruta, en la que la NIMF 30 se había incorporado en la NIMF 35.

Última actualización de la historia de publicación: 2019-03.

ÍNDICE

Adopción.....	4
INTRODUCCIÓN	4
Ámbito	4
Referencias.....	4
Definiciones	4
Perfil de los requisitos.....	5
ANTECEDENTES	5
REQUISITOS GENERALES	6
REQUISITOS ESPECÍFICOS.....	8
1. Determinación de la condición de hospedante natural utilizando la vigilancia mediante el muestreo de fruta.....	8
2. Determinación de la condición de hospedante utilizando ensayos de campo en condiciones seminaturales	9
2.1 Muestreo de frutas	9
2.2 Moscas de la fruta.....	9
2.3 Fruta.....	10
2.4 Controles.....	10
2.5 Diseño de los ensayos de campo.....	10
3. Manipulación de la fruta para la emergencia y el desarrollo de la mosca de la fruta.....	11
4. Análisis de los datos	12
5. Mantenimiento de registros y publicación	12
APÉNDICE 1: Bibliografía	13

Adopción

La Comisión de Medidas Fitosanitarias adoptó esta norma en su undécima reunión, celebrada en abril de 2016.

INTRODUCCIÓN

Ámbito

La presente norma proporciona las directrices para determinar la condición de una fruta como hospedante de moscas de la fruta (Tephritidae) y describe tres categorías para dicha condición de hospedante.

La fruta a que se refiere esta norma abarca la fruta en el sentido botánico, incluidas las frutas que en ocasiones se consideran hortalizas (p. ej., tomate y melón).

La presente norma comprende metodologías para la vigilancia en condiciones naturales y los ensayos de campo en condiciones seminaturales que deberían utilizarse a fin de determinar la condición de una fruta no dañada como hospedante de moscas de la fruta en los casos en que dicha condición sea incierta. Esta norma no trata de los requisitos para proteger las plantas contra la introducción y dispersión de moscas de la fruta.

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/core-activities/standards-setting/ispms>.

El Apéndice 1 y el Apéndice 2 de la NIMF 26 (*Establecimiento de áreas libres de plagas para moscas de la fruta [Tephritidae]*) también se aplican a esta norma.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios utilizados en esta norma figuran en la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*). Además de las definiciones que figuran en la NIMF 5, en la presente norma se aplican las siguientes definiciones.

Condición de hospedante (de la fruta, para una mosca de la fruta)	Clasificación de una especie o cultivar de planta como hospedante natural, hospedante condicional o no hospedante de una especie de mosca de la fruta.
Hospedante natural (de la fruta, para una mosca de la fruta)	Una especie o cultivar de planta que se ha demostrado científicamente que en condiciones naturales se encuentra infestada por la especie objetivo de mosca de la fruta y es capaz de sostener su desarrollo hasta que se conviertan en adultos viables.
Hospedante condicional (de la fruta para una mosca de la fruta)	Una especie o cultivar de planta que no es un hospedante natural, pero que se ha demostrado científicamente que se encuentra infestada por la especie objetivo de mosca de la fruta y es capaz de sostener su desarrollo hasta convertirse en adultos viables según se concluye de las condiciones seminaturales de campo establecidas en la presente norma.

No hospedante (de la fruta, para una mosca de la fruta)	Una especie o cultivar de planta que no se ha encontrado infestada por la especie objetivo de mosca de la fruta, o que no es capaz de sostener su desarrollo hasta convertirse en adultos viables en condiciones naturales o en las condiciones seminaturales de campo especificadas en la presente norma.
---	--

Perfil de los requisitos

La presente norma describe los requisitos para determinar la condición de una fruta específica como hospedante de una especie particular de mosca de la fruta y designa tres categorías para la condición de hospedante: hospedante natural, hospedante condicional y no hospedante. Los requisitos para determinar la condición de hospedante incluyen:

- la identificación precisa de la especie de mosca de la fruta, de la fruta sometida a prueba y, para los ensayos de campo, de la fruta utilizada para control procedente de un hospedante natural;
- la especificación de los parámetros para la vigilancia de los adultos y las larvas de mosca de la fruta y el diseño experimental en condiciones seminaturales de campo (p. ej., en jaulas de campo, invernaderos o ramas con frutos embolsadas) con objeto de determinar la condición del hospedante y describir las condiciones de la fruta (incluidas las fisiológicas) que han de evaluarse;
- la observación de la supervivencia de la mosca de la fruta en cada etapa de su desarrollo;
- el establecimiento de procedimientos de mantenimiento y manipulación de la fruta para determinar la condición de hospedante;
- la evaluación de los datos experimentales y la interpretación de los resultados.

ANTECEDENTES

Las moscas de la fruta son plagas económicamente importantes y a menudo se requiere la aplicación de medidas fitosanitarias para permitir el movimiento de su fruta hospedante en el comercio (NIMF 26; NIMF 35 [*Enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas de moscas de la fruta {Tephritidae}*]). La condición de una fruta como hospedante es un elemento importante del análisis de riesgo de plagas (ARP) (NIMF 2, *Marco para el análisis de riesgo de plagas*; NIMF 11, *Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias*). Por consiguiente, deberían armonizarse las categorías y los procedimientos para determinar la condición de hospedante. Es importante señalar que la condición de hospedante podrá variar con el tiempo a causa de cambios en las condiciones biológicas.

Cuando la condición de hospedante es incierta es particularmente necesario proporcionar una orientación armonizada a las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) para determinar la condición de la fruta como hospedante de moscas de la fruta. La evidencia histórica, los registros de intercepción de plagas y la literatura científica podrán, por lo general, aportar información suficiente sobre la condición de hospedante sin que haya una necesidad adicional de vigilancia de las larvas o ensayos de campo. Sin embargo, los registros históricos y los informes publicados pueden ser a veces poco fiables, por ejemplo:

- La identificación de las especies de mosca de la fruta, así como de las especies o los cultivares de plantas, puede haber sido incorrecta y tal vez no se disponga de especímenes de referencia para su verificación.
- Los registros de recolección pueden ser incorrectos o dudosos (p. ej., si la condición de hospedante se ha establecido a partir de 1) la captura con una trampa colocada en una planta de la fruta en cuestión; 2) fruta dañada; 3) la simple detección de larvas dentro de la fruta; 4) la contaminación cruzada de muestras).
- Pueden haberse omitido detalles importantes (p. ej., el cultivar, la etapa de madurez, la condición física de la fruta en el momento de la recolección o las condiciones sanitarias del huerto).

- Puede no haberse verificado el desarrollo de las larvas hasta convertirse en adultos viables.

En la bibliografía científica se han documentado protocolos y ensayos exhaustivos para determinar la condición de hospedante de mosca de la fruta. Sin embargo, la falta de uniformidad en la terminología y la metodología contribuye a variaciones en la determinación de la condición de hospedante de mosca de la fruta. La armonización de la terminología, los protocolos y los criterios de evaluación para determinar la condición de hospedante de mosca de la fruta promoverá la coherencia entre los países y las comunidades científicas.

La vigilancia mediante el muestreo de fruta constituye el método más fiable para determinar la condición de hospedante natural. La vigilancia de la infestación natural mediante el muestreo de fruta no interfiere en el comportamiento natural de las moscas de la fruta y tiene en cuenta los elevados niveles de variabilidad de la fruta, del comportamiento de la mosca de la fruta y de los períodos de actividad. El muestreo de fruta comprende la recolección de fruta y la cría de moscas en ella para determinar si se trata de un hospedante de mosca de la fruta (esto es, si la fruta en cuestión puede sostener el desarrollo de las moscas de la fruta hasta convertirse en adultos viables).

Los ensayos de campo en condiciones seminaturales permiten que las moscas de la fruta muestren su comportamiento natural de oviposición; además, puesto que la fruta permanece unida a la planta no se deteriora rápidamente durante los ensayos. No obstante, los ensayos de campo en condiciones seminaturales pueden exigir cuantiosos recursos y pueden verse obstaculizados por variables ambientales.

Los resultados de los ensayos de campo realizados en un área determinada podrán extrapolarse a áreas comparables si la especie objetivo de mosca de la fruta y la condición fisiológica de la fruta son similares, de manera que no es necesario repetir la determinación de la condición de hospedante de mosca de la fruta en un área separada, pero similar.

REQUISITOS GENERALES

Se puede determinar a cuál de las tres categorías de condición de hospedante (hospedante natural, hospedante condicional y no hospedante) pertenece una fruta a través de los pasos siguientes, tal y como se resume en el diagrama de flujo (Figura 1):

A. Si la información biológica o histórica disponible ofrece evidencia suficiente de que la fruta no sostiene la infestación¹ ni el desarrollo de adultos viables, no deberían necesitarse nuevas encuestas o ensayos de campo y la planta debería categorizarse como “no hospedante”.

B. Si la información biológica o histórica disponible ofrece evidencia suficiente de que la fruta sostiene la infestación y el desarrollo de adultos viables, no deberían requerirse nuevas encuestas o ensayos de campo y la planta debería categorizarse como “hospedante natural”.

C. Si la información biológica o histórica disponible no es concluyente debería realizarse una adecuada vigilancia en el campo, mediante el muestreo de fruta o ensayos de campo, para determinar la condición de hospedante. La vigilancia y los ensayos podrán dar lugar a uno de los resultados siguientes:

C1. Si después de la vigilancia en el campo mediante el muestreo de fruta se detecta infestación con desarrollo de adultos viables, la planta debería categorizarse como “hospedante natural”.

C2. Si después de la vigilancia en el campo mediante el muestreo de fruta no se detecta infestación y no hay ningún otro dato que indique que la fruta tiene el potencial de resultar infestada tomando en cuenta las condiciones en que se sabe que se comercializa el producto, tales como la condición fisiológica, el cultivar y la etapa de maduración, la planta podrá categorizarse como “no hospedante”.

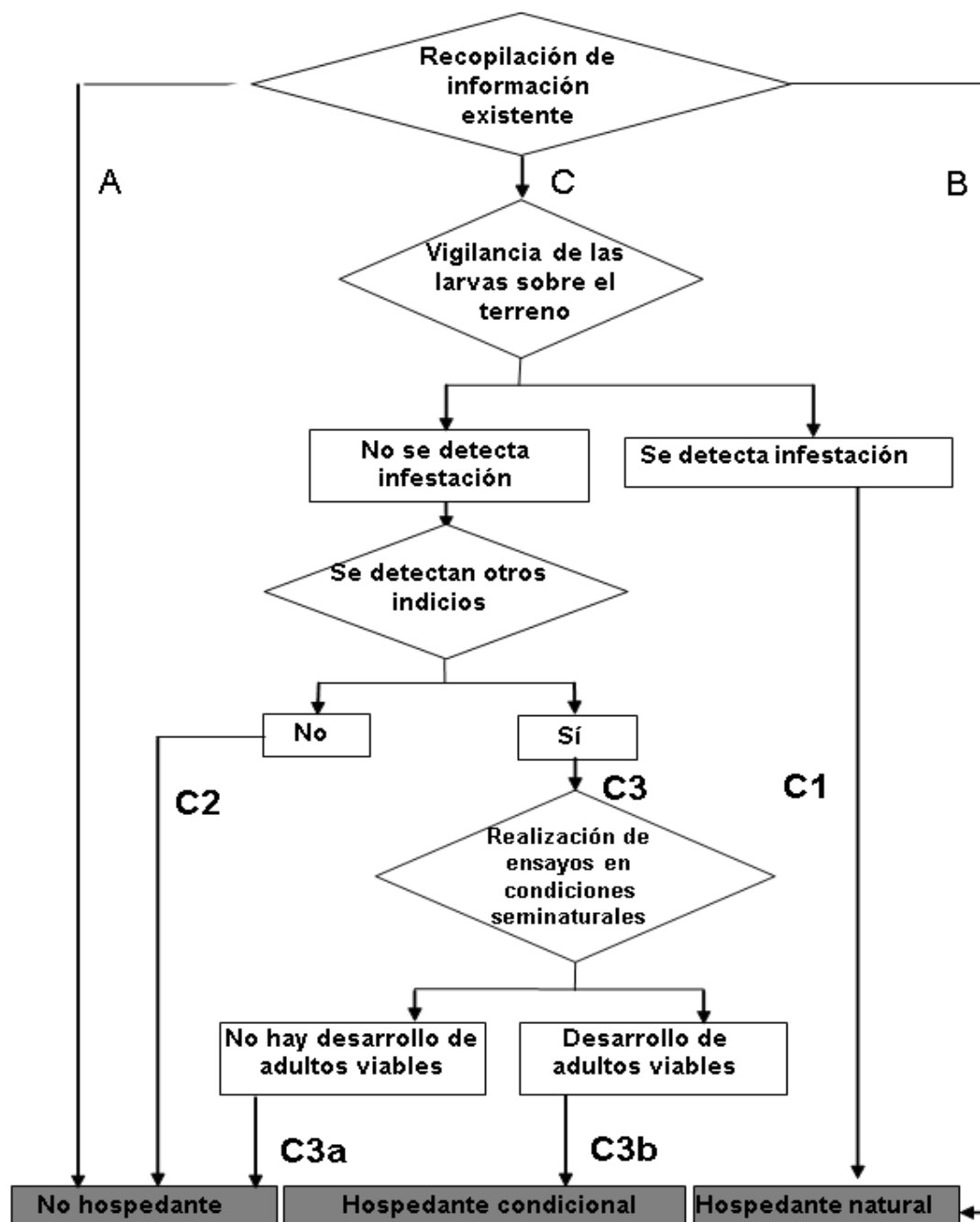
¹ En adelante, “infestación” se refiere a la infestación de una fruta por una especie objetivo de mosca de la fruta.

C3. Si después de la vigilancia en el campo mediante el muestreo de fruta no se detecta infestación, pero la información biológica o histórica disponible indica que la fruta tiene posibilidad de resultar infestada, podrán necesitarse ensayos de campo adicionales en condiciones seminaturales para evaluar si la especie objetivo de mosca de la fruta puede llegar a desarrollar adultos viables en la especie o el cultivar de fruta en cuestión.

C3a. Si la especie objetivo de mosca de la fruta no llega a desarrollar adultos viables, la planta debería categorizarse como "no hospedante".

C3b. Si la especie objetivo de mosca de la fruta desarrolla adultos viables, la planta debería categorizarse como "hospedante condicional".

Figura 1. Etapas para determinar la condición de una fruta como hospedante de moscas de la fruta.



REQUISITOS ESPECÍFICOS

La condición de hospedante podrá determinarse a partir de registros históricos de producción o datos sobre el comercio o la intercepción que indiquen infestaciones naturales. Si los datos históricos no permiten determinar con claridad la condición de hospedante se debería proceder a la vigilancia mediante el muestreo de fruta para reunir evidencia de infestaciones naturales y del desarrollo de adultos viables, o bien podrá ser necesario realizar ensayos de campo en condiciones seminaturales. En aquellos casos en que no se haya determinado científicamente la condición de hospedante mediante la vigilancia, o cuando exista una necesidad concreta de determinar si una fruta es un hospedante condicional o un no hospedante, podrá ser necesario realizar ensayos en condiciones seminaturales de campo.

Las condiciones artificiales son inherentes a las pruebas de laboratorio, en las que a las moscas de la fruta se les ofrece fruta cosechada que sufre cambios fisiológicos rápidos y, por consiguiente, podrá ser más susceptible a la infestación. Por tanto, la detección de infestación en pruebas de laboratorio para determinar la condición de hospedante podrá inducir a error. Además, se ha documentado ampliamente que, en condiciones artificiales, las hembras de especies polífagas depositarán sus huevos en casi todas las frutas que se les ofrezcan y, en la mayoría de los casos, las larvas se convertirán en adultos viables. Por tanto, las pruebas de laboratorio podrán ser suficientes para demostrar la condición de no hospedante, pero no son adecuadas para demostrar la condición de hospedante natural o condicional.

Los siguientes elementos son aspectos importantes que deben tenerse en cuenta en la planificación de los ensayos de campo:

- la identidad de la especie de planta (incluidos los cultivares, cuando proceda) y la especie objetivo de mosca de la fruta;
- la variabilidad física y fisiológica de la fruta en el área de producción;
- la utilización previa de productos químicos en el área de producción de la fruta;
- la incidencia de la mosca de la fruta objetivo en toda el área de producción y los períodos correspondientes de cosecha y exportación;
- información pertinente, con inclusión de bibliografía y registros sobre la condición de hospedante de la fruta y sobre la especie de mosca de la fruta, así como un examen crítico de dicha información;
- el origen y la condición de cría de la colonia de mosca de la fruta que se va a utilizar;
- las especies y cultivares del hospedante natural conocido que se utilizarán como controles;
- la realización de ensayos de campo independientes, cuando proceda, para cada especie de mosca de la fruta para la cual se requiere determinar la condición de hospedante;
- la realización de ensayos de campo independientes para cada cultivar de fruta, si las diferencias de cultivares constituyen la supuesta fuente de variabilidad en la propensión del hospedante a ser infestado;
- la realización de ensayos de campo en las áreas de producción de fruta;
- observación de prácticas estadísticas correctas.

1. Determinación de la condición de hospedante natural utilizando la vigilancia mediante el muestreo de fruta

El muestreo de fruta constituye el método más fiable para determinar la condición de hospedante natural. La condición de hospedante natural puede determinarse sobre la base de la confirmación de la infestación natural y el desarrollo de adultos viables mediante el muestreo de fruta durante el período de cosecha.

Las muestras de fruta deberían ser representativas de toda la gama de áreas de producción y condiciones ambientales, así como de las etapas fisiológicas y físicas.

2. Determinación de la condición de hospedante utilizando ensayos de campo en condiciones seminaturales

El objetivo de los ensayos de campo es determinar la condición de hospedante, en condiciones específicas, de una fruta que se ha determinado que no es un hospedante natural. Los ensayos podrán incluir el uso de jaulas de campo, invernaderos (por ejemplo de vidrio, de plástico o de malla) y embolsado de ramas con frutas.

La emergencia de un adulto viable en cualquiera de las repeticiones de un ensayo de campo en condiciones seminaturales indica que la fruta es un hospedante condicional.

En los siguientes subapartados se esbozan los elementos que deberían tomarse en consideración al diseñar los ensayos de campo.

2.1 Muestreo de frutas

En el muestreo de fruta realizado durante los ensayos de campo se aplican los siguientes criterios:

- Siempre que sea posible, el muestreo debería estar dirigido a fruta sospechosa de estar infestada. Por otra parte, los protocolos de muestreo deberían basarse en los principios de aleatoriedad y repetición, así como ser apropiados para cualquier análisis estadístico que se realice.
- El período de tiempo, el número de repeticiones por temporada de crecimiento y el número de repeticiones deberían tomar en cuenta la variabilidad de las moscas de la fruta objetivo y de la fruta objetivo a lo largo del tiempo y en toda el área de producción. Deberían tomar en cuenta también las condiciones de cosecha temprana o tardía y ser representativos del área propuesta desde la que se trasladará la fruta. Debería especificarse el número de unidades y peso de la fruta que se requiere y el número de repeticiones por ensayo para determinar la eficacia, así como el nivel de confianza apropiado.

2.2 Moscas de la fruta

Los siguientes requisitos son aplicables a los procedimientos operativos relacionados con las moscas de la fruta que se utilizan en los ensayos de campo:

- Debería llevarse a cabo la identificación taxonómica de las moscas de la fruta utilizadas para los ensayos de campo, y conservarse especímenes de referencia.
- Debería recopilarse información básica sobre la especie objetivo de mosca de la fruta, incluyendo su período normal de desarrollo y hospedantes conocidos en el área de producción específica.
- Es deseable utilizar poblaciones silvestres para los ensayos de campo. En caso de que no puedan obtenerse moscas silvestres en número suficiente, en la medida de lo posible la edad de la colonia utilizada no debería superar las cinco generaciones al inicio de los ensayos. La población de mosca de la fruta podrá mantenerse en sustrato, pero la generación que se vaya a utilizar en los ensayos debería criarse en el hospedante natural para garantizar un comportamiento normal de oviposición. Las moscas utilizadas en repeticiones experimentales deberían provenir de la misma población y generación, esto es, la misma cohorte.
- De ser posible, la colonia de mosca de la fruta debería proceder de la misma área que la fruta objetivo.
- Antes de los ensayos de campo deberían determinarse los períodos de preoviposición, oviposición y apareamiento para que las moscas hembra apareadas estén expuestas a la fruta en el momento de su máximo potencial reproductivo.
- En la fecha de apareamiento y al comienzo de los ensayos de campo debería registrarse la edad de las moscas hembra y macho adultos.
- El número de moscas hembra apareadas necesarias por fruta debería determinarse en función del tamaño de la fruta, la fecundidad de las hembras y las condiciones del ensayo de campo. El número de moscas de la fruta por repetición de ensayo debería determinarse en función de la biología de la mosca de la fruta, la cantidad de fruta que se va a exponer y otras condiciones del ensayo de campo.

- El tiempo de exposición de la fruta a la especie objetivo de mosca de la fruta debería basarse en el comportamiento de oviposición de la mosca de la fruta.
- Cada mosca hembra debería utilizarse una sola vez.
 - Se debería registrar el número de adultos que mueran durante los ensayos de campo y reemplazar las moscas de la fruta muertas con adultos vivos de la misma población y generación, esto es, de la misma cohorte. Un nivel alto de mortalidad de adultos podrá ser un indicio de condiciones desfavorables (p. ej.: temperatura excesiva) o contaminación (p. ej.: por residuos de plaguicidas) de la fruta del ensayo de campo. En estos casos, deberían repetirse los ensayos en condiciones más favorables.

En los ensayos de campo repetidos, las moscas de la fruta deberían tener una edad fisiológica semejante y haberse criado en las mismas condiciones.

2.3 Fruta

Los siguientes requisitos son aplicables a la fruta utilizada en los ensayos de campo. La fruta debería:

- pertenecer a la misma especie y al mismo cultivar que la fruta que se va a trasladar;
- proceder de la misma área de producción, o un área representativa de esta, que la fruta que se va a trasladar;
- estar prácticamente libre de plaguicidas nocivos para las moscas de la fruta, así como de cebos, suciedad, otras moscas de la fruta y plagas;
- estar libre de daño mecánico o natural;
- cumplir con una calidad comercial determinada en cuanto a color, tamaño y condición fisiológica;
- encontrarse en una etapa de maduración adecuada y especificada (p. ej.: según el peso en seco o el contenido de azúcar).

2.4 Controles

Se requieren frutas que sean hospedantes naturales conocidos en una etapa de maduración conocida como controles para todos los ensayos de campo. Estas frutas podrán ser de especies o géneros diferentes de la especie de fruta objetivo. La fruta debería estar libre de toda infestación previa (p. ej.: por haberse embolsado o proceder de un área libre de plagas). Las moscas de la fruta utilizadas en los controles y repeticiones del experimento (incluido el control) deberían proceder de la misma población y generación, esto es, de la misma cohorte.

Los controles se utilizan para:

- verificar que las moscas hembra sean sexualmente maduras, se hayan apareado y muestren un comportamiento normal de oviposición;
- indicar el nivel de infestación que puede producirse en un hospedante natural;
- indicar el tiempo de desarrollo hasta la etapa adulta en las condiciones del ensayo de campo en un hospedante natural;
- confirmar que las condiciones ambientales para la infestación son adecuadas.

2.5 Diseño de los ensayos de campo

Para los fines de esta norma, en los ensayos de campo se emplean jaulas de campo, invernaderos o ramas con fruta embolsadas. Los ensayos deberían ser apropiados para evaluar la forma en que la condición física y fisiológica de la fruta podrá afectar a la condición de hospedante.

Las moscas de la fruta se liberan en jaulas de campo grandes hechas con malla en las que se introducen plantas enteras con frutas o bolsas de malla que contienen las partes de las plantas en las que se halla la fruta. De manera alternativa, las plantas con fruta podrán colocarse en invernaderos en los que se liberen las moscas. Las plantas con fruta pueden cultivarse en los recintos o introducirse como plantas en macetas para los ensayos. Es importante señalar que, dado que las hembras de

moscas de la fruta quedan confinadas artificialmente dentro del recinto específico sometido a observación, estas podrán verse forzadas a depositar los huevos en la fruta de un hospedante condicional.

Los ensayos de campo deberían realizarse en condiciones adecuadas para la actividad de la mosca de la fruta, especialmente para la oviposición, tal y como se indica a continuación:

- Las jaulas de campo y los invernaderos deberían tener un tamaño y un diseño adecuados a fin de garantizar el confinamiento de las moscas adultas y las plantas del ensayo, permitir un flujo de aire adecuado y posibilitar condiciones que faciliten el comportamiento natural de oviposición.
- Debería proporcionarse a los adultos una cantidad satisfactoria y suficiente de agua y alimento.
- Las condiciones ambientales deberían ser óptimas, y deberían registrarse durante el período de los ensayos de campo.
- Podrá mantenerse a las moscas macho en jaulas o invernaderos junto con las moscas hembra, si ello resulta beneficioso para estimular la oviposición.
- Antes del inicio de los ensayos se deberían eliminar de las jaulas los enemigos naturales de la especie objetivo de mosca de la fruta y evitar que vuelvan a entrar.
- Las jaulas deberían protegerse de otros consumidores de frutas (p. ej. pájaros y monos).
- Para los controles puede colgarse de las ramas de las plantas fruta de hospedantes naturales conocidos (no de aquellas ramas en las que haya fruta objeto de ensayo). Los controles deben separarse de las frutas objeto de ensayo (en jaulas de campo, invernaderos o ramas embolsadas por separado) a fin de garantizar que el ensayo no constituya una prueba de elección.
- La fruta objeto de ensayo debería permanecer adherida de forma natural a las plantas y podrá quedar expuesta a las moscas de la fruta en jaulas de campo, bolsas o invernaderos.
- Las plantas deberían crecer en condiciones que excluyan, en la medida de lo posible, cualquier interferencia de productos químicos que puedan ser nocivos para las moscas de la fruta.
- Una repetición debería consistir en una bolsa o jaula, colocada preferentemente en una planta en la unidad experimental.
- Se debería monitorizar y registrar la mortalidad de mosca de la fruta y las moscas muertas deberían ser reemplazadas inmediatamente por moscas vivas de la misma población y generación, esto es, de la misma cohorte, a fin de mantener la misma incidencia de mosca de la fruta.
- La fruta debería cultivarse en condiciones comerciales o en recipientes de un tamaño que permita el desarrollo normal de plantas y frutas.
 - Después del período de exposición asignado para la oviposición, la fruta debería retirarse de la planta y pesarse y debería registrarse su número y peso.

El tamaño de muestra que se utilizará para alcanzar el nivel de confianza requerido debería determinarse previamente utilizando referencias científicas.

3. Manipulación de la fruta para la emergencia y el desarrollo de la mosca de la fruta

La fruta recolectada en condiciones naturales (vigilancia mediante el muestreo de fruta) y seminaturales (ensayos de campo), así como la utilizada para control, debería conservarse hasta que se complete el desarrollo larval. Este período podrá variar con la temperatura y la condición de hospedante. Las condiciones de manipulación y conservación de la fruta deberían maximizar la supervivencia de la mosca de la fruta y deberían especificarse en el protocolo de muestreo o en el diseño experimental del ensayo de campo.

La fruta debería almacenarse en una instalación o recipiente a prueba de insectos, en condiciones que garanticen la supervivencia de las pupas, en particular:

- la temperatura y humedad relativa adecuadas;
- el medio apropiado para la pupación.

Además, las condiciones deberían facilitar la recolección precisa de las larvas y pupas, así como de los adultos viables que emergen de la fruta. Los datos a registrar incluyen:

- las condiciones físicas diarias (p. ej.: la temperatura, la humedad relativa) en la instalación donde se conserva la fruta;
- las fechas y el número de larvas y pupas recogidas tanto de la fruta objeto de ensayo como de la utilizada para control, teniendo en cuenta que:
 - el medio podrá tamizarse al final del período de almacenamiento;
 - al final del período de almacenamiento la fruta debería diseccionarse, antes de ser desechada, a fin de determinar la presencia de larvas o pupas vivas y muertas; en función del estado de descomposición de la fruta, podrá ser necesario transferir las larvas a un medio de pupación adecuado;
 - deberían pesarse todas las pupas, o una submuestra de ellas, y registrarse las anomalías;
- el número y las fechas de emergencia de todos los adultos de cada especie, incluidas las moscas adultas anormales.

4. Análisis de los datos

Los datos obtenidos de la vigilancia de larvas y los ensayos de campo podrán someterse a un análisis cuantitativo a fin de determinar, por ejemplo:

- los niveles de infestación (p. ej. el número de larvas por fruta, el número de larvas por kilogramo de fruta, el porcentaje de fruta infestada) a un nivel de confianza específico;
- el período de desarrollo de larvas y pupas, y el número de adultos viables;
- el porcentaje de emergencia de adultos.

5. Mantenimiento de registros y publicación

La ONPF debería mantener registros apropiados de la vigilancia de larvas en el campo y los ensayos de campo para determinar la condición de hospedante, que incluyan los datos siguientes:

- el nombre científico de la especie objetivo de mosca de la fruta;
- el nombre científico de la especie de planta o el nombre del cultivar;
- la ubicación del área de producción de la fruta, incluidas las coordenadas geográficas;
- la ubicación de los especímenes de referencia de la mosca de la fruta objetivo, que se guardarán en una colección oficial;
- el origen y la cría de la colonia de mosca de la fruta utilizada para los ensayos de campo;
- la condición física y fisiológica de la fruta sometida a prueba para determinar su infestación por moscas de la fruta;
- el diseño experimental, los ensayos realizados, las fechas, las ubicaciones;
- los datos primarios, los cálculos estadísticos y la interpretación de resultados;
- las principales referencias científicas utilizadas;
- información adicional, incluidas fotografías, que podrá ser específica de la mosca de la fruta, la fruta o la condición de hospedante.

Los registros deberían ponerse a disposición de la ONPF del país importador que así lo solicite.

Las investigaciones deberían, en la medida de lo posible, someterse a revisión externa por expertos y publicarse en una revista científica, o bien estar disponibles por otros medios.

Este apéndice se presenta únicamente como referencia y no constituye una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 1: Bibliografía

- Aluja, M., Diaz-Fleisher, F. y Arredondo, J.** 2004. Nonhost status of commercial *Persea americana* "Hass" to *Anastrepha ludens*, *Anastrepha obliqua*, *Anastrepha serpentina*, and *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 97: 293-309.
- Aluja, M. y Mangan, R. L.** 2008. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: Critical conceptual and methodological considerations. *Annual Review of Entomology*, 53: 473-502.
- Aluja, M., Pérez-Staples, D., Macías-Ordóñez, R., Piñero, J., McPheron, B. y Hernández-Ortiz, V.** 2003. Nonhost status of *Citrus sinensis* cultivar Valencia and *C. paradisi* cultivar Ruby Red to Mexican *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 96: 1693-1703.
- Norma regional sobre medidas fitosanitarias n.º 4 de la Comisión de Protección Vegetal para Asia y el Pacífico.** 2005. *Guidelines for the confirmation of non-host status of fruit and vegetables to Tephritid fruit flies*. Publicación de la RAP 2005/27. Bangkok, Comisión de Protección Vegetal para Asia y el Pacífico.
- Baker, R. T., Cowley, J. M., Harte, D. S. y Frampton, E. R.** 1990. Development of a maximum pest limit for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in produce imported into New Zealand. *Journal of Economic Entomology*, 83: 13-17.
- Cowley, J. M., Baker, R. T. y Harte, D. S.** 1992. Definition and determination of host status for multivoltine fruit fly (Diptera: Tephritidae) species. *Journal of Economic Entomology*, 85: 312-317.
- FAO/OIEA.** 2013. *Trapping manual for area-wide fruit fly programmes*. Viena, División Conjunta FAO/OIEA. 46 págs.
- FAO/OIEA/USDA.** 2014. *Product quality control for sterile mass-reared and released tephritid fruit flies*. Versión 6.0. Viena, OIEA. 164 págs.
- Fitt, G.P.** 1986. The influence of a shortage of hosts on the specificity of oviposition behaviour in species of *Dacus* (Diptera: Tephritidae). *Physiological Entomology*, 11: 133-143.
- Follett, P. A.** 2009. Puncture resistance in "Sharwil" avocado to Oriental fruit fly and Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) oviposition. *Journal of Economic Entomology*, 102: 921-926.
- Follett, P. A. y Hennessey, M. K.** 2007. Confidence limits and sample size for determining nonhost status of fruits and vegetables to tephritid fruit flies as a quarantine measure. *Journal of Economic Entomology*, 100: 251-257.
- Grové T., de Beer, M. S. y Joubert, P. H.** 2010. Developing a systems approach for *Thaumatotibia leucotreta* (Lepidoptera: Tortricidae) on "Hass" avocado in South Africa. *Journal of Economic Entomology*, 103: 1112-1128.
- Hennessey, M. K.** 2007. Guidelines for the determination and designation of host status of a commodity for fruit flies (Tephritidae). Orlando, Florida, USDA-CPHST.
- Norma regional sobre medidas fitosanitarias n.º 30 de la Comisión de Protección Vegetal para Asia y el Pacífico.** 2008. *Directrices para determinar y designar el estatus de una fruta o verdura como hospedante de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae)*. Ottawa, Organización Norteamericana de Protección a las Plantas.
- NASS (National Agriculture Security Service).** 1991. *Specification for determination of fruit fly host status as a treatment*. Norma 155.02.01.08. Wellington, Ministerio de Agricultura y Pesca de Nueva Zelandia.
- Rattanapun, W., Amornsak, W. y Clarke, A. R.** 2009. *Bactrocera dorsalis* preference for and performance on two mango varieties at three stages of ripeness. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131: 243-253.

- Santiago, G., Enkerlin, W. Reyes, J. y Ortiz, V.** 1993. Ausencia de infestación natural de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) en aguacate “Hass” en Michoacán, México. *Agrociencia serie Protección Vegetal*, 4(3): 349-357.
- Singer, M. C.** 2004. Oviposition preference: its definition, measurement and correlates, and its use in assessing risk of host shifts. En J.M. Cullen, D. T. Briesse, W. M. Kriticos, L. Morin y J. K. Scott, eds. *Proceedings of the XI International Symposium on Biological Control of Weeds*, págs. 235-244. Canberra, CSIRO.
- Thomas, D. B.** 2004. Hot peppers as a host for the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 87: 603-608.
- van Klinken, R. D.** 2000. Host specificity testing: Why do we do it and how can we do it better. En R. Van Driesche, T. Heard, A. McClay y R. Reardon, eds. *Host-specificity testing of exotic arthropod biological control agents: The biological basis for improvement in safety*, págs. 54-68. Morgantown, WV, Forest Health Technology Enterprise Team, USDA Forest Service.
- Willard, H. F., Mason, A. C. y Fullaway, D. T.** 1929. Susceptibility of avocados of the Guatemala race to attack by the Mediterranean fruit fly in Hawaii. *Hawaiian Forester and Agriculturist*, 26: 171-176.