

Enero de 2013



منظمة الأغذية
والزراعة للأمم
المتحدة

联合国
粮食及
农业组织

Food and
Agriculture
Organization
of the
United Nations

Organisation des
Nations Unies
pour
l'alimentation
et l'agriculture

Продовольственная и
сельскохозяйственная
организация
Объединенных
Наций

Organización
de las
Naciones Unidas
para la
Alimentación y la
Agricultura

COMISIÓN DE MEDIDAS FITOSANITARIAS

Octava reunión
Roma, 8-12 de abril de 2013
Grupos de revisión en los idiomas de la Comisión
Tema 8.1.5 del programa
Preparado por la Secretaría de la CIPF

I. Introducción

1. En la quinta reunión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF-5, 2010), se 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 normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF) adoptadas. La Secretaría de la CIPF (Secretaría) proporciona información sobre el establecimiento de dichos grupos y el procedimiento seguido por estos en el Portal fitosanitario internacional (PFI), en la siguiente dirección:
https://www.ippc.int/index.php?id=1110770&no_cache=1&L=1&no_cache=1.

II. Establecimiento de grupos de revisión en los idiomas de la Comisión

2. En 2012 no se establecieron nuevos grupos de revisión en los distintos idiomas.
3. Los grupos establecidos anteriormente para el chino, el español y el francés revisaron las normas adoptadas en la CMF-7 (2012).
4. El coordinador del Grupo de revisión en ruso dimitió después de la CMF-7 (2012), por lo que este Grupo no revisó las normas adoptadas en dicha reunión. Es necesario nombrar un nuevo coordinador para continuar la revisión de las normas en ruso. En la CMF-8 (2013) se recomendará a la Comisión la aprobación de 43 normas, protocolos de diagnóstico y tratamientos fitosanitarios en ruso, que deberán remitirse al Grupo de revisión en dicho idioma.
5. Los miembros de lengua árabe no han establecido todavía un grupo de revisión para ese idioma.

Para minimizar los efectos de los métodos de trabajo de la FAO en el medio ambiente y contribuir a la neutralidad respecto del clima, se ha publicado un número limitado de ejemplares de este documento. Se ruega a los delegados y observadores que lleven sus copias a las reuniones y se abstengan de pedir copias adicionales. La mayoría de los documentos de reunión de la FAO está disponible en Internet, en el sitio www.fao.org.

III. Revisión de las normas adoptadas en la CMF-7

6. La Secretaría recibió las NIMF adoptadas en la CMF-7 (2012) con las modificaciones (con marcas de revisión) propuestas en las versiones en chino, español y francés por los respectivos grupos de revisión. La Secretaría presentó estos documentos a los servicios de traducción de la FAO, que examinaron los cambios propuestos y prepararon comentarios sobre las cuestiones, los términos controvertidos y los desacuerdos planteados durante el trabajo de revisión.

7. La Secretaría subraya la importancia de respetar los plazos establecidos en el procedimiento de los grupos de revisión en los distintos idiomas aprobado por la CMF y pide a dichos grupos que presenten las normas revisadas a tiempo para disponer del plazo necesario a fin de tramitar estas normas para presentarlas a la CMF en su siguiente reunión y, en consecuencia, distribuir la carga de trabajo de la Secretaría.

IV. Chino (detalles proporcionados solamente en chino)

8. El Grupo de revisión en chino no revisó las enmiendas a la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*) y al Suplemento 1 de la NIMF 5, mostrándose de acuerdo con la traducción propuesta adoptada en la CMF-7.

9. El Grupo de Traducción al Chino de la FAO estuvo de acuerdo con todos los cambios propuestos por el respectivo grupo de revisión.

V. Francés

10. El Grupo de Traducción al Francés de la FAO estuvo de acuerdo con todos los cambios propuestos por el respectivo grupo de revisión.

VI. Español (detalles proporcionados solamente en español)

11. En la versión española del presente documento se proporcionan detalles sobre las cuestiones consideradas en relación con las traducciones de las NIMF en español y las conclusiones de los debates al respecto.

REVISIÓN DE LA VERSIÓN EN ESPAÑOL DE LAS NORMAS APROBADAS POR LA COMISIÓN DE MEDIDAS FITOSANITARIAS (CMF) EN SU SÉPTIMA REUNIÓN

Se resume aquí el debate sobre las propuestas de revisión de las normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF) que formuló el Grupo de revisión en español (GRE) y que no fueron aceptadas por el Grupo de Traducción al Español de la FAO. El proceso de revisión se llevó a cabo de conformidad con el procedimiento establecido: el GRE presentó sus propuestas; el Grupo de Traducción al Español las examinó, aceptó muchos de los cambios sugeridos y señaló los que no consideraba aceptables; el GRE volvió a examinar los textos, aceptó en gran parte las observaciones del Grupo de Traducción al Español y, en otros casos, solicitó que se reconsideraran sus propuestas; se llegó, por último, a un acuerdo sobre todas las cuestiones planteadas.

A continuación se exponen sucintamente las principales observaciones del Grupo de Traducción al Español, en primer término las aceptadas por el GRE y en segundo término las que requirieron un nuevo debate y una negociación entre ambos grupos. En todos los ejemplos proporcionados, los términos o expresiones que fueron objeto de propuestas de cambio figuran en negrita; cuando procede, aparece tachado el texto que se deseaba suprimir y subrayado el que se proponía adoptar. No se mencionan aquí los cambios editoriales u otras correcciones menores acordadas entre ambos grupos.

1. Observaciones del Grupo de Traducción al Español de la FAO aceptadas por el Grupo de revisión en español de la CMF

1.1 Cuestiones generales

➤ Sinónimos

Diversos cambios propuestos por el GRE consistían en sustituir un término o expresión por otro de significado equivalente. El Grupo de Traducción al Español rechazó estos cambios por considerarlos innecesarios, en consonancia con su recomendación previa de que “los cambios introducidos por el GRE se limitaran a los esenciales para aclarar el contenido de los textos o rectificar errores y que se evitara la sustitución de palabras o expresiones correctas por sinónimos”¹. El GRE había expresado su acuerdo con dicha recomendación. En consonancia con este criterio no se aceptaron, entre otras, las propuestas del GRE de sustituir los siguientes términos:

“desarrollar **zonas** marrones” por “desarrollar **áreas** marrones”;

“**debido a que**” por “**ya que**”;

“**si bien**” por “**aunque**”;

“**no obstante**” por “**sin embargo**”;

“dañar **gravemente**” por “dañar **seriamente**”;

“el género (...) **comprende** 115 especies” por “el género (...) **incluye** 115 especies”;

“aplicación de los procedimientos fitosanitarios (...) con el **objeto** de erradicar (...) plagas” por “aplicación de los procedimientos fitosanitarios (...) con el **propósito** de erradicar (...) plagas”.

➤ Otros cambios no aceptados

Siguiendo el mismo criterio adoptado para los sinónimos, el Grupo de Traducción al Español no aceptó las propuestas de modificación del orden de ciertas frases por considerar que las frases en cuestión eran correctas y resultaban suficientemente claras; rechazó ciertos cambios de preposiciones por estimar que la versión original era tanto o más correcta que la propuesta por el GRE y, en particular, no aceptó diversos cambios por considerar que la nueva expresión propuesta constituía un calco innecesario o incorrecto de la frase inglesa correspondiente (por ejemplo, “**adicionalmente**” [*additionally*] en lugar de “**además**”, o “**tomar acciones**” [*take actions*] en lugar de “**aplicar acciones**”).

“Índice” y “contenido”

El GRE había propuesto reemplazar, en algunos de los textos revisados, el término “**índice**” por “**contenido**” como traducción del título inglés *Contents*. El Grupo de Traducción al Español no aceptó esta propuesta; aclaró, con el respaldo de la definición de la palabra en cuestión², que la traducción correcta era justamente “índice” y señaló, por último, que era este el término empleado en las demás NIMF.

Notación de cifras

Algunos de los cambios propuestos por el GRE consistían en sustituir por números las cifras mencionadas con palabras en el texto, por ejemplo:

“... se observan en las partes nuevas de la planta después de **tres 3** o **cuatro 4** semanas”.

Tratándose de cifras inferiores a 10, el Grupo de Traducción al Español no aceptó estos cambios porque dicha notación no se ajustaba a las *Normas de uso del español en los textos de la FAO*³.

¹ Véase el documento CPM 2012/09 (CMF-7, marzo de 2012).

² “En un libro u otra publicación, lista ordenada de los capítulos, artículos, materias, voces, etc., en él contenidos, con indicación del lugar donde aparecen” (Diccionario de la Real Academia Española, <http://www.rae.es/rae.html>).

³ “Se escriben con letras los números ordinales del primero al noveno, y los números cardinales del uno al nueve, excepto cuando van seguidos (...) del símbolo de una unidad de medida, o cuando se trata de precios, números de páginas, figuras o cuadros.” Las *Normas de uso del español en los textos de la FAO* están a disposición de quienes las soliciten; próximamente se proporcionará un enlace web para facilitar su consulta a todos los interesados.

Cambios que no corresponden al texto original en inglés

En algunos casos, el GRE propuso añadir referencias o aclaraciones que no figuraban en el original inglés. El Grupo de Traducción al Español no aceptó estas propuestas puesto que tales modificaciones no podían introducirse únicamente en la versión española.

Párrafo inicial sobre la adopción de la norma

En más de un caso, el GRE había propuesto el siguiente cambio:

Esta norma fue adoptada por la Séptima Sesión de la Comisión de Medidas Fitosanitarias adoptó esta norma en su séptima reunión, celebrada en marzo de 2012.

Esta modificación no se aceptó por diversos motivos: se señaló, ante todo, que las formas verbales en pasiva del inglés no debían volcarse automáticamente en español; además, era “reuniones” el término español con que se traducía habitualmente el término *sessions* en relación con los trabajos de la Comisión de Medidas Fitosanitarias. Dicha traducción, al igual que el uso de mayúsculas y minúsculas adoptado en la frase original en español, era conforme a las *Normas de uso del español en los textos de la FAO*.

VII. Recomendaciones

12. Se invita a la CMF a:

- 1) *tomar nota* de las NIMF revisadas por los grupos de revisión en chino, español y francés y por los servicios de traducción de la FAO
- 2) *tomar nota* de que los miembros de habla rusa deben elegir al sustituto del coordinador del Grupo de revisión en ruso
- 3) *instar* a sus miembros que participan en los grupos de revisión en los distintos idiomas a asegurarse de que se respeten los plazos establecidos para el proceso de dichos grupos aprobado por la CMF y las fechas de vencimiento
- 4) *pedir* a la Secretaría que acepte todos los cambios indicados con marcas de revisión en los documentos adjuntos 1 a 17 y sustituir las versiones en chino, español y francés de las correspondientes NIMF adoptadas en la CMF-7 (2012) con estas versiones modificadas.

A. Lista de documentos adjuntos únicamente a la versión china de este documento de la CMF:

Documento adjunto 1: 国际植物检疫措施标准第35号

实蝇（实蝇科）有害生物风险管理系统方法

Documento adjunto 2: 国际植物检疫措施标准第36号 种植用植物综合措施

Documento adjunto 3: 第2号诊断规程： *Plum pox virus* (洋李痘疱病毒)

Documento adjunto 4: 第3号诊断规程： *Trogoderma granarium* Everts (谷斑皮蠹)

B. Lista de documentos adjuntos únicamente a la versión francesa de este documento de la CMF:

Documento adjunto 6: NIMP 35 Approche systémique de gestion du risque phytosanitaire lié aux mouches des fruits (Tephritidae)

Documento adjunto 7: NIMP 36 Mesures intégrées applicables aux végétaux destinés à la plantation

Documento adjunto 8: Amendements à apporter à la NIMP 5 Glossaire des termes phytosanitaires

Documento adjunto 9: NIMP 5 - Supplément 1: Directives sur l'interprétation et l'application des concepts de « lutte officielle » et de « non largement disséminé »

Documento adjunto 10: PD 2: *Plum pox virus*

Documento adjunto 11: PD 3 *Trogoderma granarium* Everts

C. Lista de documentos adjuntos únicamente a la versión española de este documento de la CMF:

Documento adjunto 12: NIMF 35, Enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas de moscas de la fruta (Tephritidae)

Documento adjunto 13: NIMF 36, Medidas integradas para las plantas para plantar

Documento adjunto 14: Enmiendas a la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*)

Documento adjunto 15: NIMF 5, Suplemento 1: Directrices sobre la interpretación y aplicación de los conceptos de “control oficial” y “no distribuida ampliamente”

Documento adjunto 16: PD 2, *Plum pox virus*

Documento adjunto 17: PD 3, *Trogoderma granarium* Everts

NIMF 35



**NORMAS INTERNACIONALES PARA
MEDIDAS FITOSANITARIAS**

NIMF 35

**ENFOQUE DE SISTEMAS PARA EL
MANEJO DEL RIESGO DE PLAGAS DE
MOSCAS DE LA FRUTA (TEPHRITIDAE)**

(2012)

Producido por la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma

Este historia de la publicación se refiere sólo a la versión española. Para la historia completa de la publicación, consulte la versión en inglés de la norma

La CMF-7 (2012) adoptó la NIMF 35

NIMF 35. 2012. *Enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas de moscas de la fruta (Tephritidae)*. Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: junio [de](#) 2012

ÍNDICE

Adopción	35-5
INTRODUCCIÓN	35-5
Ámbito.....	35-5
Referencias	35-5
Definiciones	35-5
Perfil de los requisitos	35-5
ANTECEDENTES	35-6
REQUISITOS.....	35-6
1. Decisión de implementar un ES-MF	35-6
2. Desarrollo de un ES-MF.....	35-7
3. Documentación y mantenimiento de registros.....	35-9
4. Verificación	35-9
5. Nivel de tolerancia.....	35-10
6. No conformidad e incumplimiento.....	35-10

Adopción

La Comisión de Medidas Fitosanitarias adoptó esta norma en su séptima reunión, celebrada en marzo de 2012.

INTRODUCCIÓN

Ámbito

Esta norma proporciona las directrices para ~~la elaboración el desarrollo~~, implementación y verificación de medidas integradas en un enfoque de sistemas como una opción para el manejo de l riesgos de plagas de moscas de la fruta (Tephritidae) de importancia económica.

Referencias

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

NIMF 2. 2007. *Marco para el análisis de riesgo de plagas*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 5. *Glosario de términos fitosanitarios*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 11. 2004. *Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias, incluido el análisis de riesgos ambientales y organismos vivos modificados*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 13. 2001. *Directrices para la notificación del incumplimiento y acción de emergencia*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 14. 2002. *Aplicación de medidas integradas en un enfoque de sistemas para el manejo de riesgo de plagas*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 24. 2005. *Directrices para la determinación y el reconocimiento de la equivalencia de las medidas fitosanitarias*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 26. 2006. *Establecimiento de áreas libres de plagas para moscas de la fruta (Tephritidae)*. Roma, CIPF, FAO.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios que se utilizan en la presente norma figuran en la NIMF 5 (*Glosario de términos fitosanitarios*).

Perfil de los requisitos

Para el desarrollo de un enfoque de sistemas para moscas de la fruta (ES-MF), debería considerarse la relación entre hospedante, especie objetivo de moscas de la fruta y área de producción de las frutas y hortalizas hospedantes¹. Las opciones para las medidas de manejo del riesgo de plagas deberían determinarse mediante un análisis de riesgo de plagas (ARP).

Un ES-MF incluye al menos dos medidas independientes, las cuales podrán aplicarse a través de varias etapas del proceso, específicamente durante el período de crecimiento y cosecha, poscosecha y transporte, y la entrada y distribución dentro del país importador. Un ES-MF podrá desarrollarse en un área de baja prevalencia de plagas o en ausencia temporal o localizada de ~~plagas para las~~ especies objetivo de moscas de la fruta en combinación con otras medidas (tales como la selección de hospedantes menos susceptibles, prácticas de manejo del cultivo o manipulación manejo poscosecha) para reducir el riesgo de plagas con el fin de cumplir los requisitos fitosanitarios del país importador.

Para el desarrollo, la implementación y verificación de un ES-MF, es necesario contar con procedimientos operativos. La organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) del país exportador debería asegurar y verificar la conformidad con estos procedimientos. Los procedimientos

¹ En adelante, se hace referencia a frutas y hortalizas como frutas.

deberían monitorearse durante la implementación y, en caso de no conformidad, deberían tomarse acciones correctivas.

El desarrollo, la implementación y verificación de un ES-MF debería documentarse en forma adecuada, y la documentación debería ser revisada y actualizada, cuando sea necesario, por la ONPF del país exportador.

ANTECEDENTES

Muchas especies de moscas de la fruta de la familia Tephritidae son plagas de importancia económica y su introducción puede representar un riesgo de plaga. Para identificar y manejar el riesgo de la especie objetivo de moscas de la fruta, la ONPF del país importador debería realizar un ARP y podrán aplicarse medidas fitosanitarias (NIMF 2:2007, NIMF 11:2004).

Los enfoques de sistemas se han desarrollado como medidas de manejo de riesgos de plagas en situaciones cuando una medida única no está disponible o es impracticable, o en los casos en que un enfoque de sistemas es más eficaz en función del costo que la medida única que está disponible. La decisión de aplicar un ~~programa específico de~~ ES-MF específico depende de la relación particular entre la fruta hospedante, las especies objetivo de mosca de la fruta y el área especificada de producción de fruta ~~especificada~~.

Un enfoque de sistemas requiere una combinación de por lo menos dos medidas que sean independientes entre sí, y podrá incluir cualquier número de medidas que sean dependientes entre sí (NIMF 14:2002). Los tratamientos utilizados en un ES-MF son aquellos que no se consideran lo suficientemente eficaces para aplicarse como una medida única. Las medidas podrán aplicarse en diferentes lugares, en momentos distintos y por lo tanto, ~~pueden~~ podrán comprender una serie de organizaciones y personas.

Con frecuencia, los países han utilizado medidas fitosanitarias tales como tratamientos o áreas libres de plagas para moscas de la fruta (ALP-MF) (NIMF 26:2006) para apoyar la importación o movilización de frutas hospedantes. En otros casos, se ha aplicado la prohibición. Un ES-MF puede podrá ser una alternativa para facilitar la exportación y movilización de hospedantes de moscas de la fruta en áreas en peligro. Las ONPF podrán reconocer los ES-MF como equivalentes a las medidas únicas. El país exportador podrá solicitar la aprobación formal de la equivalencia de esas medidas con las del país de importación. En los casos en los que se ha implementado un ES-MF eficaz, otros países importadores y exportadores podrán utilizar los componentes de esos sistemas para facilitar la movilización de frutas desde áreas con condiciones similares.

Un ES-MF puede aplicarse en un área de producción de fruta tan pequeña como un sitio de producción o tan grande como un país.

REQUISITOS

1. Decisión de implementar un ES-MF

Es responsabilidad del país importador establecer y comunicar sus requisitos fitosanitarios de importación técnicamente justificados. Una combinación de medidas ~~integradas~~ de manejo de riesgo de plagas integradas dentro de un ES-MF es una de las opciones que el país importador puede podrá seleccionar como la base de para los requisitos fitosanitarios de importación (NIMF 14:2002).

El desarrollo de un ES-MF es responsabilidad de la ONPF del país exportador. Un ES-MF podrá desarrollarse e implementarse en casos cuando:

- (1) El país importador, en sus requisitos fitosanitarios de importación, especifica un enfoque de sistemas que ha de utilizarse en el país exportador.
- (2) El país importador no ~~exige requiere~~ explícitamente un enfoque de sistemas, pero la ONPF del país exportador considera que un enfoque de sistemas es un enfoque adecuado y eficaz para cumplir los requisitos fitosanitarios de importación del país importador. El país exportador

podrá tener que negociar la aprobación formal de la equivalencia de las medidas con el país importador (NIMF 24:2005).

Un ES-MF debería contar con la combinación apropiada de medidas ~~y estas deberían para asegurar alcanzar~~ el nivel adecuado de protección. ~~Tendrán. Éstas deberían que~~ ser científicamente sólidas y seleccionarse para cumplir con los requisitos fitosanitarios de importación. Los aspectos de viabilidad operativa incluyen la eficacia en función del costo de las medidas que han de aplicarse ~~mientras se busca buscando al mismo tiempo~~ imponer las medidas menos restrictivas necesarias para el manejo del riesgo de las especies objetivo de moscas de la fruta.

La ONPF del país exportador debería definir el área de producción de fruta propuesta para la implementación de un ES-MF y aprobar los productores que han de participar.

~~En Podrá ser recomendable que en~~ el desarrollo de un ES-MF ~~podrá ser recomendable que~~ las ONPF ~~hagan parte~~ ~~involucren~~ a otras partes interesadas (NIMF 2:2007).

La información básica requerida para el desarrollo de un ES-MF incluye lo siguiente:

- El hospedante debería identificarse ~~hasta el~~ nivel de especie. En ciertos casos, cuando el riesgo cambia con la variedad (por ejemplo debido a las variaciones de tolerancia variable a la infestación), los hospedantes deberían identificarse al nivel de variedad.
- ~~Es pertinente la~~La etapa de maduración de la fruta que se examina es pertinente (por ejemplo, las bananas- fisiológicamente ~~maduraz~~ maduras se reconocen como hospedantes no adecuados ~~para de~~ moscas de la fruta).
- Deberían estar disponibles los datos de las especies objetivo de moscas de la fruta que estén asociadas con el hospedante (tales como el nombre científico, la incidencia de la plaga y su fluctuación y la preferencia de hospedantes).
- El área de producción de fruta definida para la implementación ~~del de un~~ ES-MF debería describirse y documentarse en forma adecuada prestando atención particular a la distribución de los hospedantes en áreas comerciales así como en las áreas no comerciales, cuando sea apropiado.

En la práctica, los ES-MF podrán aplicarse a uno o más hospedantes o especies objetivo de moscas de la fruta en la misma área de producción de fruta.

2. Desarrollo de un ES-MF

Las medidas podrán aplicarse en distintas etapas desde la producción de la fruta en el país exportador hasta la distribución en el país importador. La ONPF del país importador también podrá implementar una o más medidas a la llegada del envío. Las medidas aplicadas en las diferentes etapas para prevenir la infestación de moscas de la fruta podrán incluir:

~~Previa a plantar~~ plantación

- selección de sitios ~~para plantar de plantación~~ con niveles bajos de incidencia de plagas de la especie objetivo de mosca de la fruta (por ejemplo, áreas de baja prevalencia de plagas, áreas inadecuadas debido a su ubicación geográfica, altitud, clima)
- selección de especies o variedades ~~resist~~ de frutas ~~entes o~~ menos susceptibles
- saneamiento
- manejo de otros hospedantes diferentes al cultivo
- cultivo intercalado con plantas no hospedantes de moscas de la fruta
- cultivo de la fruta hospedante durante períodos específicos cuando la incidencia de plaga de las especies objetivo de moscas de la fruta es baja o temporalmente ausente.

Período de crecimiento

- control de la floración y ~~tiempos~~ los momentos de producción de fruta

- control químico tal como tratamientos de cebo insecticida, estaciones de cebado, técnica de aniquilación ~~de~~ machos y control biológico tal como enemigos naturales
- mecanismos de protección física (por ejemplo, embolsado de fruta, estructuras protegidas contra moscas de la fruta)
- técnica del insecto estéril
- trampeo masivo
- manejo de hospedantes no comerciales dentro del área de producción (por ejemplo, eliminación o reemplazo de otras plantas hospedantes por plantas no hospedantes, cuando sea apropiado)
- monitoreo y encuesta de las especies objetivo de moscas de la fruta, por ejemplo, uso de trampas o muestreo de frutas
- saneamiento (por ejemplo, recolección, eliminación y disposición adecuada de las frutas caídas ~~del huerto~~ o eliminación de la fruta madura del árbol)
- arrancado de frutas.

Cosecha

- cosecha en una etapa específica del desarrollo de la fruta o en una época del año
- actividades de salvaguarda para prevenir infestaciones en la cosecha
- vigilancia incluyendo corte de fruta
- saneamiento (por ejemplo, remoción y eliminación segura de las frutas caídas).

Poscosecha y manipulación

- actividades de salvaguarda para prevenir la infestación, por ejemplo, enfriamiento de la fruta, transporte refrigerado, procesamiento en cuartos de empaque protegidos con malla, depósitos y medios de transportes, utilización de almacenamiento en frío, envoltura de fruta
- monitoreo de la ausencia de la especie objetivo de mosca de la fruta mediante trampeo en el lugar de empaque y en ~~torno a él~~ sus alrededores
- saneamiento (por ejemplo, eliminación de la fruta con signos de infestación [descarte] en el lugar de empaque)
- muestreo, inspección (por ejemplo, a través del corte de frutas) o prueba
- tratamientos que no se consideran suficientemente eficaces como medida única
- requisitos de empaque (por ejemplo, uso de envases a prueba de insectos)
- aseguramiento de la rastreabilidad de los lotes

Transporte y distribución

- actividades de salvaguarda para prevenir la infestación por ~~ones~~ especies objetivo de moscas de la fruta
- tratamientos que no se consideran suficientemente eficaces como medida única (antes, durante o después del transporte)
- distribución limitada geográfica o temporalmente a áreas o períodos en que donde las especies objetivo de moscas de la fruta no pueden establecerse o no están presentes los hospedantes apropiados.

Medidas aplicadas a algunas etapas o a todas

- programas de concientización de la comunidad para generar apoyo del público
- control de la movilización de frutas hospedantes y otras vías hacia el área (por ejemplo, requisitos para ~~los~~ sitios de producción o islas).

3. Documentación y mantenimiento de registros

La ONPF del país exportador debería documentar y registrar en forma adecuada el desarrollo, la implementación y verificación de un ES-MF. Deberían especificarse y documentarse las funciones y responsabilidades de la ONPF de los países exportador e importador. La documentación y los registros deberían revisarse y actualizarse regularmente, mantenerse por lo menos durante 24 meses y, de solicitarse, ponerse a disposición de la ONPF del país importador.

La documentación podrá incluir:

- requisitos fitosanitarios de importación y, si está disponible, un informe del análisis de riesgo de plagas
- determinación-identificación y descripción de las medidas para reducir el riesgo
- descripción de los requisitos para los procedimientos operativos de un ES-MF
- descripción del área prevista para un ES-MF
- descripción de la fruta hospedante que ha de a exportarse y la especie objetivo de moscas de la fruta
- detalles de las organizaciones participantes, sus funciones, responsabilidades y vinculaciones, incluyendo por ejemplo:
 - . registro de las organizaciones o partes interesadas participantes
 - . acuerdo de cooperación en los procedimientos de vigilancia y control
 - . conformidad con los requisitos del ES-MF (origen de la fruta, movilización desde el lugar de producción, selección y empaque de la fruta, transporte y salvaguarda de la fruta)
 - . acuerdo para adoptar las medidas acciones correctivas apropiadas.
 - . mantenimiento de registros y ponerlos a disposición
- programas de vigilancia y control de plagas
- resultados de encuestas
- programas de capacitación para los operadores participantes en la aplicación del ES-MF
- procedimientos de rastreabilidad
- bases técnicas de procedimientos específicos
- metodología de encuesta, detección y diagnóstico
- descripción de las acciones correctivas y registros de seguimiento
- revisiones de la implementación de un ES-MF
- planes de contingencia

4. Verificación

Las medidas en un ES-MF deberían implementarse en conformidad con los procedimientos aprobados oficialmente y deberían ser monitoreados por la ONPF del país exportador ~~debería monitorearlas~~ para asegurar que el sistema alcanza sus objetivos.

La ONPF del país exportador tiene la responsabilidad de monitorear la implementación y la eficacia de todas las etapas de un ES-MF. En los casos en que los procedimientos operativos de un ES-MF se ~~implementaron~~ hayan implementado correctamente, pero uno o más de los componentes no ~~proporcionaron~~ hayan proporcionado ~~el un~~ manejo del riesgo de plagas suficiente para brindar la efectividad requerida en todas las etapas, se debería llevar a cabo una revisión del ES-MF para asegurar el cumplimiento de los requisitos fitosanitarios de importación. Esta revisión podrá no implicar necesariamente la suspensión del comercio. Podrá no ser necesario verificar nuevamente otros componentes de un ES-MF. La frecuencia de la verificación debería estar influenciada por el diseño del EF-MF

La ONPF del país importador podrá auditar al ES-MF mediante acuerdo con la ONPF del país exportador.

5. Nivel de tolerancia

En muchos casos, las bases para ~~desarrollar el desarrollo de~~ un ES-MF podrá ser que la incidencia de la especie objetivo de moscas de la fruta se mantiene ~~a en el mismo o por debajo del un~~ nivel de tolerancia ~~nivel de tolerancia o por debajo del mismo o por debajo de este nivel~~ (en relación con las moscas de la fruta, el término “nivel especificado de población de plaga” se ha utilizado en ocasiones en vez de “nivel de tolerancia”) especificado por la ONPF del país importador en el área definida, por ejemplo un área de baja prevalencia de plagas (ABPP). Esto podrá ser como resultado de una incidencia naturalmente baja de especies objetivo de moscas de la fruta o como resultado de la implementación de medidas de control.

Se ~~puede podrá~~ requerir la evidencia que justifique que la incidencia de la especie objetivo de moscas de la fruta se mantiene en el nivel de tolerancia especificado o por debajo de éste y, de ser así, se debería obtener como resultado del trapeo y muestreo de frutas. La vigilancia de la incidencia de la especie objetivo de moscas de la fruta podrá llevarse a cabo no sólo durante el período de crecimiento de la fruta hospedante sino también durante los períodos de no crecimiento.

6. No conformidad e incumplimiento

La no conformidad comprende la implementación incorrecta o el fracaso del ES-MF. En tales casos, la ONPF del país exportador podrá suspender el comercio del componente no conforme del ES-MF hasta que se hayan tomado acciones correctivas para abordar la no conformidad. La no conformidad podrá ocurrir en una o más de las etapas del ES-MF. Es importante identificar en qué etapa ha ocurrido la no conformidad.

La ONPF del país exportador debería notificar a la ONPF del país importador ~~de cualquier no~~ conformidad que pueda haber afectado a un envío o a una certificación fitosanitaria.

La ONPF del país importador debería notificar todo incumplimiento a la ONPF del país importador (véase la NIMF 13:2001).



NIMF 36

**NORMAS INTERNACIONALES
PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS**

NIMF 36

**MEDIDAS INTEGRADAS PARA ~~LAS~~
PLANTAS PARA PLANTAR**

(2012)

Producido por la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma

Este historia de la publicación se refiere sólo a la versión española. Para la historia completa de la publicación, consulte la versión en inglés de la norma

La CMF-7 (2012) adoptó la NIMF [3536](#)

NIMF 36. 2012. *Medidas integradas para ~~las~~ plantas para plantar.* Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: junio [de](#) 2012

Índice

INTRODUCCIÓN	36-5
Ámbito.....	36-5
Referencias	36-5
Definiciones	36-5
Perfil de los requisitos	36-5
ANTEDECENTES	36-6
REQUISITOS.....	36-6
1. Bases para la reglamentación.....	36-6
2. Medidas integradas.....	36-7
2.1 Medidas integradas generales.....	36-7
2.1.1 Aprobación de lugares de producción.....	36-7
2.1.2 Requisitos para el lugar de producción	36-8
2.2 Medidas integradas adicionales en situaciones de mayor riesgo de plagas.....	36-8
2.2.1 Requisitos para el lugar de producción en situaciones de mayor riesgo de plagas	36-8
2.2.1.1 Manual del lugar de producción.....	36-8
2.2.1.2 Programa de manejo de plagas.....	36-9
2.2.1.3 Especialista en protección vegetal.....	36-10
2.2.1.4 Capacitación del personal.....	36-11
2.2.1.5 Examen del material vegetal	36-11
2.2.1.6 Embalaje y transporte.....	36-11
2.2.1.7 Auditorías internas	36-11
2.2.1.8 Registros.....	36-11
2.3 No conformidad de los requisitos del lugar de producción.....	36-12
3. Responsabilidades de la ONPF del país exportador	36-13
3.1 Establecimiento de medidas integradas.....	36-13
3.2 Aprobación de los lugares de producción	36-13
3.3 Supervisión de lugares de producción aprobados	36-14
3.4 Inspecciones de exportación y expedición de certificados fitosanitarios.....	36-14
3.5 Suministro de información.....	36-14
4 Responsabilidades de la ONPF del país importador.....	36-14
4.1 Auditoría	36-14
ANEXO 1: Factores que afectan al riesgo de plagas de las plantas para plantar	36-16
APÉNDICE 1: Ejemplos de medidas de manejo de plagas para disminuir el riesgo de plagas de las plantas para plantar en un lugar de producción	36-18
APÉNDICE 2: Ejemplos de no conformidad.....	36-21

Adopción

La Comisión de Medidas Fitosanitarias adoptó esta norma en su séptima reunión, celebrada en marzo de 2012.

INTRODUCCIÓN

Ámbito

Esta norma ~~esboza~~ describe los criterios principales para la identificación y aplicación de ~~las~~ medidas integradas en el lugar de producción para la producción de plantas para plantar (excluyendo las semillas) destinadas al comercio internacional. La norma brinda orientación para ayudar a identificar y manejar los riesgos de plagas asociados con las plantas para plantar como vías.

Referencias

NIMF 2. 2007. *Marco para el análisis de riesgo de plagas*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 5. *Glosario de términos fitosanitarios*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 11. 2004. *Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias, incluido el análisis de riesgos ambientales y organismos vivos modificados*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 12. 2001. *Certificados fitosanitarios*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 13. 2001. *Directrices para la notificación del incumplimiento y acción de emergencia*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 17. 2002. *Notificación de plagas*. Roma, CIPF, FAO.

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

NIMF 21. 2004. *Análisis de riesgo de plagas para plagas no cuarentenarias reglamentadas*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 24. 2005. *Directrices para la determinación y el reconocimiento de la equivalencia de las medidas fitosanitarias*. Roma, CIPF, FAO.

NIMF 32. 2009. *Categorización de productos según su riesgo de plagas*. Roma, CIPF, FAO.

Definiciones

Las definiciones de los términos fitosanitarios que se utilizan en la presente norma pueden encontrarse en la NIMF 5 (Glosario de términos fitosanitarios).

Perfil de los requisitos

Por lo general se considera que las plantas para plantar representan un ~~mayor~~ riesgo ~~de plagas~~ ~~mayor~~ ~~de plagas~~ que otros artículos reglamentados. Las medidas integradas podrán ~~aplicarse~~ ~~usarse~~ ~~con el fin~~ ~~de~~ ~~para~~ manejar los riesgos de plagas que las plantas para plantar presentan como una vía para las plagas reglamentadas y para asegurar que cumplen con los requisitos fitosanitarios de importación. El uso de medidas integradas supone la participación de las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF) así como de los productores¹ y se fundamenta en las medidas de manejo del riesgo de plagas que se aplican a través de los procesos de producción y distribución.

Las medidas integradas podrán ser desarrolladas e implementadas por la ONPF del país exportador. Las medidas integradas generales podrán incluir requisitos tales como mantener un plan del lugar de producción, examinar las plantas, mantener ~~los~~ registros, someter las plagas a tratamientos y establecer requisitos de saneamiento. Cuando ~~este~~ se justifique, podrán requerirse elementos adicionales tales

¹ De aquí en adelante, el término productor se referirá a productor de plantas para plantar en el lugar de producción.

como un manual del lugar de producción incluyendo un programa de manejo de plagas, una capacitación apropiada para el personal, requisitos específicos de embalaje y transporte, así como auditorías internas y externas.

La ONPF del país exportador debería aprobar y supervisar los lugares de producción que usan las medidas integradas y ~~emitir expedir~~ certificados fitosanitarios que avalen que el envío cumple con los requisitos fitosanitarios del país importador.

ANTEDECENTES

Varias NIMF brindan orientación general sobre manejo del riesgo de plagas (por ejemplo, ~~las~~ NIMF 2:2007, NIMF 11:2004, NIMF 21:2004, NIMF 32:2009). Las conclusiones de los análisis de riesgo de plagas (ARP) deberían utilizarse para decidir las medidas fitosanitarias ~~que disminuirán~~ dirigidas a ~~reducir~~ el riesgo de plagas a un nivel aceptable para el país importador.

Por lo general se considera que las plantas para plantar representan un riesgo ~~mayor~~ de plagas ~~mayor~~ que otros artículos reglamentados y por lo tanto se necesita orientación específica adicional para ayudar a abordar ese ~~mayor riesgo~~ ~~mayor de plagas~~.

Las medidas integradas podrán utilizarse en los lugares de producción para manejar el riesgo de plagas reglamentadas, especialmente aquellas que son difíciles de detectar durante las inspecciones de importación o exportación, debido a que:

- algunas plagas no causan síntomas distinguibles visualmente, especialmente cuando la incidencia de la plaga es baja
- los síntomas de infestación podrán ser latentes o estar enmascarados al momento de la inspección (por ejemplo, ~~a raíz como resultado~~ del uso de plaguicidas, desequilibrios nutricionales, estado ~~latente de latencia~~ de las plantas al momento del envío, presencia de otras plagas no reglamentadas, o ~~por la~~ eliminación de hojas sintomáticas)
- los insectos pequeños o los huevos ~~pueden podrán estar hallarse~~ ocultos, ~~por ejemplo~~, bajo la corteza o las escamas de las yemas, ~~etc~~
- el tipo de embalaje, tamaño y la condición física del envío pueden influir en la efectividad de la inspección
- pueden no estar disponibles métodos de detección para muchas plagas, especialmente patógenos.

La aplicación de medidas integradas para el manejo del riesgo de plagas requiere no solo la participación de la ONPF del país exportador sino también la participación de los productores a través de todas las etapas de producción de las plantas para plantar.

Las medidas integradas se diseñan para manejar los riesgos relacionados con plagas reglamentadas, y tienen además la ventaja de manejar otras plagas en el lugar de producción.

Se espera que ~~la esta~~ norma contribuya a la protección de la biodiversidad y del medio ambiente a través del establecimiento de directrices para el uso de medidas integradas que contribuirán a minimizar la dispersión internacional de plagas.

REQUISITOS

1. Bases para la reglamentación

El país importador podrá establecer, y ~~comunicará deberá comunicar~~, sus requisitos fitosanitarios de importación técnicamente justificados para plantas para plantar (véase la NIMF 2:2007, NIMF 11:2004 y NIMF 21:2004). El Anexo 1 ~~esboza describe~~ los factores que han de tenerse en cuenta cuando la ONPF del país importador lleva a cabo un ARP de plantas para plantar.

La ONPF del país exportador debería desarrollar y establecer medidas que cumplan con los requisitos fitosanitarios de importación. Las medidas integradas podrán desarrollarse y establecerse según en dos casos diferentes tal ~~y~~ como se muestra a continuación:

- El país importador, en sus requisitos fitosanitarios de importación, especifica medidas integradas que se han de utilizar en el país exportador.
- El país importador no requiere explícitamente usar medidas integradas, pero la ONPF del país exportador considera que ~~usar el uso de~~ medidas integradas sería un medio adecuado y efectivo de cumplir con los requisitos fitosanitarios de importación del país importador y, por lo tanto, decide especificar las medidas integradas que han de aplicar los productores que deseen exportar plantas para plantar a ese país importador en particular.

Si en este último caso la ONPF del país exportador considera que las “medidas integradas” que ha implementado son equivalentes a los requisitos fitosanitarios de importación de un país importador, el país exportador debería buscar una aprobación formal de equivalencia de esas medidas con el país importador (NIMF 24:2005).

Un productor que desee participar en el uso de medidas integradas, con el fin de reunir las condiciones para exportar plantas para plantar a determinados países, debería buscar la aprobación de su ONPF. Posteriormente, la ONPF del país exportador podrá aprobar a los productores que se ajusten a los requisitos para las medidas integradas ~~que ella ha establecido~~ establecidos por dicha ONPF.

2. Medidas integradas

Esta norma describe dos niveles principales de medidas integradas. El apartado 2.1 (Medidas integradas generales) describe una serie de medidas integradas que ~~pueden~~ podrán aplicarse ampliamente a todas las plantas para plantar. El apartado 2.2 (Medidas integradas adicionales en situaciones de mayor riesgo de plagas) describe elementos adicionales diseñados para manejar los riesgos de plagas en situaciones de mayor riesgo de plagas. Podrá no ser necesario requerir todos estos elementos. Además, para ciertos sistemas de producción, no todos los elementos podrán aplicarse (por ejemplo, barreras físicas para plantas cultivadas en el campo). Por lo tanto, solo podrán ser apropiados algunos de los elementos descritos en el apartado 2.2. Las ONPF podrán considerar estas opciones además de las inspecciones antes de la exportación o en el ~~punto~~ puerto de entrada con el fin de manejar los riesgos de plagas.

2.1 Medidas integradas generales

La ONPF del país exportador podrá aprobar un lugar de producción que cumpla con los requisitos sobre las medidas integradas generales que se describen a continuación.

2.1.1 Aprobación de lugares de producción

Las siguientes condiciones deberían incluirse en el proceso de aprobación para los productores que deseen utilizar las medidas integradas generales:

- mantenimiento de un plan actualizado del lugar de producción así como el mantenimiento de registros de cuándo, dónde y cómo las plantas para plantar se produjeron, sometieron a tratamiento, almacenaron o prepararon para la movilización desde el lugar de producción (incluyendo información sobre todas las especies de plantas en el lugar de producción y el tipo de material vegetal tales como esquejes, cultivos in vitro, plantas a raíz desnuda)
- ~~mantener~~ mantenimiento de registros; durante ~~el un~~ período ~~que determine~~ determinado por la ONPF del país exportador ~~los registros~~ que verifiquen dónde y cómo las plantas para plantar se compraron, almacenaron, produjeron y distribuyeron, además de cualquier otra información pertinente ~~de sobre~~ su ~~estado~~ condición fitosanitaria~~e~~.
- tener acceso a ~~una persona un~~ especialista en protección ~~de plantas vegetal~~ con conocimiento de trabajo bien establecido sobre identificación y control de plagas.
- designación de una persona de contacto para la comunicación con la ONPF del país exportador

2.1.2 Requisitos para el lugar de producción

Los siguientes requisitos podrán ser adecuados para la aprobación de lugares de producción que utilicen medidas integradas generales:

- de ser necesario, realizar exámenes de plantas y lugares de producción por el personal designado en ~~las-los fechas-momentos~~ apropiados y de acuerdo con la información y los protocolos proporcionados por la ONPF del país exportador
- mantener registros de todos los exámenes, ~~incluida-incluyendo~~ una descripción de las plagas ~~que se encontraron-encontradas~~ y las acciones correctivas que se aplicaron
- tomar medidas específicas cuando sea necesario (por ejemplo, mantener las plantas libres de plagas reglamentadas en el país de importación) y documentar esas medidas
- notificar a la ONPF del país exportador si se ha observado cualquiera de las plagas reglamentadas en el país de importación
- establecer y documentar un sistema de sanidad e higiene.

La Tabla 1 del Apéndice 1 proporciona ejemplos específicos de medidas de manejo de plagas en relación con las características de los grupos de plagas que ~~se aplican-son aplicables a para~~ la mayoría de los tipos de plantas para plantar en los lugares de producción.

La Tabla 2 del Apéndice 1 proporciona ejemplos de las posibles medidas de manejo de plagas que las ONPF podrán ~~exigir-requerir~~ para los diferentes tipos de plantas para plantar y los distintos tipos o grupos de plagas asociadas a ellas. Los ejemplos describen las medidas usadas frecuentemente para ~~los~~ tipos importantes de plagas asociadas a tipos relevantes de plantas para plantar.

2.2 Medidas integradas adicionales en situaciones de mayor riesgo de plagas

Cuando las medidas integradas generales por sí ~~mismas-solas~~ no sean suficientes para manejar el riesgo de plaga, la ONPF del país exportador podrá aprobar un lugar de producción que cumpla con los requisitos de las medidas integradas adicionales en situaciones de mayor riesgo de plaga.

2.2.1 Requisitos para el lugar de producción en situaciones de mayor riesgo de plagas

La ONPF del país exportador debería ~~exigir-requerir~~ que los productores que soliciten la aprobación para usar medidas integradas adicionales en situaciones de mayor riesgo de plagas elaboren un manual del lugar de producción que describa el programa de manejo de plagas e incluya información pertinente sobre prácticas de producción y sistemas operativos. La ONPF del país exportador podrá aprobar el lugar de producción para exportar plantas específicas a un destino particular cuando haya determinado que las medidas integradas utilizadas cumplen con los requisitos fitosanitarios de importación de dicho país.

Los siguientes apartados proporcionan los elementos que el productor ha de documentar e implementar y que la ONPF del país exportador ha de auditar.

2.2.1.1 Manual del lugar de producción

El manual del lugar de producción debería describir todos los requisitos, elementos, procesos y sistemas operativos que constituyen las medidas integradas para el manejo del riesgo de plagas de las plantas para plantar. El productor debería elaborar, implementar y mantener el manual y la ONPF del país exportador debería aprobarlo². El manual o partes del mismo debería ser específico para determinadas especies de plantas o destinos. Si el manual se enmienda, debería someterse nuevamente a la aprobación de la ONPF del país exportador.

² Cuando esté disponible, se podrá presentar a la ONPF un sistema de manejo de calidad documentado, para su consideración.

El manual del lugar de producción podrá incluir los siguientes elementos:

- una descripción de la estructura ~~de la organización~~ organizativa y de las responsabilidades del personal pertinente, incluyendo el nombre de la persona designada como responsable del rendimiento técnico del lugar de producción y del especialista en protección vegetal (véase el apartado 2.2.1.3) (cualquiera de estos miembros del personal podrá servir de punto de contacto entre la ONPF y el productor, y debería notificar a la ONPF del país exportador acerca de la detección de plagas reglamentadas en el país de importación)
- un plan y una descripción del lugar de producción, que se mantenga actualizado y que registre cuándo, dónde y cómo se producen, someten a tratamiento, almacenan o preparan las distintas especies y tipos de plantas para plantar para la movilización desde el lugar de producción (incluyendo información sobre especies de plantas, origen del material vegetal y tipo de material vegetal tales como esquejes, cultivos *in vitro*, plantas a raíz desnuda)
- un programa de manejo de plagas (véase el apartado 2.2.1.2)
- una descripción de los lugares de envío y recibo dentro del lugar de producción
- procedimientos de manipulación para el material vegetal que ingresa, incluyendo los procedimientos para asegurar la ~~segregación~~ separación del material vegetal que ingresa, del material que ya está en el sitio
- una descripción de las actividades ~~que han sido~~ subcontratadas y del proceso de aprobación
- una descripción de los procedimientos de documentación para mantener la evidencia de la fuente y el origen del material de propagación
- una descripción de la forma en que se realizarán las auditorías internas, incluyendo la frecuencia y el personal ~~encargado~~ responsable
- procedimientos para notificar a la ONPF del país exportador la detección de una plaga reglamentada en el país de importación
- procedimientos para retirar las plantas cuando se detecta una no conformidad, de ser apropiado
- procedimientos para los visitantes

2.2.1.2 Programa de manejo de plagas

El programa de manejo de plagas, incluido en el manual del lugar de producción, debería describir los procedimientos o procesos aprobados por la ONPF del país exportador y debería estar diseñado ~~bien~~ tanto para prevenir infestaciones ~~o como~~ para el control de plagas. Debería incluir una descripción de los requisitos fitosanitarios de importación de los países importadores para cada una de las especies de plantas y cada tipo de material vegetal. La Tabla 2 del Apéndice 1 proporciona ejemplos de posibles medidas que las ONPF podrán requerir para los diferentes tipos de plantas para plantar y para los diferentes tipos o grupos de plagas asociadas a ellas.

El programa de manejo de plagas debería incluir los siguientes elementos:

- saneamiento e higiene— contribuyendo a prevenir la introducción de plagas al lugar de producción y minimizando la dispersión dentro de un lugar de producción, por ejemplo:
 - . eliminación ~~frecuente~~ regular de plantas infestadas y ~~desechos de plantas~~ restos vegetales
 - . desinfección de herramientas y equipo
 - . eliminación de malezas y material vegetal que no sea ~~para el~~ cultivo
 - . tratamiento del agua
 - . manejo del agua superficial
 - . higiene personal (por ejemplo, lavado de manos, pediluvios, overoles o ~~mandiles~~ delantales)
 - . acceso limitado
 - . rutinas para el uso del material de embalaje y de las instalaciones de embalaje.

- control de plagas— productos, procedimientos y medidas (véase el Apéndice 1) para prevenir o ~~brindar~~ aplicar tratamiento a las plagas, tales como:
 - . barreras físicas (por ejemplo, mallas, dobles puertas)
 - . desinfección del medio de ~~crecimiento~~ cultivo y de los recipientes usados para el crecimiento de las plantas
 - . aplicaciones de productos para protección de cultivos (por ejemplo, químico, biológico)
 - . eliminación de plantas infestadas
 - . trampeo masivo tanto para las plagas de interés como para los posibles vectores
 - . control de clima
 - . tratamiento con agua caliente o calor
 - . cualquier otro tratamiento ~~de eficacia probada~~ probado para ~~el control de~~ controlar la plaga ~~en cuestión~~ de interés
- manipulación del material vegetal que ingresa— métodos y documentación para manejar los riesgos de plagas asociados con el material vegetal que ingresa, con descripciones de:
 - . medidas para asegurar que todas las plantas para plantar que entran al lugar de producción están libres de plagas reglamentadas por los países importadores, ~~libres~~ de posibles vectores de las plagas y prácticamente libres de otras plagas
 - . procedimientos ~~que se han de a~~ seguir si se detectan plagas o posibles vectores ~~de estas~~
 - . registros que han de mantenerse, incluyendo la fecha, el nombre de la persona que realiza el examen, cualquier plaga (incluidos los posibles vectores), daño o síntomas ~~que se han encontrados~~ y cualquier acción correctiva que se haya tomado
- examen del material vegetal (véase el apartado 2.2.1.5) y de los sitios de producción— métodos, frecuencia e intensidad que se utiliza para examinar todo el material vegetal en el lugar de producción (por ejemplo, mediante examen visual, muestreo, pruebas y trampeo), incluyendo detalles de cualquier laboratorio utilizado para identificar las plagas encontradas así como ~~de~~ los métodos utilizados
- examen de plantas para plantar ~~antes de~~ previo a la exportación ~~exportarlas~~ — métodos, frecuencia e intensidad ~~que se utiliza~~ dos para examinar las plantas al momento de preparar las exportaciones
- identificación y manejo de las plantas infestadas, con descripciones de:
 - . la forma en que una planta infestada será identificada y sometida a tratamiento
 - . medidas para asegurar que no se exporten plantas que no cumplan los requisitos fitosanitarios de importación establecidos por los países importadores
 - . eliminación de material vegetal ~~retirado~~ removido de tal forma que prevenga ~~la~~ acumulación el incremento y dispersión de plagas
- mantenimiento de registros de la aplicación de productos para protección de cultivos y otras medidas de manejo de plagas.

2.2.1.3 Especialista en protección vegetal

La ONPF del país exportador debería ~~exigir~~ requerir a los productores que implementan medidas integradas adicionales en situaciones de mayor riesgo de plagas que utilicen un especialista con un conocimiento de trabajo bien establecido sobre identificación y control de plagas, ~~con el objetivo de~~ para asegurar que el saneamiento, el monitoreo de plagas y las medidas de control de plagas se implementen tal como se describen ~~está descrito~~ en el manual del lugar de producción. El especialista en protección vegetal ~~puede~~ podrá servir como persona de punto de contacto con los diagnosticadores que puedan necesitarse para la identificación de plagas.

2.2.1.4 Capacitación del personal

El personal debería capacitarse para detectar plagas, especialmente aquellas reglamentadas por el país importador, y para seguir un sistema formal de notificación que comunique la información sobre los hallazgos de plagas. La capacitación ~~también~~ debería incluir también métodos para manipular el material ~~con la intención de a fin de~~ reducir el riesgo de plagas.

2.2.1.5 Examen del material vegetal

~~Para detectar la presencia de plagas el~~ El personal designado debería examinar todo el material vegetal producido en un lugar de producción (incluyendo las plantas destinadas a mercados nacionales y otros sitios de producción) para detectar la presencia de plagas, según un calendario regular y de acuerdo a métodos establecidos, y deberían aplicarse acciones correctivas ~~aplicadas~~, en caso de ser necesario.

2.2.1.6 Embalaje y transporte

Las siguientes consideraciones se aplican a las operaciones de embalaje y transporte:

- El material vegetal debería embalsarse de ~~tal forma que prevenga~~ manera de prevenir la infestación ~~causada~~ por plagas reglamentadas.
- El material de embalaje debería estar limpio, libre de plagas y cumplir los requisitos fitosanitarios de importación.
- Los medios de transporte utilizados para movilizar el material vegetal desde el lugar de producción deberían examinarse y limpiarse según sea necesario antes de cargarlos.
- Cada lote de un envío debería estar identificado de tal modo que pueda rastrearse hasta el lugar de producción.

2.2.1.7 Auditorías internas

~~Las~~ Deberían realizarse auditorías internas ~~deberían realizarse~~ para asegurarse de que el productor cumple con lo prescrito en su manual. Las auditorías internas deberían enfocarse en si el manual y su implementación cumplen con los requisitos de las ONPF de los países exportadores e importadores. Por ejemplo, la auditoría interna podrá evaluar la competencia del personal para identificar y controlar plagas ~~y~~ desempeñar sus funciones y responsabilidades, y determinar si el mantenimiento de registros es adecuado para realizar un seguimiento ~~saber la trayectoria~~ del origen del material vegetal, las etiquetas, etc.

Las auditorías internas deberían ser realizadas por ~~realizarlas~~ personal que sea independiente de las personas directamente responsables de la actividad ~~de la auditoría auditada~~. Los resultados de las auditorías así como cualquier no conformidad (véase el apartado 2.3 y el Apéndice 2) deberían registrarse y presentarse al productor para su revisión. La acción correctiva en relación a cualquier caso de no conformidad que se descubra debería implementarse de manera inmediata, y ~~de forma~~ eficaz y documentada y debería documentarse.

Si la auditoría identifica cualquier caso de no conformidad crítico (véase apartado 2.3), el productor o auditor debería notificar inmediatamente a la ONPF del país exportador por escrito y asegurar que las plantas para plantar afectadas no se exportarán desde ese lugar de producción mientras hasta que no se rectifiquen todas las no conformidades críticas ~~situación crítica de no conformidad~~. Las acciones correctivas inmediatas deberían tomarse aplicarse bajo la supervisión de la ONPF del país exportador en forma inmediata.

2.2.1.8 Registros

Deberían mantenerse registros actualizados, los cuales deberían ponerse a disposición de la ONPF del país exportador y también, cuando ~~esto~~ se justifique, de la ONPF del país importador. El manual del lugar de producción debería identificar claramente las personas responsables de mantener varios registros, así como la ubicación y la manera en la que se mantienen esos registros. Los registros deberían mantenerse por el tiempo que determine la ONPF del país exportador. Los registros deberían

incluir la fecha, el nombre y la firma de la persona que realizó la tarea o preparó el documento. ~~Los~~ Ejemplos de los registros que podrán requerirse son los siguientes:

- certificados fitosanitarios y otro tipo de información (por ej., facturas) que corroboren el origen y la condición fitosanitaria del material vegetal que ingresa
- los resultados de la inspección del material vegetal que ingresa
- los resultados de las auditorías
- los registros del examen durante la producción incluido cualquier plaga, daño o síntomas detectados y las acciones correctivas que se tomaron
- los registros de medidas de manejo de plagas que se apliquen para prevenir o controlar plagas (incluido el método de aplicación, el producto aplicado, la dosis, la fecha de aplicación y, cuando proceda, la duración)
- los registros del examen del material vegetal que sale, incluido el tipo, la cantidad de material ~~que se ha~~ exportado y el nombre del país importador
- las copias de los certificados fitosanitarios para el material vegetal exportado por el productor
- los registros de casos de no conformidad identificados y las acciones correctivas o preventivas que se tomen
- los registros del personal responsable de aplicar medidas de manejo de plagas
- los registros de la capacitación del personal y sus calificaciones
- las copias de los formularios utilizados para los informes de auditoría interna y de las listas de verificación
- los registros necesarios para mantener la rastreabilidad y darle seguimiento a las plantas para plantar desde el lugar de producción

2.3 No conformidad ~~de los con los requisitos del~~ para el lugar de producción

Un caso de no conformidad es cualquier falla ~~en los de los~~ productos o procedimientos para adherirse a las medidas integradas establecidas por la ONPF del país exportador.

La ONPF del país exportador debería distinguir entre dos tipos ~~de casos~~ de no conformidad que se detallan a continuación, de acuerdo a la severidad de la no conformidad:

- ~~Los casos de N~~o conformidades críticas son incidentes que comprometen la eficacia de las medidas integradas utilizadas en el lugar de producción, o ~~que~~ aumentan el riesgo de infestación de las plantas para plantar.
- ~~Los casos de n~~o conformidades no críticas son incidentes que no comprometen de manera inmediata las medidas integradas ni aumentan el riesgo de infestación de las plantas para plantar en el lugar de producción.

~~Los casos de L~~as no conformidades ~~podrán pueden~~ detectarse durante las auditorías internas, las auditorías externas realizadas o administradas por la ONPF del país exportador, o como resultado de los exámenes del material vegetal.

Se debería retirar la aprobación al ~~Al~~ lugar de producción (o partes pertinentes del mismo) ~~se le debería retirar su aprobación~~ y suspender de inmediato las exportaciones ~~deberían suspenderse inmediatamente~~ si la ONPF del país exportador:

- encuentra un caso de no conformidad crítica
- identifica repetidamente casos de no conformidades no críticas
- identifica múltiples casos de no conformidades no críticas
- encuentra que el productor no ha llevado a cabo las acciones correctivas requeridas dentro del período de tiempo especificado
- recibe del país importador una notificación de intercepción de una plaga

El restablecimiento debería suceder solamente una vez que la acción correctiva se haya establecido y la auditoría realizada por la ONPF del país exportador haya confirmado que se han corregido los casos de no conformidad.

Las acciones correctivas podrán requerir un cambio a los requisitos y deberían incluir medidas para prevenir una reincidencia de las fallas identificadas.

En el Apéndice 2 se puede encontrar una lista de ejemplos ~~de casos~~ de no conformidad.

3. Responsabilidades de la ONPF del país exportador

La ONPF del país exportador es responsable de:

- comunicar a los productores los requisitos de los países importadores
- desarrollar y establecer los requisitos para las medidas integradas
- aprobar los lugares de producción que desean participar en la utilización de medidas integradas
- supervisar los lugares de producción aprobados
- realizar la certificación fitosanitaria para ~~atestiguar-avaluar~~ que todas las plantas ~~para plantar de producción~~ exportadas desde los lugares de producción aprobados cumplen los requisitos fitosanitarios de importación
- proporcionar información sobre las medidas integradas desarrolladas, a solicitud de la ONPF del país importador
- permitir y facilitar, cuando se justifique, visitas y auditorías llevadas a cabo por la ONPF del país importador de acuerdo al apartado 4.1
- proporcionar información adecuada acerca de brotes ~~relevantes~~ de plagas relevantes a la ONPF del país importador de acuerdo a la NIMF 17:2002.

3.1 Establecimiento de medidas integradas

Al desarrollar y establecer sus medidas integradas, la ONPF del país exportador debería especificar los requisitos que ha de cumplir el productor y los requisitos del país o de los países importadores. Además, deberían especificarse los requisitos de ~~la~~ documentación y comunicación del productor.

3.2 Aprobación de los lugares de producción

Los requisitos para la aprobación de los lugares de producción que cumplen con las medidas integradas generales se describen en el apartado 2.1.1.

Los requisitos para la aprobación de los lugares de producción que desean utilizar medidas integradas adicionales para las situaciones de mayor riesgo de plagas se describen en el apartado 2.2.1 y deberían basarse en lo siguiente:

- una auditoría inicial de la documentación en el lugar de producción (incluido el manual del ~~mismo lugar de producción~~) para verificar que cumple con los requisitos establecidos de acuerdo con los factores de riesgo de plagas de su producción
- una auditoría de implementación para verificar que:
 - . el productor cumple con los protocolos, procedimientos y las normas especificadas en ~~su~~ el manual de su lugar de producción
 - . la documentación de apoyo ~~necesaria-requerida~~ es suficiente, está actualizada y fácilmente accesible para el personal
 - . se mantienen los registros y documentos adecuados
 - . se realizan las auditorías internas y se completan las acciones correctivas

- . los procedimientos establecidos son adecuados para asegurar que cualquier problema con plagas se identifica rápidamente y que se aplican las acciones apropiadas para asegurar que se exportan solamente plantas que cumplen con los requisitos fitosanitarios de importación del país importador
 - . cualquier material vegetal dentro del lugar de producción ha permanecido libre de todas las plagas cuarentenarias o que la ONPF fue debidamente informada acerca de las infestaciones de las plagas cuarentenarias y que se tomaron las medidas apropiadas para asegurar que la plaga ha sido erradicada.
- el establecimiento ~~tal y como se requiere~~ de los procedimientos para cumplir con los niveles de tolerancia para las plagas no cuarentenarias reglamentadas, tal como se requiera.
- Tras-Después de la culminación exitosa de la auditoría de documentación e implementación, la ONPF del país exportador podrá aprobar el lugar de producción para exportar plantas para plantar específicas destinadas a países específicos.

3.3 Supervisión de lugares de producción aprobados

Después de la aprobación, la ONPF del país exportador debería supervisar el lugar de producción, en particular, mediante el monitoreo o la auditoría del sistema de producción y operativo. La frecuencia y el período del monitoreo o de la auditoría deberían determinarse de acuerdo a los riesgos de plagas, a los requisitos fitosanitarios de importación y al historial de conformidad del productor. El monitoreo o la auditoría deberían incluir la inspección, y cuando corresponda, pruebas a las plantas para plantar y la verificación de la documentación y de las prácticas de manejo en cuanto se relacionan con las medidas integradas relevantes.

3.4 Inspecciones de exportación y expedición de certificados fitosanitarios

Las medidas integradas podrán disminuir la necesidad de que la ONPF realice inspecciones durante la temporada de crecimiento y, podrán igualmente disminuir la frecuencia o intensidad de las inspecciones de exportación de los envíos de plantas para plantar. Debería expedirse un certificado fitosanitario conforme a lo establecido en la NIMF 12:2011.

3.5 Suministro de información

La ONPF del país exportador debería proporcionar información acerca de las medidas integradas que se están aplicando a la ONPF del país importador, si se requiere.

4 Responsabilidades de la ONPF del país importador

La ONPF del país importador tiene la responsabilidad de establecer y comunicar ~~los~~ requisitos fitosanitarios de importación ~~que estén~~ técnicamente justificados. Llevando a cabo-Para esto, la ONPF del país importador debería, previo a la importación, considerar los factores que afectan los al riesgos de plagas específicamente asociadosas a con las plantas para plantar (véase el Anexo 1). Los requisitos fitosanitarios de importación deberían ser coherentes-acordes con los riesgos de plagas identificados.

La ONPF del país importador debería notificar a la ONPF del país exportador cualquier caso de incumplimiento (véase la NIMF 13:2001) que se detecte a la importación o en una etapa posterior en el país importador ~~ya sea en el momento de la importación o en una fase posterior~~.

La ONPF del país importador podrá igualmente revisar el sistema de aprobación de los lugares de producción presentados por la ONPF del país exportador, y de ser apropiado, llevar a cabo auditorías. La ONPF del país importador debería proporcionar retroalimentación sobre los resultados de las revisiones, monitoreos y auditorías a la ONPF del país exportador.

4.1 Auditoría

La ONPF del país importador podrá solicitar a la ONPF del país exportador que proporcione informes sobre auditorías realizadas por el productor y por la ONPF del país exportador. Podrá igualmente

solicitar la auditoría de las medidas integradas tal como lo ha establecido y desarrollado el país exportador. Esta auditoría podrá consistir en la revisión de la documentación, inspección y prueba de plantas producidas utilizando medidas integradas y, cuando sea apropiado, visitas al sitio a modo de demostración de las medidas integradas utilizadas (véase la NIMF 20:2004), o bien visitas a lugares concretos, siempre que haya justificación específica, por ejemplo en casos de incumplimiento (NIMF 13:2001).

Este anexo es una parte prescriptiva de la norma

ANEXO 1: Factores que afectan al riesgo de plagas de las plantas para plantar

Factores relacionados con la planta que afectan al riesgo

Los factores iniciales de riesgo de plaga relacionados con la planta ~~que han de considerarse~~ considerar son la especie de planta, el cultivar y área de origen. Dentro de cualquier especie vegetal dada, existe un rango de riesgo de plaga asociado ~~al con el~~ tipo de material vegetal movilizado, incluyendo en términos generales lo clasificado a continuación de menor a mayor riesgo (reconociendo que el rango de esta clasificación podrá variar dependiendo de circunstancias específicas):

- (1) cultivo de meristemo
- (2) cultivo *in vitro*
- (3) portayema/injerto
- (4) esqueje ~~a raíz desnuda sin enraizar~~
- (5) esqueje enraizado
- (6) fragmentos de raíz, esquejes de raíz, raicillas, o rizomas
- (7) bulbos y tubérculos
- (8) plantas a raíz desnuda
- (9) plantas enraizadas en maceta

Adicionalmente, el riesgo de plagas ~~puede podrá~~ incrementarse con la edad de la planta, ~~de modo ya~~ que las plantas de mayor edad han tenido una mayor exposición a plagas potenciales.

Factores relacionados con la producción que afectan al riesgo de plagas

El modo de producción de las plantas para plantar puede influir en el nivel de riesgo de plagas. Estos factores podrán incluir:

- (1) medio de ~~erecimentocultivo~~
- (2) método de riego y fuente del agua
- (3) condiciones del crecimiento
- (4) la ~~combinación mezcla~~ de diferentes especies de plantas.

En general, ~~el uso de suelo como medio de cultivo entraña un~~ existe una mayor ~~probabilidad de~~ riesgo de plagas ~~usando el suelo como medio de crecimiento que utilizando el uso de~~ un medio libre de ~~el suelo~~, ya que ~~a través del suelo existe una mayor probabilidad de transmisión de~~ comporta una probabilidad mayor de transportar las plagas que el suelo transmite (tales como microorganismos, artrópodos, nematodos). ~~Parte del El~~ riesgo de plagas podrá manejarse mediante la esterilización, pasteurización u otros métodos efectivos ~~métodos~~ de tratamiento del medio de ~~erecimiento cultivo~~ previos a la plantación ~~tales como esterilización, pasteurización u otros métodos efectivos~~.

La fuente y la calidad del agua de riego pueden afectar al riesgo de plagas. Para ciertas plagas dispersadas a través del agua, el agua superficial podrá representar un mayor riesgo de plagas que el agua que ~~se ha sometido a tratamiento~~ sido tratada. Asimismo, el método de riego podrá producir microclimas o condiciones favorables para el desarrollo y dispersión de la plaga (por ejemplo, mayor en riego por aspersión que en riego por goteo).

A continuación se enumeran ejemplos de condiciones de ~~erecimiento cultivo~~ que podrán afectar al riesgo de plagas, clasificadas en términos generales, ~~es~~ de menor a mayor riesgo:

- (1) cámara de crecimiento
- (2) invernadero
- (3) invernadero de mallas

- (4) cultivo a campo abierto en recipientes (macetas, tubos, etc.)
- (5) cultivo a campo abierto
- (6) plantas silvestres recolectadas

Recintos tales como cámaras de crecimiento, invernaderos e invernaderos de mallas proporcionan ~~a menudo~~ usualmente un mejor control sobre el material vegetal y una mejor oportunidad para la exclusión de plagas que las plantas cultivadas a campo abierto. Las plantas cultivadas en recipientes con medios de cultivo esterilizados o cultivadas sobre membrana podrán proporcionar alguna protección de las plagas transmitidas a través del suelo. Los cultivos a campo abierto están sometidos generalmente a un control cultural y químico de ~~la~~ plagas. Las plantas silvestres no están protegidas de las plagas y potencialmente tienen un mayor riesgo de plagas. Del mismo modo, las plantas acuáticas producidas con o sin cualquier sustrato podrán conllevar un riesgo específico ~~en para~~ la transmisión de plagas. Los sistemas de producción podrán no encajar en las categorías especificadas ~~arriba anteriormente~~ y podrán estar compuestos de una combinación de varias condiciones de crecimiento (por ejemplo, plantas silvestres que han sido trasplantadas a recipientes para un ~~mayor~~ mayor crecimiento posterior en campo antes de la exportación). Los esquemas de certificación requieren combinaciones específicas de estos factores ~~e igualmente y~~ podrán proporcionar salvaguardas específicas.

Usos previstos que afectan al riesgo de plagas

Las plantas para plantar están clasificadas en la NIMF 32:2009 dentro de la categoría de productos de alto riesgo de plagas. Los diferentes usos previstos que afectan al riesgo de plagas podrán incluir si las plantas se cultivan como anuales o perennes, si se cultivan en ~~interiores- el interior~~ o al aire libre, si se cultivan en áreas urbanas, en el campo o en viveros, etc.

Este apéndice es para fines de referencia solamente y no es una parte prescriptiva de la norma.

APÉNDICE 1: Ejemplos de medidas de manejo de plagas para ~~disminuir~~ reducir el riesgo de plagas de las plantas para plantar en un lugar de producción

Tabla 1. Ejemplos de medidas que ~~pueden~~ podrán aplicarse para ~~disminuir~~ reducir el riesgo de plagas de plantas para plantar en un lugar de producción, categorizadas por grupos de plagas (los grupos de plagas pueden estar superpuestos, por ejemplo grupos 1 y 3, y ~~podrán~~ requerirse una variedad de medidas disponibles para abordar adecuadamente el riesgo de plagas)

	Grupo de plaga	Medidas disponibles
1	Plagas que causan infecciones latentes y aquellas que tienen posibilidad de transmitirse por las plantas para plantar sin señales <u>signos</u> ni síntomas	<ul style="list-style-type: none"> – Derivado <u>Derivadas</u> de plantas madre a las que se les han realizado pruebas y encontrado libres de plagas pertinentes – Aislamiento de fuentes de infestación (por ejemplo, zona tampón o distancia geográfica de otras plantas hospedantes, aislamiento físico utilizando un invernadero o túnel de polietileno (polytunnel), aislamiento en el tiempo (por ejemplo la temporada de crecimiento) de una fuente de infestación (aislamiento temporal) – Pruebas de muestras de plantas para confirmar la ausencia de plagas – Producción dentro de un esquema de certificación especificado o programa de material propagativo limpio que controle las plagas relevantes – Uso de plantas indicadoras – Producción de cultivo de tejidos (incluyendo cultivo de punta de meristemas) el cual podrá eliminar los patógenos.
2	Plagas que tienen etapas y síntomas que son visibles durante la temporada de crecimiento	<ul style="list-style-type: none"> – La <u>inspección</u> durante la temporada de crecimiento para confirmar la ausencia de plagas o síntomas (a saber, a intervalos programados, por ejemplo, mensual durante los tres meses antes de la exportación o durante <u>en diferentes</u> etapas distintas de crecimiento) – Inspección durante la temporada de crecimiento de las plantas madre – Inspección después de la cosecha para cumplir con un nivel de tolerancia especificado para una plaga (por ejemplo, tolerancia de raíces de bulbos para hongos/bacterias) – Aplicaciones de plaguicidas – Asegurar las condiciones apropiadas para la expresión de los síntomas – Producción dentro de un esquema de certificación especificado o un programa de material propagativo limpio que controle las plagas relevantes
3	<u>Plagas dispersadas por</u> <u>Dispersión de plagas</u> mediante contacto	<ul style="list-style-type: none"> – Prevenir el contacto con fuentes de infestación (por ejemplo, otras plantas) – Medidas de higiene para manipular herramientas y equipo de poda entre diferentes tandas/lotés – Planificación de actividades en el lugar de producción para trabajar primero con plantas con mayor sanidad – Uso de ropa y equipo dedicado en lugares aislados (por ejemplo, invernadero de mallas) – Aplicaciones de plaguicidas – Aislamiento de fuentes de infestación (por ejemplo, zonas tampón o distancia geográfica de otros hospedantes, aislamiento físico utilizando un invernadero o túnel de polietileno (polytunnel), aislamiento temporal). – –

	Grupo de plaga	Medidas disponibles
		-
4	Plagas transmitidas por vectores	<ul style="list-style-type: none"> - Aislamiento de fuentes de infestación (por ejemplo, zona tampón o distancia geográfica de otras plantas hospedantes, aislamiento físico utilizando un invernadero o túnel de polietileno (polytunnel), aislamiento temporal) - Prueba de suelo antes de la plantación para confirmar la ausencia de plagas transmitidas por el suelo o sus vectores o para cumplir con su nivel de tolerancia - Tratamientos con plaguicidas para el control de insectos vectores de plagas (por ejemplo, áfidos)
5	Plagas dispersadas por el viento	<ul style="list-style-type: none"> - Aislamiento de fuentes de infestación (por ejemplo, zona tampón o distancia geográfica de otras plantas hospedantes, aislamiento físico utilizando un invernadero o túnel de polietileno (polytunnel)) - Aplicaciones de plaguicidas
6	Plagas dispersadas con por el agua	<ul style="list-style-type: none"> - Uso de fuentes de agua no contaminadas, libres de plagas - Agua de riego que se ha de desinfectar o esterilizar antes de usarla o reutilizarla - Aislamiento de fuentes de infestación (por ejemplo, zona tampón o distancia geográfica de otras plantas hospedantes, aislamiento físico utilizando un invernadero o túnel de polietileno (polytunnel), aislamiento temporal)
7	Plagas transmitidas por el suelo capaces de colonizar la planta	<ul style="list-style-type: none"> - Aislamiento de fuentes de infestación (por ejemplo, zona tampón o distancia geográfica de otras plantas hospedantes, aislamiento físico utilizando un invernadero o túnel de polietileno (polytunnel), cultivo de plantas en bancos elevados, aislamiento temporal) - Derivada se de plantas madre a las que se les han realizado pruebas y se han encontrado libres de plagas pertinentes - Producción dentro de un esquema de certificación especificado o un programa de material propagativo limpio - Pruebas a muestras de plantas para confirmar la ausencia de plagas - Prueba o Ttratamiento del suelo antes de previo a la siembra plantación o prueba para confirmar la ausencia de plagas tales como hongos, nematodos, virus transmisibles por nematodos - Uso de medios de crecimiento-cultivo sin suelo
8	Plagas transmitidas por el suelo en medio de crecimiento-cultivo adherido a las plantas	<ul style="list-style-type: none"> - Esterilización del medio Medio de crecimiento-cultivo para esterilizarlo antes de utilizarlo - Uso de medio de crecimiento-cultivo inerte - Uso de medio de crecimiento-cultivo sin suelo - Aislamiento de fuentes de infestación, mantenimiento de plantas de tal forma que se evite el contacto con el suelo (por ejemplo, en bancos elevados) - Tratamiento con plaguicidas (por ejemplo, empapado o fumigación) antes de la exportación - Raíces lavadas para eliminar el medio de crecimiento-cultivo (y replantadas en medio de crecimiento-cultivo estéril en un recipiente estéril)
9	Plagas transmitidas por el suelo adherido a las plantas	<ul style="list-style-type: none"> - Aislamiento de fuentes de infestación (por ejemplo, zona tampón o distancia geográfica de otras plantas hospedantes, aislamiento temporal) - Prueba o Ttratamiento del suelo antes de la plantación o prueba para confirmar la ausencia de plagas (especialmente nematodos,

	Grupo de plaga	Medidas disponibles
		<ul style="list-style-type: none"> hongos) – Tratamiento con plaguicida (por ejemplo, empapado o fumigación) antes de la exportación – Raíces lavadas para eliminar suelo (y replantadas en medio de crecimiento-cultivo y recipiente estériles)

Tabla 2. Ejemplos de medidas que pueden aplicarse para ~~disminuir-reducir~~ el riesgo de plagas de plantas para plantar basándose en el tipo de material vegetal

Tipo de planta categorizada en términos generales de acuerdo al riesgo de plagas	Ejemplos de tipos de plagas	Medidas disponibles
Cultivo de meristemo y cultivo <i>in vitro</i>	Virus y enfermedades similares a virus, bacterias, hongos, nematodos de tallo, ácaros e insectos	<ul style="list-style-type: none"> – Derivadase de plantas madre, a las que se les ha realizado pruebas y se han encontrado libres de plagas pertinentes – Cultivo en medio estéril bajo condiciones asépticas cerradas y herméticas – Pruebas a muestras de plantas para confirmar la ausencia de plagas
Portayema/injerto	Bacterias y virus, hongos, insectos y otras plagas	Véanse los grupos 1 a 7 en la Tabla 1
Esqueje sin raíz-enraizar	Insectos, virus, bacterias, hongos y otras plagas	<p>Véanse los grupos 1 a 7 en la Tabla 1</p> <ul style="list-style-type: none"> – Tratamiento con agua caliente
Esqueje enraizado	Nematodos, insectos, virus y bacterias y otras plagas	<p>Las medidas dependerán, entre otras cosas, del riesgo de plagas del medio de crecimiento-cultivo que se use</p> <p>Véanse los grupos 1 a 7 en la Tabla 1</p>
Bulbos y tubérculos, fragmentos de raíces, esquejes de raíz, raicillas o rizomas	Nematodos, virus, bacterias, hongos, insectos y otras plagas	<p>Véanse los grupos 1 a 7 en la Tabla 1</p> <p>Inmersión en agua caliente para controlar nematodos</p>
Plantas a raíz desnuda	Nematodos y todas las otras plagas de la parte aérea de la planta	Véanse los grupos 1 a 7 de la Tabla 1
Plantas en medio de crecimiento-cultivo excluyendo el suelo	Nematodos y todas las otras plagas de la parte aérea de la planta	Véanse los grupos 1 a 8 en la Tabla 1
Plantas en suelo	Nematodos y todas las otras plagas de la parte aérea de la planta	Véanse los grupos 1 a 9 en la Tabla 1

Este apéndice es solamente para fines de referencia y no es una parte prescriptiva de esta norma.

APÉNDICE 2: Ejemplos de no conformidad

~~Los ejemplos de no conformidad pueden incluir~~ Pueden incluirse los siguientes ~~ejemplos de no conformidad~~:

- (1) detección de plagas cuarentenarias o plagas no cuarentenarias reglamentadas (por encima de los ~~límites-niveles~~ de tolerancia establecidos) de interés para el país importador en plantas en el lugar de producción o procedentes de éste
- (2) no se realizaron las pruebas ~~ni o~~ los análisis de laboratorio requeridos ~~ni se o no se~~ siguieron ~~correctamente en forma correcta~~ los procedimientos para identificar las plagas
- (3) no se aplicaron las medidas de control en el lugar de producción para las plagas reglamentadas
- (4) no se notificó a la ONPF del país exportador acerca de la presencia de plagas reglamentadas en el lugar de producción
- (5) exportación de taxones de plantas no elegibles, plantas de orígenes no autorizados, o plantas que no cumplen los requisitos fitosanitarios de importación
- (6) no se listaron de forma correcta los nombres botánicos de todas la plantas en los documentos que acompañan los envíos
- (7) no se mantuvieron registros ~~constantes- sistemáticos~~ del manejo de plagas tal y como se ~~solicita requiere~~ en el manual de lugar de producción y en el programa de manejo de plagas
- (8) no se mantuvieron registros ~~constantes- acordes sistemáticos~~ del país de origen del material vegetal
- (9) no se realizaron las acciones correctivas que se ordenaron en el periodo de tiempo especificado
- (10) no se realizaron las auditorías internas ~~tal como se solicitaron requeridas~~
- (11) operando sin un personal adecuadamente capacitado, una persona responsable designada o un especialista en protección ~~fitosanitaria vegetal~~
- (12) modificación significativa del manual del lugar de producción o de las prácticas de manejo de plagas sin aprobación previa de la ONPF del país exportador
- (13) no se examinó el material vegetal que se recibió o que salió
- (14) no se mantuvieron las plantas para plantar que se habían examinado para la exportación, separadas de otro material vegetal que no se había examinado
- (15) no se mantuvo un programa eficaz de manejo de plagas
- (16) no se mantuvieron las prácticas de manejo de saneamiento en el lugar de producción
- (17) no se brindó en forma periódica la capacitación pertinente al personal
- (18) no se mantuvo una lista actualizada y registros de capacitación de todo el personal ~~que participa involucrado~~ en la implementación del manual del lugar de producción
- (19) no se firmaron ni fecharon los informes o registros en forma ~~constante sistemática~~
- (20) no se registraron los cambios importantes a las listas de taxones de plantas producidas, su ubicación en el lugar de producción y el material vegetal que ha de exportarse
- (21) no se detectaron ni registraron los niveles bajos de poblaciones de plagas
- (22) no se informó a la ONPF del país exportador de ~~ningún-cualquier~~ cambio ~~referente a en~~ las prácticas de manejo descritas en el manual del lugar de producción.

ENMIENDAS A LA NIMF 5 (GLOSARIO DE TÉRMINOS FITOSANITARIOS)

1. Nuevos términos y definiciones

confinamiento (de un artículo reglamentado)	Aplicación de medidas fitosanitarias a un artículo reglamentado para prevenir el escape de plagas
--	--

2. Términos y definiciones revisados

certificado fitosanitario	Documento oficial en papel o su equivalente electrónico oficial , consistente <u>acorde</u> con los modelos de certificados de la CIPF , el cual avala que un envío cumple con los requisitos fitosanitarios de importación
dosis absorbida	Cantidad de energía de radiación absorbida por unidad de masa de un objetivo específico <u>especificado</u>
plaga	Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales . Nota: En la CIPF, el término plaga de plantas en ocasiones se utiliza en lugar del término plaga

3. Términos y definiciones suprimidos

- antagonista
- certificado
- competidor
- dosimetría
- dosímetro
- Gray (Gy)
- *Hitch-hiker pest* [término en inglés]
- legislación
- plaga de plantas
- punto de control
- radiación ionizante

La Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias (2001) adoptó este suplemento por primera vez en su tercera reunión, en abril de 2001. La Comisión de Medidas Fitosanitarias adoptó la primera revisión de este suplemento en marzo de 2012.

El suplemento es una parte prescriptiva de la norma.

SUPLEMENTO 1: Directrices sobre la interpretación y aplicación de los conceptos de “control oficial” y “no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida”

INTRODUCCIÓN

Ámbito

El presente suplemento brinda orientación sobre:

- el control oficial de las plagas reglamentadas y
- la determinación de cuándo una plaga se considera que está presente pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida, para decidir si califica como plaga cuarentenaria.

Referencias

- NIMF 1.** 2006. *Principios fitosanitarios para la protección de las plantas y la aplicación de medidas fitosanitarias en el comercio internacional*. Roma, CIPF, FAO.
- NIMF 2.** 2007. *Marco para el análisis de riesgo de plagas*. Roma, CIPF, FAO.
- NIMF 6.** 1997. *Directrices para la vigilancia*. Roma, CIPF, FAO.
- NIMF 8.** 1998. *Determinación de la situación de una plaga en un área*. Roma, CIPF, FAO.
- NIMF 11.** 2004. *Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias, incluido el análisis de riesgos ambientales y organismos vivos modificados*. Roma, CIPF, FAO.

Definición

El término “control oficial” se define como:

Observancia activa de la reglamentación fitosanitaria y aplicación de los procedimientos fitosanitarios obligatorios con objeto de erradicar o contener las plagas cuarentenarias o manejar las plagas no cuarentenarias reglamentadas.

ANTECEDENTES

Las palabras “presente pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida y controlada oficialmente” expresan un concepto esencial en la definición de plaga cuarentenaria. De acuerdo con esa definición, una plaga cuarentenaria siempre debe ser de importancia económica potencial para un área en peligro. Además, debe cumplir ya sea con el criterio de no estar presente en esa área o con los criterios combinados de estar presente pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida y sujeta a control oficial.

En el *Glosario de términos fitosanitarios* se define oficial como “establecido, autorizado o ejecutado por una ONPF” y control como “supresión, contención o erradicación de una población de plagas”. Sin embargo, a efectos fitosanitarios el concepto de *control oficial* no queda expresado de manera adecuada ~~en~~ por la combinación de estas dos definiciones.

La finalidad del presente suplemento es describir con mayor precisión la interpretación del:

- concepto de control oficial y su aplicación en la práctica para las plagas cuarentenarias que están presentes en un área así como para las plagas no cuarentenarias reglamentadas y
- concepto de “presente pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida” y “bajo control oficial” para las plagas cuarentenarias”.

El término “no ampliamente distribuida” no está incluido en la descripción de la condición de una plaga que se encuentra en la NIMF 8:1998.

REQUISITOS

1. Requisitos generales

El control oficial está sujeto a la NIMF 1:2006, en particular los principios de no discriminación, transparencia, equivalencia de medidas fitosanitarias y análisis de riesgo de plagas.

1.1 Control oficial

El control oficial ~~comprende incluye~~ lo siguiente:

- ~~la~~ erradicación y/o contención en ~~el (las)~~ áreas(s) infestadas(s)
- ~~la~~ vigilancia en ~~las-el (las)~~ áreas(s) en peligro
- ~~las~~ restricciones relacionadas con la movilización hacia las áreas protegidas y dentro de ~~éstas las mismas~~, incluidas las medidas fitosanitarias aplicadas en la importación.

Todos los programas de control oficial tienen elementos que son obligatorios. Como mínimo, se requiere una evaluación del programa y la vigilancia de las plagas en los programas de control oficial para determinar la necesidad del control y su efecto, con el objeto de justificar las medidas fitosanitarias aplicadas en la importación con el mismo fin. Las medidas fitosanitarias aplicadas en la importación deberían ~~estar ser equivalentes a~~ acordes con el principio de no discriminación (véase el apartado 2.2 abajo).

Para las plagas cuarentenarias, la erradicación y contención ~~pueden podrán~~ tener un elemento de supresión. ~~En cuanto a Para~~ las plagas no cuarentenarias reglamentadas, se ~~puede podrá~~ utilizar la supresión para evitar repercusiones económicas inaceptables, puesto que se aplica al uso previsto de las plantas para plantar.

1.2 No ~~distribuida~~ ampliamente distribuida

El concepto “no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida” se refiere a la presencia y distribución de una plaga dentro de un área. Una plaga podrá categorizarse como presente y ~~distribuida~~ ampliamente distribuida en un área, o no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida, o ausente. En el análisis de riesgo de plagas (ARP), la determinación de si la plaga no está ~~distribuida~~ ampliamente distribuida se realiza en la etapa de categorización de la plaga. Transitoriedad significa que no está previsto el establecimiento de la plaga y por ende, no resulta pertinente para el concepto de “no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida”.

En el caso de una plaga cuarentenaria que está presente, pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida, el país importador debería definir el (las) área(s) infestada(s) y el (las) área(s) en peligro. Cuando se ~~considera~~ ae que una plaga cuarentenaria no está ~~distribuida~~ ampliamente distribuida, eso significa que la plaga está limitada a partes de su distribución potencial y hay áreas libres de la plaga que ~~estarían~~ están en riesgo de una pérdida económica a raíz de su introducción o dispersión. Estas áreas en peligro no necesitan estar contiguas pero podrán constar de varias partes distintas. Con el fin de justificar la declaración de que una plaga no está ~~distribuida~~ ampliamente distribuida, de solicitarse, debería ponerse a disposición una descripción y delimitación de las áreas en peligro. Existe un ~~nivel~~ grado de incertidumbre asociado a cualquier categorización de distribución. La categorización también podrá cambiar con el tiempo.

El área en la cual la plaga no está ~~distribuida~~ ampliamente distribuida debería ser la misma que el área para la cual se aplica el impacto económico (es decir, el área en peligro) y en donde la plaga está bajo control oficial o se está considerando para éste. La decisión de que una plaga es plaga cuarentenaria, incluida la consideración de su distribución y el establecimiento de dicha plaga bajo control oficial, por lo general se realiza con respecto a todo un país. No obstante, en algunos casos podrá ser más apropiado reglamentar una plaga como cuarentenaria en partes de un país en vez de en todo el país. En la determinación de las medidas fitosanitarias ~~Hay hay~~ que considerar la importancia económica potencial de la plaga para ~~aquellas dichas partes, en la determinación de las medidas fitosanitarias.~~

Ejemplos de cuándo esto podrá ser apropiado son los países cuyos territorios incluyen una o más islas u otros casos en los cuales existen barreras, naturales o creadas artificialmente, contra el establecimiento y la dispersión de la plaga, tales como países grandes en los cuales los cultivos especificados están restringidos por el clima a áreas bien definidas ~~debido al clima~~.

1.3 Decisión para aplicar el control oficial

Una organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) podrá decidir si controla o no ~~de forma~~ oficialmente una plaga ~~que es~~ de importancia económica potencial ~~y~~ que está presente pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida, teniendo en cuenta ~~otros~~ factores pertinentes del ~~análisis de riesgo de plagas (ARP)~~, por ejemplo, los costos y beneficios de la reglamentación de ~~una~~ la plaga específica, y la capacidad técnica y logística para controlar la plaga dentro del área definida. Si la plaga no está sujeta al control oficial, entonces no califica como plaga cuarentenaria.

2. Requisitos específicos

Los requisitos específicos que han de cumplirse se relacionan con el análisis de riesgo de plagas, la justificación técnica, la no discriminación, transparencia, observancia, naturaleza obligatoria del control oficial, área de aplicación y autoridad y participación de la ONPF en el control oficial.

2.1 Justificación técnica

Los requisitos nacionales y los requisitos fitosanitarios de importación deberían estar técnicamente justificados y ~~dar como~~ resultar de en medidas fitosanitarias no discriminatorias.

La aplicación de la definición de una plaga cuarentenaria requiere conocer la importancia económica potencial, la distribución potencial y los programas de control oficial (NIMF 2:2007). La categorización de una plaga como presente y ~~distribuida~~ ampliamente distribuida o presente pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida se determina en relación con su distribución potencial. Esta distribución potencial representa las áreas en las cuales donde la plaga podría establecerse si se presenta la oportunidad, es decir, sus hospedantes están presentes y resultan favorables los factores ambientales tales como el clima y suelo. La NIMF 11:2004 brinda orientación en cuanto a los factores que han de considerarse en la evaluación de la probabilidad de establecimiento y dispersión cuando se realice un análisis de riesgo de plagas. En el caso de una plaga que está presente pero no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida, la evaluación de la importancia económica potencial debería relacionarse con las áreas en donde la plaga no ~~se ha establecido~~ está establecida.

La vigilancia debería utilizarse para determinar la distribución de una plaga en un área como la base para la consideración adicional posterior de si la plaga no está ~~distribuida~~ ampliamente distribuida.

La NIMF 6:1997 proporciona orientación sobre la vigilancia e incluye disposiciones sobre la transparencia. Los factores biológicos tales como ciclo de vida de la plaga, medios de dispersión y tasa de reproducción ~~podrían~~ podrán influir en el diseño de los programas de vigilancia, en la interpretación de los datos de la encuesta y en el nivel de confianza en la categorización de una plaga como no ~~distribuida~~ ampliamente distribuida. La distribución de una plaga en un área no es una condición ~~estacionaria estática~~. Las Un cambio en las condiciones ~~cambiantes~~ o ~~la~~ información nueva podrán necesitar requerir una reconsideración de si una plaga no está ~~distribuida~~ ampliamente distribuida.

2.2 No discriminación

El principio de no discriminación entre los requisitos nacionales y los requisitos fitosanitarios de importación es fundamental. En particular, los requisitos para la importación no deberían ser más estrictos que el efecto del control oficial en el un país importador. Por consiguiente, debería haber concordancia ~~coherencia~~ entre los requisitos nacionales y los requisitos fitosanitarios de importación para una plaga especificada:

- Los requisitos de importación no deberían ser más estrictos que los requisitos nacionales.

- Los requisitos nacionales y de importación deberían ser iguales o tener un efecto equivalente.
- Los elementos obligatorios de los requisitos nacionales y de importación deberían ser los mismos.
- La intensidad de ~~la~~ inspección ~~en-de~~ los envíos importados debería ser la misma que la de un proceso igual o equivalentes al de en los programas de control nacional.
- En caso de incumplimiento, deberían adoptarse en los envíos importados las mismas acciones fitosanitarias o acciones fitosanitarias equivalentes a las adoptadas en el ámbito nacional.
- Si se aplica un nivel de tolerancia ~~en-el mareao dentro~~ de un programa nacional de control oficial, debería aplicarse el mismo nivel de tolerancia al material importado equivalente. En particular, si no se aplica ninguna acción en el programa nacional de control oficial ~~debido a porque que~~ la incidencia de la plaga no ~~superae~~ el nivel de tolerancia de interés, tampoco debería aplicarse ninguna acción para un envío importado si la incidencia de la plaga no supera el mismo nivel de tolerancia. ~~La observancia~~ El cumplimiento de los niveles de tolerancia en la importación se determina ~~en-general~~ generalmente por ~~la~~ inspección o ~~las~~ pruebas ~~en-a~~ la entrada, mientras que el cumplimiento del nivel de tolerancia para los envíos nacionales debería determinarse en el último punto de aplicación del control oficial.
- Si se permite la reducción o reclasificación en un programa nacional de control oficial, debería ~~haber~~ disponibles opciones similares para los envíos importados.

2.3 Transparencia

Los requisitos nacionales para el control oficial y los requisitos fitosanitarios de importación deberían estar documentados y ponerse a disposición de quien los solicite.

2.4 Observancia

La observancia interna de los programas de control oficial debería ser equivalente a la observancia de los requisitos fitosanitarios de importación. La observancia debería comprender lo siguiente:

- una base legal
- implementación ~~práctica~~ operativa
- evaluación y ~~examen~~ revisión
- acción fitosanitaria en caso de incumplimiento.

2.5 Carácter obligatorio del control oficial

El control oficial es obligatorio en el sentido de que todas las personas involucradas están ~~jurídicamente-legalmente~~ obligadas a llevar a cabo las acciones ~~necesarias~~ requeridas. El alcance de los programas de control oficial para las plagas cuarentenarias es completamente obligatorio (por ejemplo, procedimientos para las campañas de erradicación), mientras que el alcance para las plagas no cuarentenarias reglamentadas solamente es obligatorio en determinadas circunstancias (por ejemplo, programas de certificación oficial).

2.6 Área de aplicación

Un programa de control oficial puede aplicarse ~~en el ámbito en-un área~~ nacional, subnacional o local. Se debería especificar el ~~área-ámbito~~ de aplicación de las medidas de control oficial. Cualquier requisito fitosanitario de importación debería tener el mismo efecto que los requisitos nacionales para el control oficial.

2.7 Autoridad y participación de la ONPF en el control oficial

El control oficial debería:

- establecerse o reconocerse por la parte contratante o la ONPF ~~en-virtud-de~~ bajo la autoridad legislativa apropiada
- aplicarse, manejarse, supervisarse o como mínimo auditarse/~~examinarse-revisarse~~ por la ONPF

- tener una observancia garantizada por la parte contratante o la ONPF
- modificarse, concluirse o perder el reconocimiento oficial, por la parte contratante o la ONPF.

La responsabilidad con respecto a los programas de control oficial corresponde a la parte contratante. Organismos distintos de la ONPF podrán ser responsables ~~Pueden encargarse~~ de algunos aspectos de los programas de control oficial ~~organismos distintos de la ONPF~~, y determinados aspectos de los programas de control oficial ~~pueden estar a cargo~~ podrán ser de responsabilidad de autoridades subnacionales o del sector privado. La ONPF debería tener pleno conocimiento de todos los aspectos de los programas de control oficial en su país.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma

Esta historia de la publicación se refiere sólo a la versión española. Para la historia completa de la publicación, consulte la versión en inglés de la norma

| La CMF-7 (2012) adoptó la revisión del [Suplemento 1](#)

NIMF 5. Suplemento 1 *Directrices sobre la interpretación y aplicación de los conceptos de “control oficial” y “no distribuida ampliamente”* (2012). Roma, CIPF, FAO.

| Última actualización de la historia de la publicación: junio [de 2012](#).



NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS

NIMF 27 PROTOCOLOS DE DIAGNÓSTICO

PD 2: *Plum pox virus*

(2012)

ÍNDICE

1.	Información sobre la plaga.....	PD 2-3
2.	Información taxonómica	PD 2-3
3.	Detección e identificación	PD 2-3
3.1	Detección e identificación biológica.....	PD 2-5
3.2	Detección e identificación serológica	PD 2-5
3.2.1	Ensayo indirecto de inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos (DASI-ELISA).....	PD 2-6
3.2.2	Ensayo de inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos (DAS-ELISA).....	PD 2-6
3.3	Detección e identificación molecular.....	PD 2-6
3.3.1	Transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)	PD 2-7
3.3.2	Inmuncaptura seguida de reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (RT-PCR).....	PD 2-7
3.3.3	Transcripción inversa cooperativa seguida de reacción en cadena de la polimerasa.....	PD 2-8
3.3.4	Transcripción inversa en tiempo real de la reacción en cadena de la polimerasa....	PD 2-8
4.	Identificación de las cepas.....	PD 2-10
4.1	Identificación serológica de las cepas.....	PD 2-11
4.2	Identificación molecular de las cepas	PD 2-12
4.2.1	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa	PD 2-12
4.2.2	Inmuncaptura seguida de reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa.....	PD 2-12
4.2.3	Transcripción inversa cooperativa, reacción en cadena de la polimerasa.....	PD 2-12
4.2.4	Transcripción inversa en tiempo real, reacción en cadena de la polimerasa	PD 2-12

5. Registros.....	PD 2-14
6. Puntos de contacto para información adicional.....	PD 2-14
7. Agradecimientos	PD 2-15
8. Referencias	PD 2-15

1. Información sobre la plaga

La sharka (viruela del ciruelo) es una de las enfermedades más graves de los frutales de hueso. Esta enfermedad, causada por el *Plum pox virus* (PPV), afecta a las plantas del género *Prunus*. Es especialmente perjudicial para *P. armeniaca*, *P. domestica*, *P. persicae* y *P. salicina* porque ~~ser causa de pérdida de~~ reduce la calidad y ~~causa~~ caída prematura de los frutos. Se estima que desde la década de 1970, los costos relacionados con ~~la gestión el~~ manejo de la sharka en el mundo superan los 10 000 millones de euros (Cambra *et al.*, 2006b).

~~La sharka se localizó reportó~~ En 1917-18 se comunicó por primera vez la presencia de la sharka ~~por primera vez~~ en *P. domestica*, ~~en 1917-18~~ en Bulgaria, y en 1932 se describió como una enfermedad ~~viral~~ vírica. Desde entonces, el virus se ha dispersado de forma progresiva en gran parte de Europa, alrededor de la cuenca mediterránea y en el Cercano y Medio Oriente. Se ha localizado con una distribución restringida en América del Sur, América del Norte y Asia (EPPO, 2006; CABI, 2011).

El PPV pertenece al género *Potyvirus* de la familia de los *Potyviridae*. Sus partículas son varillas flexuosas de aproximadamente 700 nm × 11 nm y están formadas por una molécula de ARN monocatenaria de ~~al menos casi~~ 10 000 nucleótidos, cubiertos de hasta 2 000 subunidades de una sola proteína de envoltura (García y Cambra, 2007). El PPV se transmite en el campo por áfidos de forma no persistente, pero el movimiento del material ~~vegetal~~ propagativo ~~de la planta~~ infectado es la ~~vía~~ principal ~~vía~~ de dispersión del PPV a larga distancia.

Los extractos de PPV pueden clasificarse actualmente en siete tipos o cepas: D (Dideron), M (Marcus), C (Cherry), EA (El Amar), W (Winona), Rec (Recombinante) y T (Turco) (Candresse y Cambra, 2006; James y Glasa, 2006; Ulubaş Serçe *et al.*, 2009). La mayoría de extractos de PPV pertenecen a los tipos D y M. Las cepas de PPV D y M pueden infectar con facilidad plantas de *P. armeniaca* y *P. domestica*, pero ~~difieren en~~ su capacidad para infectar cultivares de *P. persicae* ~~es distinta~~. La patogenicidad de las diversas cepas es diferente; por ejemplo, los extractos de tipo M suelen causar epidemias más rápidas y síntomas más graves que los extractos de tipo D en *P. armeniaca*, *P. domestica*, *P. persica* y *P. salicina*. Los extractos de tipo EA se restringen geográficamente a Egipto; ~~y~~ se dispone de poca información sobre su epidemiología y sus propiedades biológicas. En muchos países europeos y en Turquía se ~~han~~ identificado recientemente extractos de PPV que infectan a *P. avium* y *P. cerasus*. Dichos extractos forman un tipo diferente definido como PPV-C. Se extrajo un PPV atípico de *P. domestica* en Canadá (PPV-W) que representa otro tipo de PPV. Además, se han descrito como PPV-Rec los recombinantes naturales entre los tipos D y M ~~de PPV~~, que muestran un comportamiento epidemiológico similar al del tipo D. En Turquía se ha informado recientemente sobre un extracto de un segundo tipo de recombinante (tipo T).

Para más información sobre el PPV, con ilustraciones y síntomas de la enfermedad, consúltense Barba *et al.* (2011), CABI (2011), EPPO (2004), EPPO (2006), García y Cambra (2007) y PaDIL (2011).

2. Información taxonómica

Nombre:	<i>Plum pox virus</i> (PPV)
Sinónimo:	Virus de la sharka
Posición taxonómica:	<i>Potyviridae</i> , <i>Potyvirus</i>
Nombres comunes:	Enfermedad de la sharka, viruela del ciruelo

3. Detección e identificación

En ~~circunstancias~~ ~~condiciones~~ naturales, el PPV infecta con facilidad árboles frutales del género *Prunus* utilizados como variedades comerciales o ~~rizomas~~ ~~portainjertos~~: *P. armeniaca*, *P. cerasifera*, *P. davidiana*, *P. domestica*, *P. mahaleb*, *P. marianna*, *P. mume*, *P. persica*, *P. salicina* e híbridos interespecíficos entre dichas especies. *Prunus avium*, *P. cerasus* y *P. dulcis* podrán infectarse de forma ocasional. El virus también infecta muchas especies ~~de Prunus salvajes silvestres u y~~ ornamentales ~~de Prunus~~ como *P. besseyi*, *P. cistena*, *P. glandulosa*, *P. insititia*, *P. laurocerasus*, *P. spinosa*, *P. tomentosa* y *P. triloba*. En ~~circunstancias~~ ~~condiciones~~ experimentales, el PPV puede

transmitirse de forma mecánica a un gran número de *Prunus* spp. y a muchas plantas herbáceas (*Arabidopsis thaliana*, *Chenopodium foetidum*, *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. glutinosa* y *Pisum sativum*).

Los síntomas del PPV podrán manifestarse en hojas, brotes, corteza, pétalos, frutos y huesos en el campo. Suelen ser distinguibles en las hojas ~~en las primeras fases de temprano en~~ la temporada de crecimiento; consisten en una decoloración suave, verde claro; manchas, franjas o anillos cloróticos; aclaramiento o ~~amarilleo-amarillamiento~~ de las ~~nervacionesnervaduras~~; o deformación foliar. Algunos de estos síntomas foliares se parecen a los que provocan otros virus, como el *virus del arabesco americano del ciruelo*. *Prunus cerasifera* cv. GF 31 muestra un encorchado de color óxido y resquebrajamiento de la corteza. Los síntomas florales pueden darse en los pétalos (decoloración) de algunos cultivares de *P. persica* cuando se infectan por PPV-M o en ~~el~~*P. glandulosa* infectado por PPV-D. Los frutos infectados muestran manchas cloróticas o anillos o líneas con una ligera pigmentación amarilla. Los frutos pueden deformarse o adoptar una forma irregular y desarrollar zonas marrones o necróticas bajo los anillos decolorados. Ciertas deformaciones del fruto, especialmente en *P. armeniaca* y *P. domestica*, son similares a las provocadas por el *virus de la mancha clorótica de la hoja del manzano*. Los frutos enfermos podrán mostrar pardeamiento interno y gomosis de la carne, y además pérdida de calidad. En los casos graves, los frutos enfermos caen prematuramente del árbol. Por lo general, los frutos de los cultivares de maduración temprana muestran síntomas más marcados que los de maduración tardía. Los huesos de los frutos enfermos de *P. armeniaca* muestran manchas o anillos típicos de tono pálido. El alcohol o los licores que se producen a partir de estos frutos no son comercializables debido a su desagradable sabor. La aparición de síntomas y su intensidad dependen en gran medida de la planta hospedante y de las condiciones climáticas; por ejemplo, el virus puede mantenerse latente durante varios años en los climas fríos.

La NIMF 31:2008 (Metodologías para muestreo de envíos) brinda orientación general sobre las metodologías de muestreo. Para detectar el PPV es imprescindible que la selección de las muestras sea adecuada. El muestreo debería tener en cuenta la biología del virus y las condiciones climáticas locales, en particular las condiciones del tiempo durante la temporada de crecimiento. Si se encuentran síntomas típicos, ~~se recomienda recolectar~~ flores, hojas y frutos que presenten los síntomas. De las plantas asintomáticas deberían tomarse muestras de brotes de por lo menos un año ~~de madurez u con hojas maduras o hojas~~ completamente desarrolladas de la parte central de cada una de las ramas principales (la detección no es fiable en brotes de menos de un año). Las muestras deberían tomarse, como mínimo, en cuatro sitios diferentes (p. ej., cuatro ramas o cuatro hojas) de cada planta; esto es indispensable ya que la distribución del PPV es desigual. El muestreo no debería realizarse durante los meses de temperaturas más altas. Las pruebas son menos fiables si se realizan con muestras tomadas durante el otoño que con las obtenidas al principio de la primavera. El material vegetal debería recogerse preferiblemente de las partes internas de la copa del árbol. En primavera, las muestras pueden ser flores, brotes ~~jóvenes~~ con las hojas totalmente desarrolladas o frutos. En verano y en otoño pueden utilizarse para el análisis las hojas maduras y la piel de los frutos maduros recogidos del campo o de los lugares de embalaje. Las flores, las hojas, los brotes y la piel del fruto pueden almacenarse a una temperatura de 4 °C ~~durante un máximo por no más~~ de 10 días antes del ~~tratamiento~~procesamiento. Los frutos pueden almacenarse durante un mes a una temperatura de 4 °C antes del ~~tratamiento~~procesamiento. En invierno pueden seleccionarse las yemas ~~aletargadas~~ dormidas o los tejidos de corteza de la zona basal de ramillas, brotes y ramas, o espolones enteros.

La detección de ~~los extractos de~~ PPV puede lograrse mediante una prueba biológica, serológica o molecular; para su identificación se requiere una prueba serológica o molecular. Una prueba serológica o molecular es el requisito mínimo para la detección e identificación del PPV (p. ej. en el diagnóstico rutinario de una plaga establecida ampliamente en un país). En caso de que la organización nacional de protección fitosanitaria (ONPF) requiera ~~una~~ mayor confianza en la identificación ~~más segura~~ del PPV (p. ej. la detección en una ~~zona~~ área en la que no se sabe si el virus está presente, o en un envío procedente de un país en el que se declara que el virus está ausente), podrán realizarse más pruebas. En los casos en que la identificación inicial se haya realizado mediante un método molecular, las pruebas posteriores deberían utilizar técnicas serológicas y viceversa. También podrán realizarse ~~más~~ pruebas adicionales o con el fin de identificar la cepa de PPV que está

presente. En ~~eualquier todos los casos~~, ~~las pruebas deberán consistir en~~ deben incluirse controles negativos y positivos en las pruebas. En las siguientes secciones se describen las técnicas recomendadas.

En ciertas circunstancias (p. ej. en el diagnóstico rutinario de una plaga ~~extendida establecida~~ ampliamente en un país) se podrán efectuar pruebas sobre varias plantas simultáneamente, utilizando una muestra múltiple obtenida de un cierto número de plantas. La decisión de realizar las pruebas en muestras de una sola planta o muestras múltiples dependerá de la concentración del virus en las plantas y del nivel de seguridad-confianza requerido por la ONPF.

En este protocolo de diagnóstico, los métodos (incluidas las referencias a nombres comerciales) se describen según se publicaron, ya que en ellos se define el nivel inicial de sensibilidad, especificidad y/o reproducibilidad adquirido. Los procedimientos de laboratorio presentados en los protocolos ~~pueden~~ podrán ajustarse a las normas de los laboratorios individuales, siempre que estén adecuadamente validadas.

3.1 **Detección e ~~identificación~~ biológica**

Las principales plantas indicadoras para la indexación de PPV son ~~plantones plántulas~~ de *P. cerasifera* cv. GF31, *P. persica* cv, GF305, *P. persica* x *P. davidiana* cv. Nemaguard, o *P. tomentosa*. Las plantas indicadoras crecen a partir de semilla, se plantan en una mezcla de ~~tierras-suelo con buen drenaje~~ buen drenada y se mantienen en un invernadero protegido contra insectos entre los 18 °C y los 25 °C hasta que son lo suficientemente grandes para la injertación (normalmente 25-30 cm de alto con un diámetro de 3–4 mm). Como alternativa se pueden injertar púas de plantas indicadoras en ~~plantones plántulas~~ de otras especies de *Prunus*. La inoculación mediante injertos de los indicadores debe realizarse siguiendo métodos convencionales, como la gemación (Desvignes, 1999), con al menos cuatro réplicas por planta indicadora. Las plantas indicadoras injertadas se mantienen en las mismas condiciones y, tres semanas después, se podan hasta unos pocos centímetros sobre el injerto (Gentit, 2006). Las plantas injertadas ~~deben~~ deberían inspeccionarse durante por lo menos seis semanas para constatar si presentan síntomas. Los síntomas, en especial las líneas y franjas cloróticas, se observan en las partes nuevas de la planta después de tres o cuatro semanas y deben compararse con controles positivos y sanos. En Damsteegt *et al.* (1997; 2007) y Gentit (2006) pueden encontrarse ilustraciones de los síntomas provocados por el PPV en las plantas indicadoras.

No existen datos cuantitativos publicados sobre la especificidad, sensibilidad o fiabilidad de la injertación. Este método se utiliza de forma generalizada en programas de certificación y se considera un método sensible de detección. Sin embargo, no se trata de una prueba rápida (el desarrollo del síntoma requiere muchas semanas tras la inoculación); solo puede emplearse en material de propagación; requiere instalaciones dedicadas como un espacio de invernadero con temperatura controlada; y los síntomas observados pueden confundirse con los de otros agentes transmisibles por injerto. Además, existen cepas asintomáticas que, justamente por no inducir síntomas, no son detectables en las plantas indicadoras.

3.2 **Detección e identificación serológica**

Los ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELISA) son muy recomendables para someter a análisis grandes cantidades de muestras.

~~En el tratamiento~~ Para el procesamiento de la muestra se corta en trozos pequeños aproximadamente 0,2-0,5 g de material vegetal fresco, que se ~~deposita coloca~~ en un tubo o una bolsa de plástico adecuados. La muestra se homogeneiza en aproximadamente 4-10 ml (1:20 p/v) de tampón de extracción usando un homogeneizador eléctrico de tejidos o un rodillo manual, martillo o instrumento similar. El tampón de extracción es salino con tampón fosfato (PBS) de pH 7,2-7,4, con un 2 % de polivinilpirrolidona y un 0,2 % de dietilditiocarbamato de sodio (Cambrá *et al.*, 1994), o un tampón alternativo adecuadamente validado. El material vegetal debería homogeneizarse por completo y utilizarse fresco.

3.2.1 Ensayo indirecto de inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos (DASI-ELISA)

El DASI-ELISA, también denominado ensayo de inmunoabsorción enzimática en fase triple de anticuerpos (TAS-ELISA), debería realizarse según lo indicado por Cambra *et al.* (1994) con un anticuerpo monoclonal específico como 5B-IVIA, siguiendo las instrucciones del fabricante.

El 5B-IVIA es actualmente el único anticuerpo monoclonal que detecta todas las cepas del PPV con alta fiabilidad, especificidad y sensibilidad (Cambra *et al.*, 2006a). En una prueba del anillo DIAGPRO realizada por 17 laboratorios con un grupo de 10 muestras, infectadas por PPV (PPV-D, PPV-M y PPV-D+M) y muestras sanas de Francia y España, la precisión del DASI-ELISA con el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA fue del 95 % (número de valores negativos y positivos auténticos diagnosticados por la técnica/número de muestras analizadas). Esta precisión fue mayor que la obtenida con la inmunocaptura, transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (IC-RT-PCR) que fue del 82 %, o con la RT-PCR cooperativa (Co-RT-PCR) que fue del 94 % (Cambra *et al.*, 2006c; Olmos *et al.*, 2007). La proporción de valores negativos auténticos (número de valores negativos auténticos diagnosticado por la técnica/número de plantas sanas) que se identificó mediante DASI-ELISA con el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA fue del 99,0 %, frente a la RT-PCR en tiempo real con ácido nucleico purificado (89,2 %) o muestras manchadas (98,0 %), o IC-RT-PCR (96,1 %). Capote *et al.* (2009) también informaron ~~de~~ que existía una probabilidad del 98,8 % de que un resultado positivo obtenido en invierno con DASI-ELISA utilizando el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA fuera un valor positivo auténtico.

3.2.2 Ensayo de inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos (DAS-ELISA)

El sistema de DAS-ELISA convencional o de biotina-estreptavidina debería aplicarse mediante equipos-kits basados en el anticuerpo específico monoclonal 5B-IVIA o en anticuerpos policlonales que se haya demostrado que detectan todas las cepas del PPV sin experimentar reacciones cruzadas con otros virus o con material vegetal sano (Cambra *et al.*, 2006a; Capote *et al.*, 2009). La prueba debería realizarse siguiendo las instrucciones del fabricante.

Mientras que el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA detecta con especificidad, sensibilidad y fiabilidad todas las cepas del PPV, algunos anticuerpos policlonales no son específicos y tienen una sensibilidad limitada (Cambra *et al.*, 1994; Cambra *et al.*, 2006a). Por lo tanto, se recomienda el uso de métodos adicionales en todas las situaciones en que se hayan utilizado anticuerpos policlonales en una prueba y la ONPF necesite más seguridad-confianza en la identificación del PPV.

3.3 Detección e identificación molecular

Los métodos moleculares que utilizan la transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) podrán ser más caros o lentos-requerir más tiempo que las técnicas serológicas, en especial en las pruebas a gran escala. Sin embargo, los métodos moleculares, en especial la RT-PCR en tiempo real, suelen ser más sensibles que las técnicas serológicas. El uso de RT-PCR en tiempo real también evita un posible proceso de amplificación posterior (p.ej. electroforesis de gel) y, por lo tanto, es más rápido y presenta una probabilidad menor de contaminación que la PCR convencional.

A excepción de la inmunocaptura (IC)-RT-PCR (para la que no es necesario el aislamiento de ARN), la extracción de ARN debería realizarse con protocolos adecuadamente validados. Las muestras deberían colocarse en bolsas de plástico individuales para evitar la contaminación cruzada durante su extracción. Como alternativa para la RT-PCR en tiempo real, los extractos de plantas manchadas, impresos de secciones histológicas o muestras de material vegetal obtenidas por aplastamiento se pueden inmovilizar en papel secante o membranas de nailon y analizarse con RT-PCR en tiempo real (Olmos *et al.*, 2005; Osman y Rowhani, 2006; Capote *et al.*, 2009). No se recomienda utilizar muestras manchadas o impresos histológicos en la PCR convencional debido a su menor sensibilidad en comparación con la RT-PCR a tiempo real.

Cada método describe el volumen de la muestra extraída que debería usarse como molde. Dependiendo de la sensibilidad del método, la concentración mínima del molde que se requiere para detectar el PPV varía como sigue: RT-PCR, 100 fg RNA molde ml⁻¹; Co-RT-PCR, 1 fg RNA molde ml⁻¹; y RT-PCR en tiempo real, 2 fg RNA molde ml⁻¹.

3.3.1 Transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)

Los cebadores RT-PCR utilizados en este ensayo son los cebadores de Wetzel *et al.* (1991),

P1 (5'-ACC GAG ACC ACT ACA CTC CC-3')

P2 (5'-CAG ACT ACA GCC TCG CCA GA-3')

o los de Levy y Hadidi (1994):

3'NCR efector (5'-GTA GTG GTC TCG GTA TCT ATC ATA-3')

3'NCR antisentido (5'-GTC TCT TGC ACA AGA ACT ATA ACC-3')

La mezcla de reacción, 25 µl, tiene los siguientes componentes: 1 µM de cada cebador (P1/P2 o el par cebador 3'NCR), 250 µM dNTP, 1 unidad de transcriptasa inversa AMV, 0,5 unidades de polimerasa Taq DNA, 2,5 µl 10 × tampón de polimerasa Taq, 1,5 mM MgCl₂, 0,3% Triton X-100 y 5 µl RNA molde. La reacción se produce en las condiciones de termociclado descritas a continuación: 45 min a 42 °C, 2 min a 94°C, 40 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s o bien a 60 °C (cebadores P1/P2) o a 62 °C (cebadores 3'NCR) y 1 min a 72 °C, seguido de una extensión final de 10 min a 72 °C. Los productos de la PCR se analizan con electroforesis de gel. Los cebadores P1/P2 y 3'NCR producen 243 pares de bases (bp) y 220 bp amplicón, respectivamente.

El método de Wetzel *et al.* (1991) se evaluó analizando extractos de PPV de áreas mediterráneas (Chipre, Egipto, España, Francia, Grecia y Turquía). En el ensayo se pudieron detectar 10 fg de ARN viral, correspondiente a 2 000 partículas virales (Wetzel *et al.*, 1991). El método de Levy y Hadidi (1994) se evaluó con extractos de PPV de Alemania, Egipto, España, Francia, Grecia, Hungría, Italia y Rumania.

3.3.2 Inmuncaptura seguida de reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (RT-PCR)

La fase de inmuncaptura debería realizarse siguiendo las indicaciones de Wetzel *et al.* (1992), con savia vegetal extraída como se indica en [la sección apartado 3.2](#) y utilizando tubos [o bolsas](#) de plástico individuales para evitar la contaminación.

Preparar una [disolución dilución](#) (1 µg ml⁻¹) de anticuerpos policlonales o de un anticuerpo [monoclonal](#) específico [monoelonal](#) de PPV (5B-IVIA) en un tampón de carbonato de pH 9,6. Añadir 100 µl de anticuerpos diluidos en tubos de PCR e incubar a 37 °C durante 3 h. Lavar los tubos dos veces con 150 µl de PBS-Tween estéril (tampón de lavado). Enjuagar dos veces los tubos con agua libre de RNase. Aclarar 100 µl del extracto vegetal (véase [la sección apartado 3.2](#)) mediante centrifugación (5 min a 15 500 × g) y añadir el sobrenadante a los tubos para PCR. Incubar durante 2 h en hielo a una temperatura de 37 °C. Lavar los tubos tres veces con 150 µl de PBS-Tween estéril. Preparar la mezcla de reacción RT-PCR como se describe en [la sección apartado 3.3.1](#) utilizando los cebadores de Wetzel *et al.* (1992), y añadir directamente a los tubos de PCR. Amplificar como se describe en [la sección apartado 3.3.1](#).

La IC-RT-PCR requiere generalmente el empleo de anticuerpos específicos, aunque con los métodos de enlace directo [puede podrá](#) eliminarse esta necesidad. La IC-RT-PCR con anticuerpo monoclonal 5B-IVIA ha sido validada en una prueba del anillo DIAGPRO mostrando una precisión del 82 % en la detección del PPV (Cambra *et al.*, 2006c; Olmos *et al.*, 2007). Capote *et al.* (2009) informaron de una probabilidad del 95,8% de que un resultado positivo obtenido en invierno mediante IC-RT-PCR con el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA fuera un valor positivo auténtico.

3.3.3 Transcripción inversa cooperativa seguida de reacción en cadena de la polimerasa

Los cebadores RT-PCR utilizados en este ensayo cooperativo (Co)-RT-PCR son los cebadores de Olmos, Bertolini y Cambra (2002):

Cebador interno P1 (5'-ACC GAG ACC ACT ACA CTC CC-3')

Cebador interno P2 (5'-CAG ACT ACA GCC TCG CCA GA-3')

Cebador externo P10 (5'-GAG AAA AGG ATG CTA ACA GGA-3')

Cebador externo P20 (5'-AAA GCA TAC ATG CCA AGG TA-3')

La mezcla de reacción de 25 μ l está formada por los siguientes componentes: 0,1 μ M de cebadores P1 y P2, 0,05 μ M de cebadores P10 y P20, 400 μ M de dNTP, 2 unidades de transcriptasa inversa AMV, 1 unidad de polimerasa de ADN Taq, 10 \times tampones de reacción de 2 μ l, 3 mM de MgCl₂, un 5 % de DMSO, un 0,3 % de Triton X-100 y 5 μ l de molde de ARN. La RT-PCR se produce en las condiciones de termociclado descritas a continuación: 45 min a 42 °C, 2 min a 94 °C, 60 ciclos de 15 s a 94 °C, 15 s a 50 °C y 30 s a 72 °C, seguido de una extensión final de 10 min a 72 °C.

La reacción RT-PCR se une a la detección colorimétrica de amplicones usando una sonda universal de PPV marcada con dioxigenina (DIG) en el extremo 3' (5'-TCG TTT ATT TGG CTT GGA TGG AA-DIG-3') como se indica a continuación. Desnaturalizar el ADNc amplificado a 95 °C durante 5 min e inmediatamente colocar en hielo. Colocar 1 μ l de muestra en una membrana de nailon. Secar la membrana a temperatura ambiente y entrecruzar UV en un transiluminador durante 4 min a 254 nm. Para la prehibridación, colocar la membrana en un tubo de hibridación a 60 °C durante 1 h utilizando un tampón de hibridación estándar. Descartar la solución y llevar a cabo la hibridación mezclando la sonda marcada con 3'DIG con un tampón de hibridación estándar en una concentración final de 10 pmol ml⁻¹, antes de incubar durante 2 h a 60 °C. Lavar la membrana dos veces durante 15 min a temperatura ambiente con 2 x solución de lavado y dos veces durante 15 min a temperatura ambiente con 0,5 x solución de lavado. Equilibrar la membrana durante 2 min en un tampón de lavado antes de ~~la germinación~~ remojarla durante 30 min en una solución de bloqueo al 1 % (1 g de reactivo de bloqueo disuelto en 100 ml de tampón de ácido maleico) esterilizada. Incubar la membrana a temperatura ambiente con anticuerpos anti-DIG conjugados con fosfatasa alcalina en una concentración de trabajo de 1:5 000 (150 unidades litro⁻¹) en una solución de bloqueo al 1 % (p/v) durante 30 min. Lavar la membrana dos veces durante 15 min con tampón de lavado, y equilibrar durante 2 min con tampón de detección (100 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, pH 9,5). La solución de sustrato se prepara mezclando una solución de 45 μ l NBT (75 mg ml⁻¹ sal de nitroazul de tetrazolio en un 70 % (v/v) dimetilformamida) y una solución de 35 μ l BCIP (50 mg ml⁻¹ 5-bromo-4cloro-3indol fosfato, sal de toluidina en un 100 % de dimetilformamida) en 10 ml de tampón de detección. Después de la incubación con el sustrato detener la reacción lavando con agua.

Este método fue 100 veces más sensible que la RT-PCR usando el ensayo de Wetzel *et al.* (1991) (Olmos, Bertolini y Cambra, 2002). Fue validado en la prueba del anillo de DIAGPRO y tuvo una precisión del 94 % (Cambra *et al.*, 2006c; Olmos *et al.*, 2007).

3.3.4 Transcripción inversa en tiempo real de la reacción en cadena de la polimerasa

La RT-PCR en tiempo real se puede llevar a cabo tanto mediante la prueba de TaqMan como con la del SYBR Green I. Se han descrito dos métodos de TaqMan para la detección universal del PPV (Schneider *et al.*, 2004 y Olmos *et al.*, 2005). En el primer ensayo se utilizaron los cebadores y la sonda TaqMan que se especifican en Schneider *et al.* (2004):

Cebador directo (5'-CCA ATA AAG CCA TTG TTG GAT C-3')

Cebador inverso (5'-TGA ATT CCA TAC CTT GGC ATG T-3')

Sonda TaqMan (5'-FAM-CTT CAG CCA CGT TAC TGA AAT GTG CCA-TAMRA-3').

La composición de la mezcla de reacción de 25 μ l es la siguiente: 1 \times mezcla de reacción (0,2 mM de cada uno de los dNTP y 1,2 mM de MgSO₄); 200 nM de los cebadores directos e inversos; 100 nM de

sonda TaqMan; 4,8 mM de MgSO₄; 0,5 µl de *RT/Platinum[®] Taq Mix* (equipo *Superscript[™] One-Step RT-PCR with Platinum[®] Taq¹*; Invitrogen) y 5 µl de molde de ARN. El proceso de RT-PCR se efectúa en las siguientes condiciones de termociclado: 15 min a 52 °C, 5 min a 95 °C, 60 ciclos de 15 s a 95 °C, y 30 s a 60 °C. Los productos obtenidos tras la PCR se analizan en tiempo real según las instrucciones del fabricante del equipo.

El método que se ilustra ende Schneider *et al.* (2004) se evaluó analizando extractos de PPV de los Estados Unidos, las cepas PPV-C, PPV-D, PPV-EA y PPV-M, así como ~~ocho~~ otras ocho especies víricas distintas. Este método resultó preciso-específico y capaz de detectar sistemáticamente ARN vírico de entre 10-20 fg (Schneider *et al.* 2004). También podría detectar ~~los~~ PPV en diversos hospedantes, así como en las hojas, tallos, yemas y raíces de *P. persica*.

En el segundo ensayo se utilizaron los cebadores y la sonda TaqMan que se especifican en Olmos *et al.* (2005):

Cebador P241 (5'-CGT TTA TTT GGC TTG GAT GGA A-3')

Cebador P316D (5'-GAT TAA CAT CAC CAG CGG TGT G-3')

Cebador P316M (5'-GAT TCA CGT CAC CAG CGG TGT G-3')

Sonda PPV-DM (5'-FAM-CGT CGG AAC ACA AGA AGA CGA CAC AGA-TAMRA-3').

La composición de la mezcla de reacción de 25 µl es la siguiente: 1 µM de cebador P241; 0,5 µM de cada uno de los cebadores P316D y P316M; 200 nM de sonda TaqMan; 1 × *TaqMan Universal PCR Master Mix* (Applied Biosystems)²; 1 × *MultiScribe and RNase Inhibitor Mix* (Applied Biosystems)³ y 5 µl de molde de ARN. El proceso RT-PCR se efectúa en las siguientes condiciones de termociclado: 30 min a 48 °C, 10 min a 95 °C, 40 ciclos de 15 s a 95 °C, 60 s a 60 °C, y un rápido enfriamiento hasta alcanzar la temperatura ambiente. Los productos obtenidos tras la PCR se analizan en tiempo real según las instrucciones del fabricante.

El método que se ilustra en de Olmos *et al.* (2005) se evaluó utilizando tres extractos de PPV-D y tres de PPV-M y resultó ser 1 000 veces más sensible que el análisis DASI-ELISA usando el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA. El porcentaje de positivos reales (número de positivos reales diagnosticados mediante la técnica aplicada/número de plantas infectadas por PPV) identificados correctamente mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real usando TaqMan (Olmos *et al.*, 2005) y ~~de~~ ácido nucleico purificado fue del 97,5 % frente al 93,6 % obtenido mediante la RT-PCR en tiempo real usando muestras manchadas, el 91,5 % obtenido mediante la inmunocaptura RT-PCR o el 86,6 % mediante DASI-ELISA usando el anticuerpo monoclonal 5B-IVIA (Capote *et al.*, 2009).

Varga y James (2005) describieron una técnica basada en la prueba del SYBR Green I para detectar PPV e identificar, al mismo tiempo, las cepas D y M:

P1 (5'-ACC GAC ACC ACT ACA CTC CC-3')

PPV-U (5'-TGA AGG CAG CAG CAT TGA GA-3')

PPV-FD (5'-TCA ACG ACA CCC GTA CGG GC-3')

¹ El uso de la marca Invitrogen para el equipo *Superscript[™] One-Step RT-PCR with Platinum[®] Taq* en este protocolo de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también puedan ser adecuados. Esta información se ofrece únicamente para ayudar a los usuarios de este protocolo y no constituye un aval por parte de la CMF del producto químico, el reactivo o el equipo mencionados. Pueden usarse otros productos equivalentes si se demuestra que permiten obtener los mismos resultados.

² El uso de la marca Applied Biosystems para la *TaqMan Universal PCR Master Mix* y la *MultiScribe and RNase Inhibitor Mix* en este protocolo de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros productos que también puedan ser adecuados. Esta información se ofrece únicamente para ayudar a los usuarios de este protocolo y no constituye un aval por parte de la CMF del producto químico, el reactivo o el equipo mencionados. Pueden usarse otros productos equivalentes si se demuestra que producen los mismos resultados.

³ Véase la nota a pie de página n.º 2.

PPV-FM (5'-GGT GCA TCG AAA ACG GAA CG-3')

PPV-RR (5'-CTC TTC TTG TGT TCC GAC GTT TC-3').

Para asegurar la correcta realización del ensayo podrán incluirse los siguientes cebadores de control interno:

Nad5-F (5'-GAT GCT TCT TGG GGC TTC TTG TT-3')

Nad5-R (5'-CTC CAG TCA CCA ACA TTG GCA TAA-3').

Se usa un protocolo de RT-PCR de dos fases. La composición de la reacción de RT es la siguiente: 2 µl de 10 µM de cebador P1; 2 µl de 10 µM de cebador Nad5-R; 4 µg de ARN total y 5 µl de agua. Incubar durante 5 min a 72 °C colocándola en hielo. Añadir 4 µl de 5 × tampón de primera cadena (Invitrogen)⁴; 2 µl de 0,1 M de DTT; 1 µl de 10 mM de dNTP; 0,5 µl de *RNaseOUT*TM (40 unidades µl⁻¹) (Invitrogen)⁵; 1 µl de *Superscript*TM II (Invitrogen)⁶ y 2,5 µl de agua. Incubar a 42 °C durante 60 min, seguidos de 5 min a 99 °C. La composición de la reacción de mezcla de la PCR de 25 µl es la siguiente: 400 nM de cebador PPV-U; 350 nM de cebador PPV-FM; 150 nM de cebador PPV-FD; 200 nM de cebador PPV-RR; 100 nM de cebador Nad5-F; 100 nM de cebador Nad5-R; 200 µM de dNTP; 2 mM de MgCl₂; 1 × tampón Karsai (Karsai *et al.*, 2002); SYBR Green I de 1:42 000 (Sigma)⁷ y 0,1 µl de *Platinum*[®] *Taq DNA high fidelity polymerase* (Invitrogen)⁸. Verter la mezcla de la reacción junto con 1 µl de ADNc diluido (1:4) en un tubo PCR estéril. El proceso de PCR se efectúa en las siguientes condiciones de termociclado: 2 min a 95 °C, 39 ciclos de 15 s a 95 °C y 60 s a 60 °C. El análisis de la curva de fusión se ha realizado mediante incubación de 60 °C a 95 °C a 0,1 °C s⁻¹ ajustando la curva suavizada a un promedio de 1 punto. Aplicando las condiciones de Varga y James (2005), las temperaturas de fusión de cada producto son:

Detección universal de PPV (fragmento de 74 bp): 80,08-81,52 °C

Cepas D (fragmento de 114 bp): 84,3-84,43 °C

Cepas M (fragmento de 380 bp): 85,34-86,11 °C

Control interno (fragmento de 181 bp): 82,45-82,63 °C.

El método de Varga y James (2005) se evaluó usando extractos de PPV-C, PPV-D, PPV-EA, PPV-M y una cepa no caracterizada, en las especies *Nicotiana* y *Prunus*.

4. Identificación de las cepas

En ~~esta sección~~ ~~este apartado~~ se describen métodos adicionales (que utilizan DASI-ELISA, RT-PCR, Co-RT-PCR y RT-PCR en tiempo real) para identificar las cepas de PPV (véase la figura 1). ~~Pese a que la determinación-identificación~~ de la cepa ~~que se presenta~~ no es un componente esencial de la identificación del PPV, ~~pero alguna-una~~ ONPF podrá desear ~~conocerla-determinarla~~ con el fin de ayudar, ~~por ejemplo~~, a predecir su comportamiento epidemiológico.

⁴ El uso de la marca Invitrogen para el tampón de primera cadena, RNaseOUTTM, SuperscriptTM II y Platinum[®] Taq DNA high fidelity polymerase en este protocolo de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también puedan ser adecuados. Esta información se ofrece únicamente para ayudar a los usuarios de este protocolo y no constituye un aval por parte de la CMF del producto químico, el reactivo o el equipo mencionados. Pueden usarse otros productos equivalentes si se demuestra que producen los mismos resultados.

⁵ Véase la nota a pie de página n.º 4.

⁶ Véase la nota a pie de página n.º 4.

⁷ El uso de la marca Sigma para el Sybr Green I en este protocolo de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también puedan ser adecuados. Esta información se ofrece únicamente para ayudar a los usuarios de este protocolo y no constituye un aval por parte de la CMF del producto químico, el reactivo o el equipo mencionados. Pueden usarse otros productos equivalentes si se demuestra que producen los mismos resultados.

⁸ Véase la nota a pie de página n.º 4.

Debido a la variabilidad de los PPV, las técnicas que no consisten en secuenciar ni se basan en determinados ensayos PCR (véase más adelante) podrán dar lugar a resultados erróneos para un pequeño porcentaje de extractos. Sin embargo, mediante las técnicas serológicas o moleculares descritas a continuación (Cambra *et al.*, 2006a; Candresse y Cambra, 2006; Capote *et al.*, 2006) es posible, en general, diferenciar los PPV de tipo D y M entre sí.

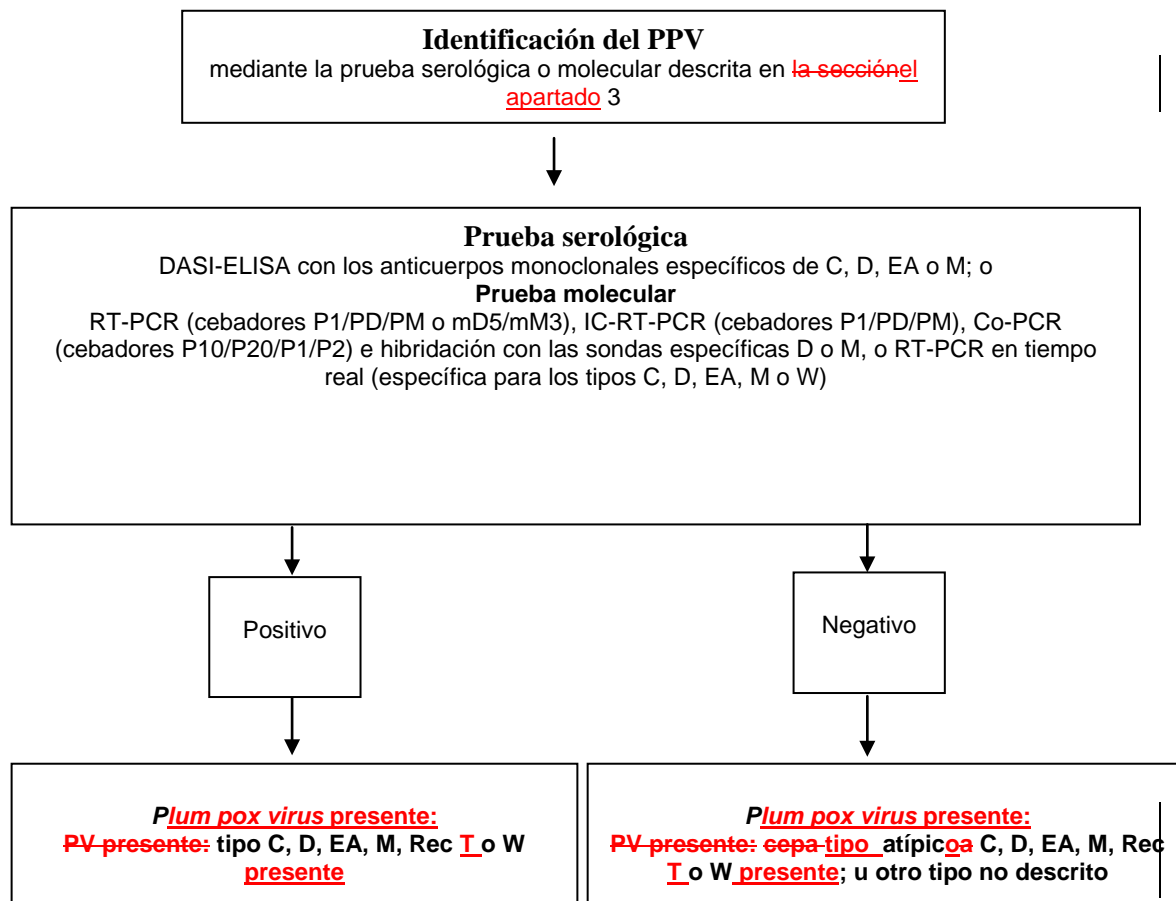


Figura 1: Métodos para identificar las cepas del PPV

En los casos en que alguna-la ONPF exija una identificación más confiable del tipo de PPV, podrán llevarse a cabo otras pruebas. En presencia de tipos no descritos o atípicos también se debería determinar la secuencia completa del genoma del PPV, la secuencia total o parcial de la proteína de cobertura, P3-6K1, y los genes que codifican la proteína de inclusión citoplasmática.

4.1 Identificación serológica de las cepas

Según se establece en Cambra *et al.* (1994), para diferenciar los dos principales tipos de PPV (D y M) debería llevarse a cabo la prueba de DASI-ELISA usando anticuerpos monoclonales específicos de D y M (Cambra *et al.*, 1994; Boscia *et al.*, 1997) y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Este método se ha validado mediante la prueba del anillo de DIAGPRO; los resultados indican una precisión del 84 % para la cepa PPV-D y del 89 % para la PPV-M (Cambra *et al.*, 2006c; Olmos *et al.*, 2007). El anticuerpo monoclonal 4D es específico del PPV-D pero no reacciona con todos sus extractos. Por otra parte, el anticuerpo monoclonal utilizado para detectar el PPV-M reacciona con extractos pertenecientes a las cepas M, Rec y T, ya que estos grupos contienen la misma secuencia de proteína de cobertura. En consecuencia, para diferenciar entre los tipos M, Rec y T es necesario realizar una prueba molecular usando un anticuerpo monoclonal específico de la cepa M.

La identificación serológica de los extractos de PPV de los grupos EA y C puede realizarse mediante la prueba DASI-ELISA usando los anticuerpos monoclonales específicos de EA y/o C que se describen en Myrta *et al.* (1998, 2000). Sin embargo, es necesario validar estas pruebas.

4.2 Identificación molecular de las cepas

4.2.1 Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa

Las cepas PPV-D y PPV-M se identifican usando los cebadores descritos en Olmos *et al.* (1997):

P1 (5'-ACC GAC ACC ACT ACA CTC CC-3')

PD (5'-CTT CAA CGA CAC CCG TAC GG-3') o PM (5'-CTT CAA CAA CGC CTG TGC GT -3').

La composición de la mezcla de reacción de 25 µl es la siguiente: 1 µM de cebador P1; 1 µM de cebador PD o bien PM; 250 µM de dNTP; 1 unidad de transcriptasa inversa AMV (10 unidades µl⁻¹); 0,5 unidades de polimerasa de ADN Taq (5 unidades µl⁻¹); 10 × tampón Taq polimerasa de 2,5 µl; 1,5 mM de MgCl₂; 0,3 % de tritón X-100, 2 % de formamida y 5 µl de molde de RNA. El proceso RT-PCR se efectúa en las siguientes condiciones de termociclado: 45 min a 42 °C, 2 min a 94 °C, 40 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s a 60 °C y 1 min a 72 °C, seguido de 10 min a 72 °C como extensión final. Los productos obtenidos tras la PCR se analizan por electroforesis de gel. Los cebadores P1/PD y P1/PM producen un amplicón de 198 bp. Este método se evaluó usando seis extractos de PPV-D y cuatro de PPV-M.

El PPV-Rec se identifica usando los cebadores mD5/mM3, que son los específicos de dicha cepa descritos en Šubr, Pittnerova y Glasa (2004):

mD5 (5'-TAT GTC ACA TAA AGG CGT TCT C-3')

mM3 (5'-CAT TTC CAT AAA CTC CAA AAG AC-3').

La composición de la mezcla de reacción de 25 µl es la siguiente (modificada a partir de Šubr, Pittnerova y Glasa, 2004): 1 µM de cada cebador; 250 µM de dNTP; 1 unidad de transcriptasa inversa AMV (10 unidades µl⁻¹); 0,5 unidades de polimerasa de ADN Taq (5 unidades µl⁻¹); 10 × tampón de polimerasa Taq de 2,5 µl; 2,5 mM de MgCl₂; 0,3 % de tritón X-100 y 5 µl de ARN extraído (véase [la sección el apartado 3.3](#)). Los productos de 605 bp obtenidos tras la PCR se analizan por electroforesis de gel.

4.2.2 Inmuncaptura seguida de reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa

La fase de inmuncaptura debería llevarse a cabo tal como se describe en [la sección el apartado 3.3.2](#). La mezcla de reacción de la PCR se vierte directamente a los tubos PCR. Para diferenciar las cepas PPV-D y PPV-M se procede tal como se describe en [la sección el apartado 4.2.1](#).

4.2.3 Transcripción inversa cooperativa, reacción en cadena de la polimerasa

Para identificar las cepas PPV-D o PPV-M se debería proceder tal como se indica en la sección 3.3.3 usando sondas marcadas con DIG en el extremo 3' y específicas de las cepas D y M (Olmos, Bertolini y Cambra, 2002):

Sonda específica de PPV-D: 5'-CTT CAA CGA CAC CCG TAC GGG CA-DIG-3'

Sonda específica de PPV-M: 5'-AAC GCC TGT GCG TGC ACG T-DIG-3'.

La fase de hibridación, y la previa a ella, se llevan a cabo a 50 °C con tampones estándares de hibridación previa e hibridación y un 30 % o 50 % de formamida (para identificar las cepas PPV-D o PPV-M, respectivamente). La solución de bloqueo se usa al 2 % (p/v).

4.2.4 Transcripción inversa en tiempo real, reacción en cadena de la polimerasa

En particular, las cepas PPV-D y PPV-M se identifican mediante la prueba química del SYBR Green I tal como se describe en Varga y James (2005) (véase [la sección el apartado 3.3.4](#)) o mediante el método de TaqMan descrito en Capote *et al.* (2006).

Los cebadores y las sondas TaqMan que se usan en el método descrito en Capote *et al.* (2006) son

Cebador PPV-MGB-F (5'-CAG ACT ACA GCC TCG CCA GA-3')

Cebador PPV-MGB-R (5'-CTC AAT GCT GCT GCC TTC AT-3')

Sonda MGB-D (5'-FAM-TTC AAC GAC ACC CGT A-MGB-3')

Sonda MGB-M (5'-FAM-TTC AAC AAC GCC TGT G-MGB-3').

La composición de la mezcla de reacción de 25 μ l es la siguiente: 1 μ M de cada cebador; 150 nM de sonda MGB-D o MGB-M marcadas con FAM; 1 \times *TaqMan Universal PCR Master Mix*⁹ (Applied Biosystems), 1 \times *MultiScribe and RNase Inhibitor Mix*¹⁰ (Applied Biosystems) y 5 μ l de molde de ARN. El proceso de transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa se efectúa en las siguientes condiciones de termociclado: 30 min a 48 °C, 10 min a 95 °C, 40 ciclos de 15 s a 95 °C y 60 s a 60 °. Los productos obtenidos tras la PCR se analizan en tiempo real según las instrucciones del fabricante. Este método se evaluó usando 12 extractos de la cepa PPV-D y 12 más de la PPV-M, así como 14 muestras infectadas por ambas cepas a la vez.

En particular, las cepas PPV-C, PPV-EA y PPV-W se identificaron usando SYBR Green I tal como describe el método de Varga y James (2006). Los cebadores que se utilizan para aplicar esta técnica son:

P1 (5'-ACC GAC ACC ACT ACA CTC CC-3')

PPV-U (5'-TGA AGG CAG CAG CAT TGA GA-3')

PPV-RR (5'-CTC TTC TTG TGT TCC GAC GTT TC-3').

Para asegurar la correcta realización del ensayo se podrán incluir los siguientes cebadores de control interno:

Nad5-F (5'-GAT GCT TCT TGG GGC TTC TTG TT-3')

Nad5-R (5'-CTC CAG TCA CCA ACA TTG GCA TAA-3').

La composición de la reacción de RT-PCR de 25 μ l es la siguiente: 2,5 μ l de una solución acuosa 1:10 (v/v) de ARN extraído (véase ~~la sección~~ [el apartado](#) 3.3) y 22,5 μ l de mezcla maestra. La composición de la mezcla maestra es la siguiente: 2,5 μ l de tampón Karsai (Karsai *et al.*, 2002); 0,5 μ l de cada uno de los 5 μ M cebadores de PPV-U, PPV-RR o P1, Nad5R y Nad5F; 0,5 μ l de 10 mM de dNTP; 1 μ l de 50 mM de MgCl₂; 0,2 μ l de *RNaseOUT* (40 unidades μ l⁻¹, Invitrogen)¹¹; 0,1 μ l de *Superscript™ III* (200 unidades μ l⁻¹, Invitrogen)¹²; 0,1 μ l de *Platinum® Taq DNA high fidelity polymerase* (5 unidades μ l⁻¹, Invitrogen)¹³; y 1 μ l de SYBR Green I (Sigma)¹⁴ de 1:5 000 (en TE, pH

⁹ El uso de la marca Applied Biosystems para la *TaqMan Universal PCR Master Mix* y *MultiScribe* y la *RNase Inhibitor Mix* en este protocolo de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros productos que también puedan ser adecuados. Esta información se ofrece únicamente para ayudar a los usuarios de este protocolo y no constituye un aval por parte de la CMF del producto químico, el reactivo o el equipo mencionados. Pueden usarse otros productos equivalentes si se demuestra que permiten obtener los mismos resultados.

¹⁰ Véase la nota a pie de página n.º 9.

¹¹ El uso de la marca Invitrogen para *RNaseOUT™*, *Superscript™ II* y *Platinum® Taq DNA high fidelity polymerase* en este protocolo de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también puedan ser adecuados. Esta información se ofrece únicamente para ayudar a los usuarios de este protocolo y no constituye un aval por parte de la CMF del producto químico, el reactivo o el equipo mencionados. Pueden usarse otros productos equivalentes si se demuestra que producen los mismos resultados.

¹² Véase la nota a pie de página n.º 11.

¹³ Véase la nota a pie de página n.º 11.

¹⁴ El uso de la marca Sigma para el Sybr Green I en este protocolo de diagnóstico no implica su aprobación ni la exclusión de otros que también puedan ser adecuados. Esta información se ofrece únicamente para ayudar a los

7,5) en 16,1 µl de agua. La reacción se efectúa en las siguientes condiciones de termociclado: 10 min a 50 °C, 2 min a 95 °C, 29 ciclos de 15 s a 95 °C y 60 s a 60 °C. El análisis de la curva de fusión se lleva a cabo mediante la incubación de 60 °C a 95 °C a una velocidad de fusión de 0,1 °C s⁻¹ ajustando la curva suavizada a un promedio de 1 punto. Siguiendo las condiciones de Varga y James (2006), las temperaturas de fusión de cada producto son:

Cepa C (fragmento de 74 bp): 79,84 °C

Cepa EA (fragmento de 74 bp): 81,27 °C

Cepa W (fragmento de 74 bp): 80,68 °C.

Este método se evaluó usando un extracto de cada una de las cepas PPV-C, PPV-D, PPV-EA y PPV-W.

5. Registros

Es necesario conservar los registros enumerados en [la sección el apartado 2.5](#) de la NIMF 27:2006.

En las situaciones en que los resultados del diagnóstico puedan repercutir sobre otras partes contratantes, en concreto en casos de incumplimiento o en zonas donde se detecta el virus por primera vez, se debería conservar también el siguiente material adicional:

- La muestra original (etiquetada adecuadamente para facilitar la rastreabilidad), que debe conservarse congelada a -80 °C o liofilizada y mantenida a temperatura ambiente.
- Cuando proceda, deberían conservarse extractos de ARN a -80 °C y/o extractos de plantas manchadas o impresos de secciones histológicas en membranas de papel o nailon a temperatura ambiente.
- Cuando proceda, los productos de la amplificación mediante RT-PCR deberían conservarse a una temperatura de -20 °C.

6. Puntos de contacto para información adicional

APHIS PPQ PHP RIPPS, Laboratorio de Diagnóstico Molecular, BARC Building 580, Powder Mill Road, Beltsville, Maryland 20705, Estados Unidos de América (Dr. Laurene Levy, correo electrónico: Laurene.Levy@aphis.usda.gov; Tel.: +1 3015045700; Fax: +1 3015046124).

Equipo de virología del Instituto Nacional de la Investigación Agronómica de Francia (INRA), Centro de Burdeos, UMR GD2P, IBVM, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, Francia (Dr. Thierry Candresse, correo electrónico: tc@bordeaux.inra.fr; Tel.: +33 557122389; Fax: +33 557122384).

Facultad de Horticultura, Departamento de Patología Vegetal, Universidad de Corvinus, Villányi út 29-43, H-1118 Budapest, Hungría (Dr. Laszlo Palkovics, correo electrónico: laszlo.palkovics@uni-corvinus.hu; Tel.: +36 14825438; Fax: +36 14825023).

Instituto de Virología, Academia Eslovaca de Ciencias, Dúbravská, 84505 Bratislava, Eslovaquia (Dr. Miroslav Glasa, correo electrónico: yirumig@savba.sk; Tel.: +421 259302447; Fax: +421 254774284).

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Carretera Moncada-Náquera km 5, 46113 Moncada, Valencia, España (Dr. Mariano Cambra, correo electrónico: mcambra@ivia.es; Tel.: +34 963424000; Fax: +34 963424001).

Instituto de Virología Vegetal del CNR, sección de Bari, via Amendola 165/A, I-70126 Bari, Italia (Dr. Donato Boscia, correo electrónico: d.boscia@ba.ivv.cnr.it; Tel.: +39 0805443067; Fax: +39 0805442911).

usuarios de este protocolo y no constituye un aval por parte de la CMF del producto químico, el reactivo o el equipo mencionados. Pueden usarse otros productos equivalentes si se demuestra que producen los mismos resultados.

Laboratorio de Sidney, Agencia de Inspección Alimentaria de Canadá (CFIA), Columbia Británica, V8L 1H3 Sidney, Canadá (Dr. Delano James, correo electrónico: Delano.James@inspection.gc.ca; Tel.: +1 250 3636650; Fax: +1 250 3636661).

Laboratorio de Virología, Centro Técnico Interprofesional de Frutas y Verduras (CTIFL), BP21 Lanxade, F-24130 La Force, Francia (Dr. Pascal Gentit, correo electrónico: gentit@ctifl.fr; Tel.: +33 553580005; Fax: +33 553 581742).

7. Agradecimientos

El presente protocolo de diagnóstico fue redactado por los doctores M. Cambra, A. Olmos y N. Capote, IVIA (véase [el apartado](#) anterior), el Sr. N.L. Africander, Departamento Nacional de Agricultura, Actividad Forestal y Pesca, Private Bag X 5015, Stellenbosch, 75999, Sudáfrica; Dr. L. Levy (véase [la sección el apartado](#) anterior); el Dr. S.L. Lenardon, IFFIVE-INTA, Cno. 60 Cuadras Km 51/2, Córdoba X5020ICA, Argentina; el Dr. G. Clover, Laboratorio Fitosanitario y Medioambiental, Ministerio de Agricultura y Silvicultura, PO Box 2095, Auckland 1140, Nueva Zelanda; y la Sra. D. Wright, Grupo Fitosanitario, Laboratorio de Central de Ciencia, Sand Hutton, York YO41 1LZ, Reino Unido.

8. Referencias

- Barba, M., Hadidi, A., Candresse, T. y Cambra, M.** 2011. *Plum pox virus*. En: A. Hadidi, M. Barba, T. Candresse y W. Jelkmann, eds. *Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits*, Capítulo 36. St. Paul, MN, APS Press. 428 págs.
- Boscia, D., Zeramdini, H., Cambra, M., Potere, O., Gorris, M. T., Myrta, A., DiTerlizzi, B. y Savino, V.** 1997. *Production and characterization of a monoclonal antibody specific to the M serotype of plum pox potyvirus*. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 477-480.
- CABI.** 2011. Compendio de protección de cultivos. <http://www.cabi.org/cpc/>, último acceso el 26 de octubre de 2011.
- Cambra, M., Asensio, M., Gorris, M. T., Pérez, E., Camarasa, E., García, J. A., Moya, J. J., López-Abella, D., Vela, C. y Sanz, A.** 1994. *Detection of plum pox potyvirus using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24: 569-577.
- Cambra, M., Boscia, D., Myrta, A., Palkovics, L., Navrátil, M., Barba, M., Gorris, M. T. y Capote, N.** 2006a. *Detection and characterization of Plum pox virus: serological methods*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36: 254-261.
- Cambra, M., Capote, N., Myrta, A. y Llácer, G.** 2006b. *Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36: 202-204
- Cambra, M., Capote, N., Olmos, A., Bertolini, E., Gorris, M. T., Africander, N. L., Levy, L., Lenardon, S. L., Clover, G. y Wright, D.** 2006b. *Proposal for a new international protocol for detection and identification of Plum pox virus. Validation of the techniques*. *Acta Horticulturae*, 781: 181-191.
- Candresse, T. y Cambra, M.** 2006. *Causal agent of sharka disease: historical perspective and current status of Plum pox virus strains*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36: 239-246.
- Capote, N., Bertolini, E., Olmos, A., Vidal, E., Martínez, M. C. y Cambra, M.** 2009. *Direct sample preparation methods for detection of Plum pox virus by real-time RT-PCR*. *International Microbiology* 12:1-6.
- Capote, N., Gorris, M. T., Martínez, M. C., Asensio, M., Olmos, A. y Cambra, M.** 2006. *Interference between D and M types of Plum pox virus in Japanese plum assessed by specific monoclonal antibodies and quantitative real-time reverse transcription-polymerase chain reaction*. *Phytopathology*, 96: 320-325.
- Damsteegt, V. D., Scorza, R., Stone, A. L., Schneider, W. L., Webb, K., Demuth, M. y Gildow, F. E.** 2007. *Prunus host range of Plum pox virus (PPV) in the United States by aphid and graft inoculation*. *Plant Disease*, 91: 18-23.

- Damsteegt, V. D., Waterworth, H. E., Mink, G. I., Howell, W. E. y Levy, L.** 1997. *Prunus tomentosa* as a diagnostic host for detection of *Plum pox virus* and other *Prunus* viruses. *Plant Disease*, 81: 329-332.
- Desvignes, J. C.** 1999. *Virus diseases of fruit trees*. Paris, CTIFL, Centr'imprint. 202 págs.
- EPPO.** 2004. *Diagnostic protocol for regulated pests: Plum pox virus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 34: 247-256.
- EPPO.** 2006. *Current status of Plum pox virus and sharka disease worldwide*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36: 205-218.
- García, J. A. y Cambra, M.** 2007. Plum pox virus and sharka disease: *Plant Viruses*, 1: 69-79.
- Gentit, P.** 2006. *Detection of Plum pox virus: biological methods*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36: 251-253.
- James, D. y Glasa, M.** 2006. *Causal agent of sharka disease: New and emerging events associated with Plum pox virus characterization*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36: 247-250.
- Karsai, A., Müller, S., Platz, S. y Hauser, M. T.** 2002. *Evaluation of a homemade SYBR Green I reaction mixture for real-time PCR quantification of gene expression*. *Biotechniques*, 32: 790-796.
- Levy, L. y Hadidi, A.** 1994. *A simple and rapid method for processing tissue infected with plum pox potyvirus for use with specific 3' non-coding region RT-PCR assays*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24: 595-604.
- Myrta, A., Potere, O., Boscia, D., Candresse, T., Cambra, M. y Savino, V.** 1998. *Production of a monoclonal antibody specific to the El Amar strain of plum pox virus*. *Acta Virologica*, 42: 248-250.
- Myrta, A., Potere, O., Crescenzi, A., Nuzzaci, M. y Boscia, D.** 2000. *Production of two monoclonal antibodies specific to cherry strain of plum pox virus (PPV-C)*. *Journal of Plant Nutrition*, 82 (supl. 2): 95-103.
- NIMF 27.** 2006. *Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas*. Roma, CIPF, FAO.
- NIMF 31.** 2008. *Metodologías para muestreo de envíos*. Roma, CIPF, FAO.
- Olmos, A., Bertolini, E. y Cambra, M.** 2002. *Simultaneous and co-operational amplification (Co-PCR): a new concept for detection of plant viruses*. *Journal of Virological Methods*, 106: 51-59.
- Olmos, A., Bertolini, E., Gil, M. y Cambra, M.** 2005. *Real-time assay for quantitative detection of non-persistently transmitted Plum pox virus RNA targets in single aphids*. *Journal of Virological Methods*, 128: 151-155.
- Olmos, A., Cambra, M., Dasi, M. A., Candresse, T., Esteban, O., Gorris, M. T. y Asensio, M.** 1997. *Simultaneous detection and typing of plum pox potyvirus (PPV) isolates by heminested-PCR and PCR-ELISA*. *Journal of Virological Methods*, 68: 127-137.
- Olmos, A., Capote, N., Bertolini, E. y Cambra, M.** 2007. *Molecular diagnostic methods for plant viruses*. En: Z. K. Punja, S. DeBoer y H. Sanfacon, eds. *Biotechnology and plant disease management*. pp. 227-249. Wallingford, UK y Cambridge, USA, CAB International. 574 págs.
- Osman, F. y Rowhani, A.** 2006. *Application of a spotting sample preparation technique for the detection of pathogens in woody plants by RT-PCR and real-time PCR (TaqMan)*. *Journal of Virological Methods*, 133: 130-136.
- PaDIL.** 2011. <http://old.padil.gov.au/pbt/>, último acceso 26 de octubre de 2011.
- Schneider, W. L., Sherman, D. J., Stone, A. L., Damsteegt, V. D. y Frederick, R. D.** 2004. *Specific detection and quantification of Plum pox virus by real-time fluorescent reverse transcription-PCR*. *Journal of Virological Methods*, 120: 97-105.
- Šubr, Z., Pittnerova, S. y Glasa, M.** 2004. *A simplified RT-PCR-based detection of recombinant Plum pox virus isolates*. *Acta Virologica*, 48: 173-176.

- Ulubaş Serçe, Ç., Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Krizbai, L., Gazel, M. y Çağlayan, K.** 2009. *Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in the Ankara province of Turkey.* *Virus Research*, 142: 121-126
- Varga, A. y James, D.** 2005. *Detection and differentiation of Plum pox virus using real-time multiplex PCR with SYBR Green and melting curve analysis: a rapid method for strain typing.* *Journal of Virological Methods*, 123: 213-220.
- Varga, A. y James, D.** 2006. *Real-time RT-PCR and SYBR Green I melting curve analysis for the identification of Plum pox virus strains C, EA, and W: Effect of amplicon size, melt rate, and dye translocation.* *Journal of Virological Methods*, 132: 146-153.
- Wetzel, T., Candresse, T., Macquaire, G., Ravelonandro, M. y Dunez, J.** 1992. *A highly sensitive immunocapture polymerase chain reaction method for plum pox potyvirus detection.* *Journal of Virological Methods*, 39: 27-37.
- Wetzel, T., Candresse, T., Ravelonandro, M. y Dunez, J.** 1991. *A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection.* *Journal of Virological Methods*, 33: 355-365.

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma

Este historia de la publicación se refiere sólo a la versión española. Para la historia completa de la publicación, consulte la versión en inglés de la norma

La CMF-7 (2012) adoptó l'Anexo 2 de la norma 27:2006

NIMF 27. 2006. **Anexo 2:** *Plum pox virus* (2012). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: junio 2012



NIMF 27

Anexo 3

**NORMAS INTERNACIONALES
PARA MEDIDAS
FITOSANITARIAS**

**NIMF 27 PROTOCOLOS DE DIAGNÓSTICO ~~DE LA~~
~~NIMF 27~~**

PD 3:

***Trogoderma granarium* Everts**

(2012)

ÍNDICE

1.	Información sobre la plaga	PD 3-3
2.	Información taxonómica.....	PD 3-5
3.	Detección.....	PD 3-5
4.	Identificación.....	PD 3-8
4.1	Procedimiento para la preparación de las larvas y exuvias larvárias	PD 3-10
4.2	Procedimiento para la preparación de adultos.....	PD 3-11
4.3	Géneros de la familia Dermestidae que se encuentran con frecuencia en productos almacenados	PD 3-13
4.3.1	Diferenciación de las larvas de derméstidos	PD 3-13

4.4	Identificación de las larvas de <i>Trogoderma</i>	PD 3-14
4.4.1	Características distintivas de las larvas de <i>Trogoderma</i>	PD 3-15
4.4.2	Identificación del último estado larvario de <i>Trogoderma</i>	PD 3-15
4.4.3	Características distintivas de las larvas de <i>Trogoderma granarium</i>	PD 3-17
4.4.4	Descripción de las larvas de <i>Trogoderma granarium</i>	PD 3-17
4.5	Identificación de los adultos de <i>Trogoderma</i>	PD 3-18
4.5.1	Diferenciación de los adultos de derméstidos	PD 3-18
4.5.2	Características distintivas de los adultos de <i>Trogoderma</i>	PD 3-19
4.5.3	Identificación de los adultos de <i>Trogoderma</i>	PD 3-19
4.5.4	Características distintivas de adultos de <i>Trogoderma granarium</i>	PD 3-22
4.5.5	Descripción de los adultos de <i>Trogoderma granarium</i>	PD 3-23
5.	Registros	PD 3-25
6.	Puntos de contacto para información adicional	PD 3-25
7.	Reconocimientos.....	PD 3-25
8.	Bibliografía	PD 3-26
9.	Figuras	PD 3-30

1. Información sobre la plaga

Trogoderma granarium Everts (Coleoptera: Dermestidae), es una plaga de los productos almacenados ~~que tiene una de~~ gran importancia. Su importancia económica no se deriva solamente del grave daño que puede causar a los productos secos almacenados, sino también de las restricciones a la exportación que afrontan los países cuando tienen poblaciones establecidas de esta plaga. Las poblaciones vivas pueden mantenerse en contenedores sin limpiar, en materiales de embalaje y en ~~almacenes-bodegas~~ de carga por largos períodos de tiempo infestando ~~al nuevo-material no hospedante~~. *Trogoderma granarium* también ~~podrá~~ puede aumentar la posibilidad de contaminación por *Aspergillus flavus* (Sinha y Sinha, 1990).

~~Se cree que~~ *Trogoderma granarium* puede haberse originado en el subcontinente indio y ahora está presente en algunas ~~zonas-áreas~~ de Asia, Oriente Medio, África y algunos países de Europa. Se trata de una de las escasísimas plagas de productos almacenados con una distribución limitada. Se encuentra entre los 35° de latitud norte y los 35° de latitud sur, pero ~~tiene incidencia está presente~~ principalmente en regiones cercanas al Ecuador en ~~entornos-ambientes~~ secos y cálidos. ~~No obstante~~, las poblaciones viables deberían tener capacidad de supervivencia en casi cualquier país en un ~~entorno-ambiente~~ cerrado de almacenamiento. *T. granarium* tiene una capacidad muy limitada de ~~difusión-dispersión~~ sin ayuda humana porque no puede volar, de modo que el movimiento internacional de productos hospedantes parece ser el único medio de ~~difusión dispersión~~ de la plaga. Es muy importante distinguir entre registros que se relacionan con intercepciones de la plaga en productos importados (es decir, el hallazgo en el producto durante el control fitosanitario fronterizo sin ~~mayor-difusión dispersión posterior~~) y los de infestaciones establecidas (EPPO, 2011).

T. granarium generalmente se encuentra en diversos productos almacenados secos, principalmente de origen vegetal. Los ~~huéspedes-hospedantes principales~~ son cereales, ~~alforforítrigo sarraceno~~, productos derivados de cereales, legumbres, alfalfa, diversas semillas ~~vegetales de hortalizas~~, hierbas, especias y diversos frutos secos. Puede completar también con éxito su ciclo de vida en la ~~coprapulpa seca de coco~~, los frutos secos y distintas resinas, así como muy diversos productos desecados de origen total o parcialmente animal, como leche en polvo, pieles, comida desecada para perros, sangre seca, insectos muertos y canales de animales desecadas. Como plaga, su máxima prevalencia se da ~~en unas~~ condiciones ~~de sequedad secas~~ y ~~calor cálidas~~, en cuyo caso pueden producirse infestaciones muy ~~intensasseveras~~. En condiciones de menor temperatura, y también en condiciones de calor y humedad, tiende a ser superada, como plaga, por la competencia de otras especies como *Sitophilus* spp. y *Rhyzopertha dominica*

(Fabricius). Los productos almacenados en sacos en almacenes tradicionales ~~tienen mayor~~ están más expuestos al riesgo de ~~verse afectados por~~ esta plaga que los almacenados a granel.

La biología de *T. granarium* tiene algunas características importantes que permiten la supervivencia de la plaga en condiciones difíciles.

T. granarium puede tener de una a más de diez generaciones al año, según la disponibilidad y calidad del alimento, la temperatura y ~~la~~ humedad. Un ciclo de vida completo puede tener una duración de tan solo 26 días (a temperatura de 32-35°C) o de hasta 220 días o más en un ~~entorno~~ ambiente que no sea óptimo. En climas templados, las larvas quedan inactivas a temperaturas inferiores a 5°C, ~~en~~ por lo que la plaga puede sobrevivir y reproducirse ~~tan~~ solo en ~~medios~~ ambientes protegidos. Existen dos variaciones genéticas de larvas: las que pueden tener una diapausa facultativa y las que no tienen esa capacidad. Las larvas del primer tipo son estimuladas para entrar en diapausa por ~~las~~ condiciones adversas, tales como una temperatura baja o alta, o la falta de alimento. Durante la diapausa, su respiración disminuye hasta un nivel extraordinariamente bajo, y ello les proporciona una tolerancia a la fumigación. Las larvas que se encuentran en diapausa son, además, resistentes al frío y pueden sobrevivir a temperaturas inferiores a -10°C. Si las condiciones vuelven a ser favorables, la plaga es capaz de multiplicarse rápidamente y puede causar daños graves al producto (EPPO/CABI, 1997).

Hay otras especies de *Trogoderma* distintas de ~~l~~*T. granarium* que ~~pue~~ derán encontrarse también en los productos almacenados, pero solo algunas de ellas se alimentan de dichos productos. De ~~entre~~ estas especies, la que causa pérdidas económicas más importantes es *T. variabile* Ballion, que puede ocasionar daños económicos importantes y se considera plaga cuarentenaria en algunos países ~~se clasifica como plaga cuarentenaria~~. Sin embargo, la ~~mayor~~ mayoría de las parte de especies de *Trogoderma* que ~~se encuentran~~ están presentes en productos almacenados parecen ser necrófagos que se alimentan de los cuerpos muertos de otros insectos. Durante un estudio de 12 años llevado a cabo en California, se ~~identificaron~~ encontraron ocho especies de *Trogoderma* en semillas almacenadas, piensos para animales y productos comestibles ~~básicos~~ (Strong y Okumura, 1966). Mordkovich y Sokolov (1999) mencionan otras especies de *Trogoderma* que pueden hallarse en productos almacenados. ~~De e~~ Entre ellas, *T. longisetosum* Chao ~~et~~ y Lee se ha identificado como plaga de productos almacenados en China. Es muy similar a *T. glabrum* (Herbst). Algunas especies tropicales de *Trogoderma* pueden estar presentes también en productos almacenados (Delobel y Tran, 1993). Una de estas especies es *T. cavum* Beal, que fue descrita por Beal (1982) ~~tras el examen~~ luego de examinar de especímenes ~~de infestación del~~ que

[infestaban el](#) arroz almacenado en Bolivia. Algunas especies que se encuentran en productos almacenados se parecen mucho a *T. granarium*.

Para una información más general sobre *T. granarium*, véase la base de datos PQR de la EPPO (EPPO, 2011), así como Hinton (1945), Lindgren *et al.* (1955), Varshalovich (1963), Bousquet (1990) Kingsolver (1991), EPPO/CABI (1997), Pasek (1998), OIRSA (1999a), PaDIL (2011) y CABI (2011).

Dos organizaciones regionales de protección fitosanitaria – [el Organismo Internacional de Sanidad Agropecuaria \(OIRSA\)](#) (1999a) y [la Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas \(EPPO\)](#) (2002) – han publicado protocolos para el diagnóstico de *T. granarium*. El punto de partida para la elaboración de este protocolo fue el documento publicado por [la Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas \(EPPO\)](#) (2002).

2. Información taxonómica

Nombre: *Trogodermagranarium*Everts, 1898

Sinónimos: *Trogodermakhapra*Arrow, 1917

*Trogodermakoningsbergeri*Pic, 1933

*Trogodermaafrum*Priesner, 1951

*Trogodermagranarium*ssp. *afrum* Attia_&_Kamel, 1965

Nombres comunes: Khaprabeetle (inglés)

Trogoderme (dermeste) du grain, Dermeste des Grains (francés)

Trogoderma de los granos, ~~E~~escarabajo ~~K~~hapra, ~~G~~orgojo khapra (español)

ةيرعشلا بوبحل اءاسفنخ (árabe)

Posición taxonómica: Insecta: Coleoptera: Dermestidae

3. Detección

[El ciclo vital de](#) *Trogoderma granarium* ~~tiene~~ [comprende](#) las siguientes etapas del desarrollo ~~a lo~~ [largo de la vida](#): huevos sobre la superficie del grano y otros productos almacenados; larvas (5-11 estadios) en productos almacenados (pueden encontrarse larvas en el material de [envasado](#) [embalaje](#) o dentro de estructuras de almacenamiento); pupas en productos almacenados, en las exuvias larvarias finales (cutícula abandonada tras la muda); adultos en productos almacenados.

Los métodos ~~de detección de para detectarlas~~ infestaciones de *T. granarium* incluyen la inspección, la búsqueda física, el uso de cebos ~~de alimento alimenticios~~ y las trampas de feromonas. A menudo el material infestado contiene solo larvas ~~por los siguientes motivos debido a que~~: 1) la longevidad del adulto ~~suele seres generalmente~~ de entre 12 y 25 días, (~~pero puede alcanzar ser de los hasta~~ 147 días en condiciones ~~poco favorables desfavorables~~), mientras que la longevidad de las larvas ~~suele seres usualmente~~ de 19-190 días (y puede alcanzar los seis años en el caso de que las larvas entren en diapausa); 2) la ~~mayor parte mayoría~~ de las larvas de derméstidos ~~existentes presentes~~ en ~~el~~ productos almacenados consumen de manera parcial o total los adultos muertos; y 3) los adultos ~~alcanzanson más prevalentes la máxima incidencia~~ cuando las condiciones son favorables para el crecimiento de la población. Las exuvias larvianas no suelen ser consumidas, por lo que su presencia constituye un claro indicio de una posible infestación activa. Las larvas son extremadamente crípticas, por naturaleza. Esto ocurre en especial en el caso de larvas en diapausa, que pueden permanecer inactivas durante un período ~~de tiempo~~ largo en grietas y hendiduras, en donde son muy difíciles o casi imposibles de localizar.

Otras muchas especies de derméstidos pertenecientes a géneros distintos de *Trogoderma* pueden hallarse en productos almacenados. Con frecuencia se ~~observa encuentrana~~ especímenes de los géneros *Dermestes* y *Attagenus* alimentándose ~~4.1. idose~~ de materiales de origen animal como galletas para perros, carne seca y sangre desecada. También se alimentan de cadáveres de ratas, ratones y aves. Las especies de *Anthrenus* y *Anthrenocerus* pueden ser plagas graves de la lana y los productos elaborados con ella. En productos almacenados ~~gravemente fuertemente~~ infestados ~~fuertemente~~ con otras plagas de productos almacenados, suelen ~~haber incidencia encontrarse especies no plaga~~ de *Trogoderma*, *Anthrenus* y *Anthrenocerus* ~~no causantes de plagas~~ alimentándose de cuerpos muertos de ~~las estas~~ plagas.

Las infestaciones de *T. granarium* ~~suelen se reconocen usualmente identificarse por lo siguiente~~: 1) ~~la~~ presencia de la plaga (especialmente larvas que se están alimentando y exuvias) y 2) síntomas de infestación. ~~Los adultos que tienen una vida corta, a A veces no llegan a observarse, los individuos adultos, que tienen una vida breve.~~ Los daños causados a los productos pueden ser una señal de alarma, pero a menudo son consecuencia del proceso de alimentación de otras plagas comunes de los productos almacenados. Las larvas se alimentan generalmente en primer lugar del ~~germen la parte germinal~~ de las semillas de los cereales y luego del endosperma. La cáscara de la semilla es consumida de modo irregular. En los productos a granel, las infestaciones suelen concentrarse en las capas superficiales, en las que hay numerosas exuvias larvianas, setas rotas y deyecciones (excrementos) (Figura 1). Sin embargo, a veces pueden encontrarse larvas a una

profundidad de hasta 3-6 m en el grano a granel. Por consiguiente, es importante considerar el ~~sesgo del~~ muestreo sesgado al realizar inspecciones ~~en busea~~ de este ~~a el~~ tipo de plagas.

Deben inspeccionarse visualmente muestras de los productos sospechosos en una ~~zona~~ área bien iluminada, utilizando lupas de 10 aumentos. ~~En su caso~~ De ser apropiado, las muestras deberían pasarse por tamices con tamaños de orificio pertinentes ~~para el~~ al tamaño de partícula de los productos. Generalmente se emplean conjuntos de tamices con tamaños de orificio de 1, 2 y 3 mm. El material cribado mediante cada tamiz ~~se coloca~~ debería colocarse en placas de Petri para su examen a un mínimo de 10× a 25× aumentos utilizando un ~~alupa~~ binocular microscopio estereoscópico para detectar ~~el insecto de~~ la plaga. Esta técnica de cribado permite la detección de diversos estadios de ~~l~~ desarrollo ~~del insecto de~~ la plaga. Sin embargo, algunas larvas que se alimentan en el interior de los granos pueden pasar inadvertidas. Por tanto, ~~puede~~ drá resultar necesario calentar las muestras a 40° C para expulsar ~~a los insectos~~ las plagas de los granos mediante un instrumento extractor, como un embudo de ~~F~~ Berlese, especialmente en caso de infestación grave. La inspección visual es preferible al cribado, puesto que es fácil que ~~este éste~~ destruya o dañe gravemente a los adultos muertos y las exuvias larvianas, con lo que la identificación morfológica resultará muy difícil o imposible.

Las inspecciones de esta plaga resultan especialmente difíciles en los casos de bajos niveles de infestación ~~de baja intensidad~~. Las larvas de las especies de *Trogoderma* son muy activas al amanecer y durante el crepúsculo ~~ys~~ Sus poblaciones pueden persistir en pequeñas cantidades de residuos que pueden ~~quedar~~ permanecer en el interior de una estructura o ~~modo~~ medio de transporte. Las larvas que se encuentran en diapausa pueden sobrevivir durante largos períodos ~~de~~ tiempo sin alimento. Para encontrar las larvas en diapausa, es importante buscar bajo los montones de suciedad, escamas de pintura o herrumbre, y también en materiales de envasado embalaje vacíos, como bolsas de arpillera, lonas y cartones ondulados. Las larvas se ocultan a menudo tras el artesonado de paredes, bajo revestimientos interiores, entre entarimados, bajo los aislamientos, en repisas secas, en bandejas y tubos de cables eléctricos, cajas de interruptores, etc. Dado que las exuvias larvianas se transmiten muy fácilmente por el aire, deben ~~comprobarse~~ inspeccionarse los alféizares de las ventanas, las rejillas de los orificios de ventilación y las telarañas. Las trampas para roedores que contienen ~~cebos~~ que deberían ser siempre inspeccionadas as.

Además de las inspecciones iniciales, es posible ~~efectuar una vigilancia de~~ monitorear la presencia de *T. granarium* ~~con el empleo de~~ utilizando diversas trampas. Pueden usarse trampas con cebos de alimento alimenticios (que contienen semillas oleosas, cacahuets, germen de trigo,

etc.) o trampas ~~de atracción~~ atrayentes (que contienen aceite de germen de trigo) para atraer las larvas. Pueden colocarse en el suelo trampas sencillas que proporcionen a las larvas lugares que les permitan ocultarse, como pedazos de cartón ondulado o bolsas de arpillera. Después de ~~la~~ vigilancia monitoreo, deben destruirse todas las trampas. Los ~~insectos~~ adultos pueden detectarse con el empleo de trampas de feromonas en las que se combina la cápsula de feromona con una trampa adhesiva no desecante. Sin embargo, las trampas de feromonas para *Trogoderma* no son específicas para la especie y atraen a muchas especies diferentes de escarabajos derméstidos (Saplina, 1984; Barak, 1989; Barak *et al.*, 1990; Mordkovich y Sokolov, 2000). Existen en el mercado ~~comercializan~~ trampas con cebadas con cebos de feromonas y ~~también con cebos~~ de alimento.

Los insectos hallados deberían recogerse cuidadosamente con unas pinzas pequeñas o colectarse usando con el empleo de un aspirador. Es importante obtener múltiples especímenes ~~del insecto~~ de la plaga. La identificación de las larvas es difícil; si la disección de un único ejemplar no es satisfactoria y se producen daños graves en las piezas bucales, la identificación exacta es imposible. Los especímenes deberían conservarse en alcohol etílico al 70 % para su transporte en condiciones seguras si no se realiza inmediatamente la identificación en el mismo lugar.

4. Identificación

~~Según los estudios de los~~ En los últimos años, se ha informado que el género *Trogoderma* comprende 117 especies (Mroczkowski, 1968), 115 especies (Beal, 1982), 130 especies (Háva, 2003) y 134 especies (Háva, 2011). Existen otras muchas especies de *Trogoderma* que todavía no han sido descritas. Es preciso tener mucha precaución con las sinonimias establecidas puesto que pocas de ellas se basan en una comparación detallada de los especímenes tipo.

En la actualidad no es posible la identificación de ~~los~~ huevos y ~~las~~ pupas de *Trogoderma* sobre la base de sus características externas. Los huevos y las pupas del insecto poseen muy pocas características externas y, por tanto, se han estudiado poco. La identificación larvaria es difícil. Requiere experiencia en la identificación y pericia en la disección de insectos pequeños. La pupación tiene lugar en el último exoesqueleto larvario. Las exuvias larvarias pueden usarse para la identificación, pero es necesario tener mayor cuidado puesto que se trata de un material frágil. Los adultos son los más fáciles de identificar, si bien los errores de identificación ~~en~~ son aún son comunes, de manera por lo que es necesaria se requiere una capacitación para la preparación, el preparar, colocar en un portaobjetos montaje y la determinar determinación de especímenes de *Trogoderma*.

Un personal experimentado puede identificar los ~~insectos~~ adultos en buen ~~asestado~~ condiciones mediante el ~~examen con uso de un alupa binocular microscopio estereoscópico a de~~ entre 10× y 100× aumentos. Sin embargo, para una identificación fiable, se recomienda realizar siempre el examen de ~~los órganos genitales~~ la genitalia. El ~~desplazamiento~~ movimiento del producto almacenado, en especial ~~en el caso~~ de los cereales, dañará ~~los cuerpos de~~ los adultos muertos. En la mayoría ~~parte~~ de los casos, las patas y las antenas se desprenderán, y también se desprenderán por el roce las setas de los élitros y el pronoto. En el caso de ~~que el un~~ ejemplar ~~examinado esté~~ dañado ~~ya que le~~ falten partes del cuerpo o ~~haya con~~ características morfológicas no visibles, la identificación debería basarse siempre en el examen de ~~los genitales~~ la genitalia. La genitalia debería ~~Deben~~ extraerse ~~los genitales~~ (apartado 4.2) ~~para realizar una preparación temporal y montarse temporalmente~~ en un portaobjetos de microscopia excavado, utilizando glicerol, ~~o bien con el empleo de~~ medio ~~de preparación~~ de Hoyer (50 ml de agua, 30 g de goma arábica, 200 g de hidrato de cloral, 20 ml de glicerina¹) o un medio de ~~preparación montaje~~ similar.

Para las identificaciones larvarias, ~~deberían~~ disecarse y separarse las piezas bucales (apartado 4.1). Las exuvias larvarias y las piezas bucales disecadas ~~se utilizarán para realizar preparaciones deberían montarse~~ en portaobjetos de microscopia excavados, utilizando medio de Hoyer (Beal, 1960) u otro medio de ~~preparación montaje~~ como el alcohol polivinílico (PVA). En el apartado 4.1 se ~~presenta incluyen detalles de los procedimientos de montaje una información detallada sobre la forma de realizar las preparaciones.~~

La disección de los ~~insectos~~ adultos y las larvas puede realizarse con el empleo de un ~~alupa binocular microscopio estereoscópico a de~~ entre 10× y 40× aumentos. Para el examen de ~~los genitales~~ la genitalia y las piezas bucales larvarias, en especial las papilas de la epifaringe, es necesario disponer de un microscopio compuesto de buena calidad, que pueda proporcionar de 400× a 800× aumentos en un campo bien iluminado y con contraste de fase. Pueden ser necesarios ~~as ampliaciones aumentos~~ mayores (1000×) a fin de alcanzar una resolución más satisfactoria.

Se han ~~elaborado desarrollado~~ métodos para la identificación de un número limitado de especies ~~plaga~~ de *Trogoderma* ~~causantes de plagas~~, con el empleo de técnicas inmunológicas (prueba de ELISA ~~{ensayo con sustancias inmunoabsorbentes unidas a enzimas}~~) y técnicas moleculares con ~~finalidades propósitos~~ específicas. Dado que estos métodos todavía no permiten una distinción

¹ Algunos expertos prefieren el medio de preparación de Hoyer con un contenido de 16 ml de glicerina.

fiable e inequívoca entre *T. granarium* y otras especies de *Trogoderma* que pueden ~~hallarse estar presentes~~ en productos almacenados, todavía no pueden emplearse como técnicas de diagnóstico cuarentenario a efectos de la determinación de especímenes de insectos hallados durante la inspección de almacenes y de envíos ~~comerciales~~ de material ~~de plantación vegetal en el comercio~~. En la actualidad, se está investigando en este campo en los EE.UU. y en Australia.

4.1 Procedimiento para la preparación de las larvas y exuvias larvarias

Antes de la disección, ~~se examinará~~ la larva ~~debería ser examinarse~~ bajo un microscopio estereoscópico con una lupa binocular. Se ~~debería registrar~~ registrará el tamaño, el color corporal, y la disposición y color de las setas. La utilización de la fotografía microscópica proporciona un registro del material previo a la alteración por manipulación, lo que permite su interpretación independiente.

Para la su identificación, ~~de~~ las larvas, ~~estas~~ deberían ~~añadarse~~ montarse en una ~~preparación con~~ medio de Hoyer u otros medios como el PVA en un portaobjetos de microscopia, utilizando el siguiente método.

- (1) En primer lugar, se colocará el espécimen en el portaobjetos, preferiblemente con la cara ventral hacia arriba a fin de preservar los caracteres diagnósticos.
- (2) Se realiza una incisión para abrir todo el cuerpo a lo largo de la línea media, desde debajo de la cápsula cefálica hasta el último segmento abdominal, utilizando tijeras de cirugía ocular.
- (3) A continuación se coloca la larva en un tubo de ensayo que contenga una solución de hidróxido potásico (KOH) al 10% y se calienta al baño de agua hirviendo hasta que los tejidos larvales se aflojan y comienzan a separarse de la cutícula.
- (4) Se enjuaga abundantemente con agua destilada templada.
- (5) Se retiran todos los tejidos internos utilizando un cepillo de cerdas cortas y muy finas o la superficie convexa de una punta de gancho de un alfiler de entomología del número 1 o un asa hecha con un microalfiler. Se ~~deberían retirar~~ retiran todas las setas de un lado del ~~7.º y 8.º séptimo y octavo~~ 7.º y 8.º séptimo y octavo segmento abdominal; pueden utilizarse colorantes como la fucsina ácida o el negro clorazol para resaltar la visibilidad de las estructuras analizadas.
- (6) Se retira la cápsula cefálica y se vuelve a introducir en la solución de KOH durante 5 minutos. Se enjuaga abundantemente con agua destilada templada. La disección de la cabeza puede realizarse en unas pocas gotas de medio de ~~preparación montaje~~ de Hoyer o

- de glicerol sobre un portaobjetos de microscopia o bien en agua en una plataforma de vidrio excavada. Se gira la cabeza con la cara ventral hacia arriba y se fija al vidrio con un alfiler de entomología ~~romo~~ del número 1 ~~romo~~.
- (7) Se retiran las mandíbulas, las maxilas y los palpos labiales utilizando pinzas de joyero y microalfileres. Se retiran la epifaringe y las antenas, que pueden además teñirse con un colorante como la fucsina ácida o el negro clorazol. Colocar la cápsula cefálica y las mandíbulas en la cavidad del portaobjetos utilizando medio de Hoyer u otro medio de ~~preparación~~montaje. Colocar la piel separada completamente abierta sobre la parte plana del portaobjetos, cerca de la cavidad. Generalmente, la mejor manera de hacerlo es con la cara ventral hacia arriba. La preparación de la epifaringe, las antenas, las maxilas y los palpos labiales ~~se debería realizarse~~ realiza con la piel bajo el mismo cubreobjetos. Realizar el montaje ~~La preparación~~ de todas las partes del cuerpo ~~se hace~~ en el mismo portaobjetos de microscopia.
- (8) En el caso de las exuvias larvarias, antes de proceder a la disección, se sumerge el espécimen en una solución al 5 % de cualquier detergente de laboratorio durante unas dos horas y se enjuaga abundantemente con agua destilada ~~abundante~~. Se realiza una incisión para abrir el espécimen por la parte anterior y se disecan y separan las piezas bucales. Estas pueden ~~utilizarse~~ montarse directamente ~~para una preparación~~ en medio de Hoyer sin aclarado previo.
- (9) Etiquetar los portaobjetos inmediatamente después de colocar los especímenes y ~~dejarlos~~ colocarlos en un horno durante ~~un mínimo~~ al menos de tres días a 40 °C con el fin de mejorar su calidad (los mejores portaobjetos se obtienen al cabo de 2-4 semanas). Tras el secado, se ~~eerean~~ sellan los portaobjetos con cualquier laca recomendada para el sellado de portaobjetos de microscopia (por ejemplo, Glyptol, Brunseal), o con al menos dos capas de barniz de uñas para evitar que se seque el medio de Hoyer y puedan producirse daños en el espécimen. No obstante, los portaobjetos de microscopia ~~puederán~~ examinarse inmediatamente después de la preparación.

Pueden realizarse preparaciones permanentes con el empleo de Euparal o bálsamo del Canadá para el montaje, pero ello requiere un proceso de deshidratación laborioso.

4.2 Procedimiento para la preparación de los ~~insectos~~ adultos

~~Puede~~ Podrá ser necesario limpiar los especímenes adultos de *Trogoderma* ~~adultos~~ antes de la identificación, ~~utilizando para ello~~ con cualquier detergente de laboratorio o ~~con el empleo~~

~~de~~usando un limpiador de ultrasonidos. Si el espécimen fue capturado en una trampa adhesiva, el adhesivo puede disolverse con el empleo de ciertos solventes (p. ej.: queroseno). Los solventes pueden eliminarse del espécimen con cualquier detergente de laboratorio.

Antes de iniciar la preparación se sumerge el ~~especimen~~ adulto en agua destilada templada durante aproximadamente una hora. Realizar la preparación de la siguiente manera:

- (1) En primer lugar, se retira el abdomen mientras el espécimen se encuentra todavía sumergido en agua, utilizando unas pinzas finas. Se seca el espécimen (a excepción del abdomen) y se realiza ~~la preparación~~ el montaje en un rectángulo de cartón, preferiblemente en posición lateral. El espécimen estará menos expuesto a sufrir daños y se encontrará accesible para un examen dorsal y ventral si se encuentra adherido por un lado.
- (2) A continuación se realiza una incisión lateral para abrir el abdomen, dejando inalterado el último segmento abdominal. Se coloca en una solución al 10% de hidróxido potásico (KOH) o hidróxido sódico (NaOH) en un baño de agua caliente durante unos 10 minutos.
- (3) Se enjuaga el espécimen en agua y se ~~retiran~~ cuidadosamente ~~los genitales~~ la genitalia utilizando microalfileres con gancho. Después de retirar ~~los genitales~~ la genitalia, se ~~debería adherir~~ fija con adhesivo el abdomen sobre el mismo rectángulo de cartón en el que se encuentra el insecto, con la cara ventral hacia arriba.
- (4) Es preciso macerar ~~nuevamente los genitales~~ posteriormente la genitalia en la solución cáustica. Se separa el edeago del tergo perifálico y el 9º segmento abdominal ~~con el empleo de~~ utilizando microalfileres. Se pueden teñir con un colorante como la fucsina ácida o el negro de clorazol para hacerlos más visibles.

~~Los genitales~~ La genitalia puede ~~neoloearse~~ montarse en un portaobjetos utilizando medio de Hoyer u otros medios de ~~preparación~~ montaje como el PVA. ~~La preparación del El~~ edeago ~~debe realizarse~~ debería montarse en un portaobjetos de microscopia excavado para conservar su forma. La ~~preparación de los genitales femeninos~~ genitalia femenina puede ~~hacerse~~ montarse en un portaobjetos de microscopia plano.

Los portaobjetos y los insectos fijados con alfileres ~~deben~~ deberían etiquetarse inmediatamente después de ~~el montaje~~ realizar las preparaciones de los especímenes. Los portaobjetos ~~deben~~ deberían colocarse en un horno como durante un ~~durante~~ mínimo ~~de~~ durante tres días a 40 °C (las mejores muestras se obtienen después de 2-4 semanas). Tras el secado, deben ~~ee~~ crearse ~~sellarse~~ sellarse todos los portaobjetos (véase el apartado 4.1.(9)).

Si no hay necesidad de realizar ~~preparaciones-montajes de los genitales~~ la genitalia mediante el uso de un agente de montaje con el empleo de un producto para preparaciones permanentes o semipermanentes, ~~ésta pueden~~ examinarse en una gota de glicerol sobre un portaobjetos de microscopía. Tras la identificación, pueden colocarse los órganos en un microvial dentro de una gota de glicerol o pueden pegarse al rectángulo de cartón junto al abdomen.

4.3 Géneros de la familia Dermestidae que se encuentran con frecuencia en productos almacenados

Además de *Trogoderma*, hay otros géneros de derméstidos, como *Anthrenus*, *Anthrenocerus*, *Attagenus* *Dermestes*, que pueden encontrarse también en productos almacenados. El primer paso del diagnóstico de los ~~ejemplares-especímenes recogidos-recolectados~~ es la identificación del género. Los ~~ejemplares~~-adultos, y en algunos casos las larvas, de estos escarabajos pueden identificarse ~~con el empleo~~ utilizando de al menos una de las claves de Mound (1989), Haines (1991), Kingsolver (1991), Banks (1994), Háva (2004) ~~y~~ Rees (2004). Los géneros de Dermestidae norteamericanos pueden identificarse ~~con el empleo de~~ utilizando la clave de Kingsolver (2002).

Las siguientes claves sencillas (Clave 1 y Clave 3) permiten diferenciar con rapidez *Trogoderma* de otros cuatro géneros de derméstidos que se encuentran ~~con frecuencia comúnmente presentes~~ en los productos almacenados. Las características distintivas se ilustran en el apartado 9, Figuras 2 a 23. ~~Es preciso recordar~~ Se debería mencionar que en los almacenes también pueden encontrarse otros géneros de ~~escarabajos derméstidos~~ *dermestes*. ~~Entre estos pueden citarse~~ Estos géneros incluyen *Thaumaglossa*, *Orphinus* y *Phradonoma* (Delobel y Tran, 1993). No obstante, los almacenes no constituyen sus hábitats ~~más frecuentes~~ típicos por lo que no se los incluye en las claves citadas arriba.

4.3.1 Diferenciación de las larvas de derméstidos

Las larvas de derméstidos pueden diferenciarse utilizando una clave sencilla (Clave 1). Los especímenes larvales o exuviales identificados con el género *Trogoderma* con esta clave ~~pertenecen es~~ muy probablemente que pertenezcan a una especie de este género y, por tanto, está justificado comprobar la lista detallada de sus características enumerada en el apartado 4.4.1.

Si la clave de diagnóstico que se está empleando no se redactó específicamente para incluir ~~la zona~~ el área de origen (e intercepción) de los especímenes, la clave ~~debería~~ debería utilizarse con

precaución, ya que ~~existen~~ hay muchas especies de ~~derméstidos~~ Dermestidae ~~que no se han descrito~~ descritas en ~~todo~~ el mundo.

Clave 1: Clave sencilla para la diferenciación de larvas de derméstidos

1. Presencia de urogonfos en el 9.º segmento abdominal, 10.º segmento esclerosado, cilíndrico..... ***Dermestes* spp.**
Ausencia de urogonfos, 10.º segmento abdominal no esclerosado..... **2**
2. Superficie dorsal sin hastisetas, palpo maxilar de 4 segmentos ***Attagenus* spp.**
Superficie dorsal con hastisetas (Figura 18(A)), palpo maxilar de 3 segmentos..... **3**
3. Márgenes posteriores de tergos abdominales sinuosos, o emarginados, penachos de hastisetas situados en las partes membranosas posteriores de los tergos, 8.º tergo abdominal sin penachos de hastisetas ***Anthrenus* spp.**
Márgenes posteriores de tergos no sinuosos ni emarginados, penachos de hastisetas situados en las láminas de los tergos esclerosadas, 8.º tergo con penachos de hastisetas..... **4**
4. Segundo segmento antenal de longitud aproximadamente doble de la del último segmento, cabeza de las hastisetas de una longitud de al menos tres veces la anchura en el punto de anchura máxima..... ***Anthrenocerus* spp.**
Segundo y último segmentos antenales casi iguales, cabeza de las hastisetas de longitud inferior a tres veces la anchura en el punto de anchura máxima.... ***Trogoderma* spp.**

4.4 Identificación de las larvas de *Trogoderma*

No existe ninguna clave publicada que abarque todas las especies de *Trogoderma*. Esto se debe en parte a que siguen existiendo muchas especies no descritas. Se han publicado varias claves para las especies que tienen importancia económica. Banks (1994) publicó una clave para adultos y larvas del género *Trogoderma* asociados a productos almacenados, así como claves para ~~las~~ larvas y ~~los~~ adultos de algunas especies que se encuentran en almacenes. Beal (1960) elaboró una clave de identificación para ~~las~~ larvas de 14 especies de *Trogoderma* de distintas partes del mundo, incluidas ~~algunas~~ las plagas de productos almacenados. Mitsui (1967) publicó claves ilustradas para la identificación de larvas y adultos de algunas especies japonesas de *Trogoderma*. Kingsolver (1991) y Barak (1995) publicaron claves para adultos y larvas de algunos escarabajos derméstidos, incluidas unas pocas especies de *Trogoderma*. Zhang et al. (2007) publicaron una clave para la identificación de ocho especies de importancia económica en el género *Trogoderma*.

4.4.1 Características distintivas de las larvas de *Trogoderma*

Las características distintivas de las larvas de *Trogoderma* que figuran a continuación se han adaptado a partir de Rees (1943), Hinton (1945), Beal (1954, 1960), Okumura y Blanc (1955), Haines (1991), Kingsolver (1991), Lawrence (1991), Peacock (1993), Banks (1994) y Lawrence *et al.* (1999a):

- (1) cuerpo alargado, cilíndrico, algo aplanado, de longitud aproximadamente seis veces la anchura, de lados casi paralelos pero que se estrechan gradualmente en dirección a la parte posterior
- (2) cabeza bien desarrollada, esclerosada y con hipognatismo
- (3) presencia de tres pares de patas articuladas
- (4) setas pretarsianas en la cara ventral de pinzas desiguales
- (5) muchos pelos; cubiertas por diferentes tipos de setas: hastisetas, espicisetas, fiscisetas o varias de ellas (Figuras 18 y 20)
- (6) cabeza de las hastisetas de longitud no superior a tres veces la anchura (Figura 20)
- (7) numerosas hastisetas en todos los notos y tergos, con penachos prominentes de hastisetas erectas insertadas en la parte posterolateral de las láminas de los tergos de los segmentos abdominales 6 a 8 (en el género *Anthrenus* los penachos de hastisetas están insertados en la membrana por detrás de la parte esclerosada de los tergos 5, 6 y 7)
- (8) ausencia de urogonfos.

4.4.2 Identificación del último estadio larvario de *Trogoderma*

Las larvas de *T. granarium* (Figuras 2(C), 2(D) y 21) ~~pueden~~ podrán diferenciarse de las de otras especies de *Trogoderma* que se encuentran en almacenes utilizando la clave corta siguiente (Clave 2). Esta clave no permite la identificación de todas las especies de *Trogoderma* ~~de cuya incidencia que se conoce que están presentes~~ en almacenes ~~se tiene noticia~~. De manera que, en caso necesario, las larvas de otras ~~especies causantes de~~ plagas y de unas pocas ~~especies no plaga que no las causan~~ pueden identificarse, o ~~cuando al~~ menos separarse, con ~~un grado razonable de~~ confianza razonable, utilizando las claves de Beal (1956, 1960), Banks (1994) y Peacock (1993). Las características de los especímenes larvales identificados con la especie *Trogoderma granarium* ~~mediante con~~ esta clave deberían seguidamente compararse con la lista detallada de características de esta especie que figura en el apartado 4.4.3 y la descripción de las larvas del apartado 4.4.4.

Clave 2: Clave de identificación de las larvas de *Trogoderma granarium*

1. Epifaringe con 4 papilas distales, generalmente con una única excavación sensitiva (Figura 23(A)) **2**
Epifaringe con 6 papilas distales en una excavación sensitiva distal; en ocasiones una o dos papilas fuera de la excavación sensitiva (Figura 23(B), (C)) **3**
2. Tergos de color marrón amarillento uniforme, sin pigmentación grisácea en la base de espicisetas grandes; acrotergitos débilmente esclerosados; sutura antecostal en el 8.º segmento abdominal casi siempre ausente (si está presente, es débil y suele romperse); setas que rodean casi siempre por completo el segmento antenal basal, segundo segmento generalmente con una única seta o sin setas, segmento apical con poros sensitivos en el cuarto basal; morfología de hastisetas como en la Figura 20(A), (B) ***Trogoderma granarium* Everts**
Tergos generalmente de color marrón grisáceo oscuro, al menos en la base de las espicisetas mayores; acrotergitos marronosos; sutura antecostal en el 8.º segmento abdominal bien definida; segundo segmento antenal sin setas; morfología de hastisetas como en la Figura 20(C), (D) ***Trogoderma glabrum* (Herbst)**
3. Setas de los segmentos antenales basales agrupadas en la cara interna o interna-dorsal, dejando glabra la cara externa o externa-ventral; en las antenas plenamente extendidas, las setas del segmento basal no alcanzan el ápex del segundo segmento, poro(s) sensitivo(s) en los segmentos antenales apicales no en el cuarto basal; espicisetas medias pequeñas en los acrotergitos de longitud no suficiente para extenderse sobre la sutura antecostal (Figura 19(C); compárese con la Figura 19(D)); hastisetas (Figura 20(E), (F)) muy escasas en los tergos torácicos y abdominales anteriores (Figura 19(A)); tergos con una sola hilera de espicisetas grandes (Figura 19(B))..... ***Trogoderma variable* Ballion**
Especimen que no presenta la combinación anterior de características... **otras *Trogoderma* spp.**

La identificación de las larvas ~~se considerará~~ debería considerarse poco fiable si se basa en un solo espécimen, o en exuvias o especímenes ~~desgastados~~ rotos. Esto se debe a que en muchas especies las variaciones ~~existentes dentro de la propia especie~~ intraespecíficas son tales que en ciertos especímenes no ~~pueden~~ podrán apreciarse características que se consideran propias de la especie, al tiempo que ~~pueden~~ podrán apreciarse características que son propias de otras especies. Además, hay un gran número de especies no plaga de *Trogoderma* ~~no causantes de plagas~~ que se

encuentran en productos almacenados, y muchas de sus características no han sido bien estudiadas.

4.4.3 Características distintivas de las larvas de *Trogoderma granarium*

Las características distintivas de las larvas de *T. granarium* son las siguientes:

- (1) segmentos antenales casi iguales
- (2) setas del segmento antenal basal que ocupan del 50 al 75 % del segmento, alcanzando o sobrepasando el ápex del segundo segmento, con una longitud de al menos tres cuartas partes la del segundo segmento antenal
- (3) segundo segmento antenal del último estadio larvario generalmente con una seta o a veces sin setas
- (4) último segmento antenal con al menos un poro sensitivo en el cuarto basal
- (5) epifaringe (Figura 22) con cuatro papilas en la excavación sensitiva distal, generalmente en una sola unidad (Figura 23(A))
- (6) ausencia de fisci-setas
- (7) ausencia de setas de tergos en dirección mesial
- (8) al menos seis espicisetas pequeñas en el primer tergo abdominal por detrás de la sutura antecostal por delante de las espicisetas grandes
- (9) espicisetas pequeñas anteriores-medias por delante de la sutura antecostal, de una longitud no suficiente para pasar sobre la sutura
- (10) espicisetas medias grandes en el primer segmento abdominal liso o cubierto de escamas apenas visibles con extremos lisos en al menos cuatro veces el diámetro de la seta
- (11) sutura antecostal del 8.º tergo abdominal casi siempre ausente, pero débil e interrumpida, si existe
- (12) sutura antecostal en el 7.º tergo abdominal débil o interrumpida
- (13) ausencia de pigmentación grisácea en los lados de los segmentos torácicos y de otros segmentos, ni siquiera en la base de las espicisetas laterales grandes.

4.4.4 Descripción de las larvas de *Trogoderma granarium*

La larva de primer estadio (Figura 2(C)) tiene una longitud de 1,6-1,8 mm y una anchura de 0,25-0,3 mm. El cuerpo tiene un color blanco amarillento uniforme; la cabeza y los pelos son de color marrón rojizo. La larva madura (Figura 2(D)) tiene una longitud de 4,5-6 mm y una anchura de

1,5 mm y el cuerpo es de color marrón rojizo. El cuerpo de la larva está cubierto por dos clases de pelos: espicisetas (Figura 18(B)), en las que el tallo está cubierto por minúsculas escamas rígidas, puntiagudas, dirigidas hacia arriba; y hastisetas (Figura 18(A)), en las que el tallo está multisegmentado con un ápex que tiene un extremo en forma de lanza. Las espicisetas están dispersas por la superficie dorsal de la cabeza y los segmentos del cuerpo. Dos grupos de espicisetas largas situadas en el 9.º segmento abdominal forman la cola. Hay hastisetas en todos los segmentos del notum y el abdomen, pero en los últimos tres o cuatro segmentos forman unos penachos erectos, en pares, bien definidos (Beal, 1960, 1991; EPPO/CABI, 1997).

4.5 Identificación de los adultos de *Trogoderma*

4.5.1 Diferenciación de los adultos de derméstidos

Los derméstidos adultos pueden diferenciarse utilizando una clave sencilla (Clave 3). Los especímenes de insectos adultos identificados con el género *Trogoderma* mediante esta clave pertenecen muy probablemente a una especie de este género y, por tanto, está justificado comprobar la lista detallada de sus características enumerada en el apartado 4.5.2.

Clave 3: Clave sencilla para la diferenciación de derméstidos adultos

- | | | |
|----|--|--|
| 1. | Ausencia de ocelo medio <i>Dermestes</i> spp. (Figura 15) | |
| | Presencia de ocelo medio 2 | |
| 2. | Cuerpo cubierto de setas de tipo escamoso; cavidad antenal ocupada por las antenas, plenamente visible en la vista anterior (Figura 14(A))..... <i>Anthrenus</i> spp. (Figure 17) | |
| | Cuerpo cubierto de setas simples, algunas de ellas blanquecinas y aplanadas (ensiformes) pero nunca de tipo escamoso 3 | |
| 3. | Cavidad antenal completamente cerrada por detrás, maza antenal de 3 segmentos y bien definida..... <i>Anthrenocerus</i> spp. | |
| | Cavidad antenal abierta por detrás o parcialmente delimitada por una carina posterior, cavidad antenal mucho más amplia que las antenas, no visible en la vista anterior 4 | |

4. Cuidad antenal abierta por detrás, margen posterior de coxa posterior angulado, primer segmento de tarso posterior más corto que el segundo segmento ***Attagenus_spp.*** (Figura 16)
- Cuidad antenal carinada por detrás, margen posterior de coxa posterior recto, arqueado o sinuoso, primer segmento de tarso posterior más largo que el segundo segmento ***Trogoderma_spp.*** (Figuras 2(A), 4(A), 14(B)).

4.5.2 Características distintivas de los adultos de *Trogoderma*

Las características ~~distintivas~~ que figuran a continuación se han adaptado a partir de Hinton (1945), Beal (1954, 1960), Okumura y Blanc (1955), Haines (1991), Kingsolver (1991), Lawrence y Britton (1991, 1994), Peacock (1993), Banks (1994) y Lawrence *et al.* (1999b) y Háva (2004):

- (1) cuerpo ovalado, densamente cubierto de setas simples, generalmente de 2-3 tipos diferentes, reclinadas, de color blanco amarillento, ligeramente aplanadas (ensiformes)
- (2) presencia de ocelo medio
- (3) pronoto sin carina lateral
- (4) cuidad antenal de la superficie anteroventral no visible o solo ligeramente visible en la vista anterior (Figura 14(B))
- (5) cuidad antenal carinada en la parte posterior en al menos la mitad de su longitud y abierta lateralmente
- (6) prosterno que forma un “collar” en la parte anterior
- (7) mesosterno dividido por un surco profundo
- (8) margen posterior de la placa coxal posterior curvado o sinuoso, nunca angulado
- (9) primer segmento del tarso posterior más largo que el segundo segmento
- (10) antenas cortas, de 9-11 segmentos, con una maza de 3-8 segmentos, y un contorno de la antena generalmente liso o de modo muy infrecuente flabelado, segmento terminal nunca agrandado de forma desproporcionada
- (11) tarsos de todas las patas con 5 segmentos.

4.5.3 Identificación de los adultos de *Trogoderma*

~~Se utilizará~~ Debería utilizarse la siguiente clave corta (Clave 4) para diferenciar los ~~individuos~~ adultos de *T. granarium* de los de algunas otras especies de *Trogoderma* que se encuentran con

frecuencia en los productos almacenados. Esta clave no permite la identificación de todas las especies de *Trogoderma* ~~que se sabe que conocidas como~~ ~~están presentes de cuya incidencia~~ en almacenes ~~se tiene noticia~~. De manera que, en caso necesario, otras especies no incluidas en la clave pueden identificarse con las claves de Beal (1954, 1956), Kingsolver (1991), Banks (1994) y Mordkovich y Sokolov (1999). Estas claves incluyen especies que se encuentran en productos almacenados y pueden utilizarse, por tanto, para la identificación de ~~individuos~~ adultos de *Trogoderma*. Se ~~debería~~ señalar que la identificación del sexo de los ~~individuos~~ adultos de diversas especies de *Trogoderma* es posible en la práctica tan solo después de la disección de su ~~genitales~~ ~~genitalia~~ (véase la morfología de ~~los genitales~~ ~~la genitalia~~ masculina~~s~~ y femenina~~s~~ en las Figuras 11 y 12). La comprobación de las características distintivas externas, como la morfología de la maza antenal, ~~ha de~~ ~~debería~~ hacerse en especímenes en los que se haya identificado el sexo con seguridad.

Las características de los especímenes adultos identificados con la especie *Trogoderma granarium* mediante esta clave ~~deberían~~ ~~deberían~~ ~~compararse~~ seguidamente ~~compararse~~ con la lista detallada de características distintivas de esta especie que figura en el apartado 4.5.4 y la descripción de ~~los individuos~~ adultos en el apartado 4.5.5.

Clave 4: Clave para la identificación de los adultos de *Trogoderma granarium*

1. Pubescencia dorsal monocolor *Trogoderma* spp. ~~no causante de plagas~~
 Pubescencia dorsal no monocolor sino con un patrón o desprendimiento completo de la pubescencia por el roce; (setas ensiformes además de setas de color marrón amarillento y rojizo) **2**
2. Élitros sin un patrón bien definido, monocolors o vagamente moteados **3**
 Élitros con zonas más claras y más oscuras bien definidas (Figura 3) **4**
3. Tegumento negro, excepcionalmente con manchas vagas marronosas, bucle basal, bandas submedia y subapical formadas por setas ensiformes de color amarillento y blanquecino; antenas siempre de 11 segmentos, maza antenal masculina de 5-7 segmentos, femenina de 4-5 segmentos; 5.º esternito del macho con setas uniformes reclinadas *Trogoderma glabrum* (Herbst) (Figura 6(B))
 Tegumento de color amarillo rojizo claro, a menudo con manchas más claras poco delimitadas, setas ensiformes dispersas que excepcionalmente forman 2-3 bandas poco delimitadas; antenas generalmente de 11 y excepcionalmente de 9 ó 10 segmentos, maza antenal masculina de 4-5

- segmentos, femenina de 3-4 segmentos; 5.º esternito del macho con una zona apical de setas toscas y densas ***Trogodermagranarium*Everts**
4. Tegumento de élitros con un bucle basal claro bien definido **5**
Tegumento de élitros con bandas y manchas bien definidas solamente **7**
5. Margen anterior de los ojos claramente emarginado ***Trogoderma inclusum* LeConte** (Figura 6(D))
Margen anterior de los ojos recto o ligeramente sinuoso **6**
6. Bucle basal nunca conectado con la banda antemedial ***Trogoderma variable* Ballion** (Figuras 4(A)–4(C), 5, 6(H))
Bucle basal de la mancha del élitro conectado con la banda antemedial por una o varias bandas longitudinales (la clave puede descartar aquí el *T. inclusum* con emarginación menos evidente de los ojos) ***Trogoderma ornatum* (Say)** (Figura 6(E)), ***T. simplex* Jayne** (Figura 6(F)), ***T. sternale* Jayne** (Figura 6(G)), ***T. versicolor* (Creutzer)** (Figura 6(I))
7. Tegumento de élitros con tres fascias bien definidas (basal, submedia y apical), setas en las fascias mayoritariamente blancas y ensiformes, con muy pocas setas reclinadas amarillentas ***Trogoderma angustum* (Solier)** (Figura 6(A))
Tegumento de élitros con banda basal bien definida y mancha media o posterior (Figura 5 a la izquierda) ***Trogoderma variable* (de patrón reducido)**

Generalmente, las fascias de los élitros de la especie *Trogoderma* forman un bucle basal más o menos completo, bandas antemedial y media y manchas apicales. Algunos especímenes tienen un patrón de élitros reducido en el que el bucle basal está indicado por una banda anterior curva, las bandas antemedial y/o media por manchas pequeñas, y las manchas apicales suelen faltar.

Para ~~la una~~ identificación positiva, ~~deberían~~ observarse todas las características distintivas (especialmente ~~si se trata en el caso~~ de especímenes dañados) (apartado 4.5.4).

Se ~~deberían realizar~~ ~~realizarán~~ disecciones genitales, ya que hay un gran número de especies de *Trogoderma* no descritas; mediante el examen de ~~los genitales~~ la genitalia, se reducen de manera ~~importante~~ significativa las posibilidades de identificación errónea.

Maximova (2001) proporciona características adicionales para distinguir los adultos de *Trogoderma granarium* de los de *T. variable* y *T. glabrum*. El tamaño y la morfología de las alas posteriores pueden resultar útiles para identificar ~~a los~~ especímenes dañados y, si bien no es

obligatorio tener en cuenta estas dos características, ayudan a aumentar la certidumbre en la identificación ~~sobre la base de~~ basada en otras características (Figuras 9 y 10). Durante la disección es preciso retirar las alas posteriores y ~~realizar montar~~ una preparación en glicerol o medio de Hoyer.

Las alas posteriores de *T. granarium* son más pequeñas (longitud media de 1,9 mm en comparación con los 2,5 mm de *T. variabile* y *T. glabrum*); son de color más pálido con venas menos visibles; el número de setas S1 en la vena costal (media = 10) es la mitad del de *T. variabile* y *T. glabrum* (media = 20-23); el número de setas S2 pequeñas entre la vena costal y el pterostigma (media = 2, a veces ausentes) es inferior al de *T. variabile* y *T. glabrum* (media = 8) (Figuras 9 y 10).

4.5.4 Características distintivas de los ~~individuos~~ adultos de *Trogoderma granarium*

Los ~~individuos~~ adultos de *T. granarium* son escarabajos oblongos-ovalados, de 1,4-3,4 mm de longitud y 0,75-1,9 mm de anchura. La cabeza muestra una deflexión, la cabeza y el pronoto son más oscuros que los élitros, las patas y el abdomen son ~~marrones~~ parduscos. Los élitros son marrones. Las hembras son ligeramente más grandes que los machos y de color más claro.

Para identificar correctamente los estadios adultos de *T. granarium*, las características de los especímenes ~~deben~~ deberían corresponder a las utilizadas para identificar la familia Dermestidae, el género *Trogoderma* y la especie *granarium*. Estas características son las siguientes:

- (1) cutícula de los élitros monocolor, generalmente marrón claro o marrón rojizo, o con un moteado vago sin un patrón claramente definido
- (2) setas de los élitros predominantemente marrones (puede haber también setas amarillentas o blancas que no forman un patrón de banda claramente definido; estas setas se desprenden gradualmente por el roce a medida que el escarabajo se desplaza y el adulto acaba teniendo un aspecto brillante.)
- (3) antenas con 9-11 segmentos; maza antenal en el macho con 4-5 segmentos; maza antenal en la hembra con 3-4 segmentos (Figuras 7 y 8)
- (4) margen interno del ojo recto o sinuoso
- (5) tergo 8 abdominal masculino esclerosado de manera más o menos uniforme, con setas a lo largo de su margen que a veces tienden a agruparse medialmente; tergo 9 con un margen proximal de sección más ancha casi en forma de U; tergo 10 con muchas setas largas

- (6) escleritos aserrados de la bolsa copulatriz de la hembra pequeños, no más largos que las partes onduladas espermatecales, con 10-15 dientes (Figuras 12, 13(A))
- (7) genitales masculinos con puente recto, y uniformemente ancho, más amplio en las conexiones con los parámetros (Figura 11(A), (D)).

4.5.5 Descripción de los **individuos** adultos de *Trogoderma granarium*

El estado de adulto de *T. granarium* se ilustra en la Figura 2(A), (B).

Macho adulto

Cuerpo: Longitud 1,4-2,3 mm (media 1,99 mm); anchura 0,75-1,1 mm (media 0,95 mm); cociente de longitud respecto a anchura, ~~de~~ aproximadamente 2,1:1. Cabeza y pronoto marrón rojizo oscuro; élitros marrón rojizo, generalmente con fascias poco definidas en un tono más claro. Parte ventral del tórax y el abdomen de color marrón rojizo; patas de color marrón amarillento.

Setas: Superficie dorsal con setas de distribución uniforme, toscas, semierectas, de color marrón-amarillento y unas pocas setas de color marrón rojizo oscuro diseminadas; el color de las setas corresponde al color de la cutícula subyacente; pronoto en la parte medial y lateral con zonas poco definidas de setas ensiformes de color blanco amarillento, élitros con dos o tres bandas poco definidas de setas ensiformes de color blanco amarillento. Superficie ventral con punteado de setas simples y densas, que es más denso en las ventritas; setas finas, cortas, reclinadas, de color marrón amarillento.

Cabeza: Punteados grandes, máximos en la parte anterior, ocelados, separados por una distancia de aproximadamente el diámetro de uno a cinco puntos, superficie entre ellos brillante. Antenas de color marrón amarillento, con 9, 10 u 11 segmentos y con maza de 4 o 5 segmentos. Fosa antenal poco profunda, ocupada de forma laxa por la antena. Ojos rectos medialmente, o a veces ligeramente sinuosos.

Tórax: Margen anterior del pronoto con una hilera de setas toscas de color marrón amarillento que apuntan hacia la parte media del margen anterior, setas en la mitad anterior del disco que apuntan hacia atrás, y en la mitad posterior que apuntan hacia el escutelo. Punteado ligeramente mayor y más denso a lo largo de los márgenes anterior y lateral, y medialmente; por lo demás pequeño y sencillo en el disco y separado por unos 2-4 diámetros.

Extremo posterolateral liso, brillante, y por lo demás muy fina y densamente punteado. Prosterno densamente punteado, con los lados de la extensión posterior rectos que se reducen gradualmente hacia el ápex.

Élitros densamente cubiertos por un punteado de setas, con puntos pequeños y más densos lateralmente, en el disco, separados por 2-4 diámetros, y lateralmente por 1-2 diámetros.

Alas posteriores con venas poco definidas; el número medio de setas S1 más grandes en la vena costal es de 10, el número medio de setas S2 pequeñas entre la vena costal y el pterostigma es de 2, pero a veces no están presentes (véanse más detalles en la Figura 9).

Tibias con pequeñas espinas a lo largo del borde externo. Segmento proximal del tarso posterior de longitud aproximadamente igual a la del segundo; segmento distal de longitud aproximadamente doble de la del cuarto segmento.

Abdomen: Primer ventrito con o sin líneas femorales débiles. Ventritos cubiertos por setas finas, reclinadas, de color marrón amarillento; mitad posterior del penúltimo ventrito con setas muy densas, más toscas, semierectas, de color marrón amarillento oscuro.

Genitales: Extremo distal del lóbulo medio del edeago más corto que los vértices de los parámetros. Parámetros anchos, con setas cortas y escasas en los márgenes interno y externo; setas que se extienden hasta la mitad de la longitud del edeago. El puente de los parámetros está situado a aproximadamente un tercio de la longitud total desde el extremo distal, recto distal y proximalmente, el puente tiene una anchura igual o superior a la del edeago en el lugar de cruce, la extensión basal se reduce gradualmente.

Hembra adulta

Cuerpo: Longitud 2,1-3,4 mm (media 2,81 mm); anchura 1,7-1,9 mm (media 1,84 mm); cociente de longitud respecto a anchura ~~de~~ aproximadamente 1,6:1.

Antena a veces con menos de 11 segmentos, maza de 3-4 segmentos.

Mitad posterior del penúltimo ventrito sin una hilera densa de setas toscas semierectas de color marrón amarillento.

Otras características morfológicas externas como las descritas anteriormente para los machos.

Genitales: Bolsa copulatriz con dos escleritos dentados pequeños, longitud de las escleritos igual o inferior a la longitud de la parte ondulada de la espermateca.

5. Registros

Los registros y ~~el material de referencia~~ las evidencias deben conservarse según lo descrito en el apartado 2.5 de la NIMF 27.

En los casos en los que otras partes contratantes puedan verse afectadas negativamente por los resultados del diagnóstico, los registros y ~~el material de referencia~~ las evidencias (en especial, larvas y adultos preservados, especímenes ~~en preparaciones~~ montados en portaobjetos, fotografías) ~~se conservarán~~ deberían conservarse por lo menos durante ~~al menos~~ un año.

6. Puntos de contacto para información adicional

Puede obtenerse información adicional sobre este protocolo en las siguientes fuentes:

Department of Agriculture and Food Western Australia, Biosecurity & Research Division, Plant Biosecurity Branch, Entomology Unit, 3 Baron-Hay Court, South Perth, WA 6151, Australia (tel: +61 8 9368 3248, +61 8 9368 3965; fax: +61 8 9368 3223, +61 8 9474 2840; correo electrónico: aszito@agric.wa.gov.au).

Inspección Principal de Fitosanidad y Servicio de Semillas, Laboratorio Central, Żwirki i Wigury 73, 87-100 Toruń, Polonia (tel: +48 56 639 1111, +48 56 639 1115; fax: +48 56 639 1115; Correo electrónico: w.karnkowski@piorin.gov.pl).

Laboratorio de Plagas y Enfermedades de las Plantas. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Av. Ing. Huergo 1001, C1107AOK Buenos Aires, Argentina (tel: +54 11 4362 1177, extns 117, 118, 129 y 132; fax: +54 11 4362 1177, extn 171; correo electrónico: abriano@senasa.gov.ar, albabriano@hotmail.com).

Departamento de Desinfección del Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, 32 calle Pogranichnaya, Bykovo-2, área de Ramensky, región de Moscú, Federación de Rusia (tel: +7 499 2713824, fax: +7 495 2237241; correo electrónico: artshamilov@mail.ru).

7. Reconocimientos

El proyecto inicial de este protocolo fue redactado por Andras_Szito (Departamento de Agricultura y Alimentación de Australia Occidental, División de Bioseguridad Vegetal, South Perth, Australia); Witold_Karnkowski (Inspección Principal de Fitosanidad y Servicios Alimentarios, Laboratorio Central, Toruń, Polonia); Alba Enrique de Briano (Laboratorio de Plagas y Enfermedades de las Plantas, SENASA, Buenos Aires, Argentina); y Ana Lía Terra (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Laboratorios Biológicos, Montevideo, Uruguay).

8. Bibliografía

- Banks, H.J.** 1994. *Illustrated identification keys for Trogodermagranarium, T. glabrum, T. inclusum and T. variabile (Coleoptera: Dermestidae) and other Trogoderma associated with stored products*. CSIRO Division of Entomology Technical Paper, No. 32. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Canberra. 66 págs.
- Barak, A.V.** 1989. Development of new trap to detect and monitor Khapra beetle (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Economic Entomology*, 82: 1470-1477.
- 1995. Capítulo 25: Identification of common dermestids. *En* V. Krischik, G. Cuperus & D. Galliard, eds. *Stored product management*, pp. 187-196. Oklahoma State University, Cooperative Extension Service Circular No. E-912 (revisado).
- Barak, A.V., Burkholder, W.E. & Faustini, D.L.** 1990. Factors affecting the design of traps for stored-products insects. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 63(4): 466-485.
- Beal, R.S. Jr.** 1954. Biology and taxonomy of nearctic species of *Trogoderma*. *University of California Publications in Entomology*, 10(2): 35-102.
- 1956. Resumen de las especies de importancia económica de *Trogoderma* que se dan en los Estados Unidos con una descripción de especies nuevas (Coleoptera: Dermestidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 49: 559-566.
- 1960. *Descriptions, biology and notes on the identification of some Trogoderma larvae (Coleoptera, Dermestidae)*. Technical Bulletin, United States Department of Agriculture, No. 1226. 26 págs.
- 1982. A new stored product species of *Trogoderma* (Coleoptera: Dermestidae) from Bolivia. *The Coleopterists Bulletin*, 36(2): 211-215.
- 1991. Dermestidae (Bostrychoidea) (including Thorictidae, Thylodriidae). *In* F.W. Stehr, ed. *Immature insects*, pp. 434-439. Duboquet, Iowa, Michigan State University, Kendall/Hunt. Vol. 2, xvi+ 975 págs.
- Bousquet, Y.** 1990. *Beetles associated with stored products in Canada: An identification guide*. Agriculture Canada Research Branch Publication 1837. Ottawa, Supply and Services Canada. 214 págs.
- CABI.** 2011. *Trogodermagranarium*. *En* Crop Protection Compendium, Wallingford, UK, CAB International (disponible en Internet) <http://www.cabi.org>.
- Delobel, A. & Tran, M.** 1993. *Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes*. Faune tropicale XXXII. París, ORSTOM. 424 págs.

- EPPO/CABI.** 1997. *Trogodermagranarium*. En I.M. Smith, D.G. McNamara, P.R. Scott, & M. Holderness, eds. *Quarantine pests for Europe*, 2.^a edición. Wallingford (Reino Unido). CAB International. 1425 págs.
- EPPO.** 2002. Diagnostic protocols for regulated pests, *Trogodermagranarium*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 32: 299-310.
- 2011. PQR - Base de datos de EPPO sobre plagas cuarentenarias (disponible en Internet). <http://www.eppo.int>.
- Green, M.** 1979. The identification of *Trogoderma variable* Ballion, *T. inclusum* and *T. granarium* Everts (Coleoptera, Dermestidae), using characters provided by their genitalia. *Entomologists Gazette*, 30: 199-204.
- Haines, C.P.** (ed.) 1991. *Insects and arachnids of tropical stored products: their biology and identification (a training manual)*. Chatham Maritime (Reino Unido), Natural Resources Institute. 246 págs.
- Háva, J.** 2003. *World catalogue of the Dermestidae (Coleoptera)*. Studie a zprávy Okresního muzea Praha-Východ, Supplementum 1. 196 págs.
- 2004. Claves mundiales para los géneros y subgéneros de Dermestidae (Coleoptera) con descripciones, nomenclatura y registros de distribución. *Acta Musei Nationalis Pragae, Serie B, Historia Natural*, 60 (3-4): 149-164.
- 2011. Dermestidae of the world (Coleoptera). Catalogue of the all known taxons. Disponible en Internet en: http://www.dermestidae.wz.cz/catalogue_of_the_all_known_taxons.pdf, consultado en enero de 2012.
- Hinton, H.E.** 1945. *A monograph of the beetles associated with stored products*, Vol. 1. Londres, British Museum (Natural History). 443 págs.
- Kingsolver, J.M.** 1991. Dermestid beetles (Dermestidae, Coleoptera). En J.R. Gorham, ed. *Insect and mite pests in food. An illustrated key*, pp. 113-136. Washington, DC, USDA ARS and USDHHS, PHS, Agriculture Handbook No. 655, Vol. 1: 324 págs.
- 2002. Dermestidae. En R.H. Arnett Jr., M.C. Thomas, P.E. Skelley, & J.H. Frank, eds. *American beetles*, Vol. 2, pp. 228-232. Boca Ratón, Florida, CRC Press. 861 págs.
- Lawrence, J.F.** (coordinador). 1991. Order Coleoptera. En F.W. Stehr, ed. *Immature insects*, pp. 144-658. Dubuque, Iowa, Kendall/Hunt, Vol. 2. xvi + 975 págs.

- Lawrence, J.F. & Britton, E.B.** 1991. Coleoptera (beetles). *En CSIRO, ed. Insects of Australia*, 2nd edition, Vol. 2, págs. 543-683. Carlton, Melbourne University Press. 2 vols, xvi + 1137 págs.
- . 1994. *Australian beetles*. Carlton, Melbourne University Press. x + 192 págs.
- Lawrence, J.F., Hastings, A.M., Dallwitz, M.J., Paine, T.A. & Zurcher, E.J.** 1999a. Beetle larvae of the world: Descriptions, illustrations, and information retrieval for families and subfamilies. CD-ROM, Versión 1.1 para MS-Windows. Melbourne, CSIRO Publishing.
- . 1999b. Beetles of the world: A key and information system for families and subfamilies. CD-ROM, Versión 1.0 para MS-Windows. Melbourne, CSIRO Publishing.
- Lindgren, D.L., Vincent, L.E. & Krohne, H.E.** 1955. The Khapra beetle, *Trogoderma granarium* Everts. *Hilgardia*, 24(1): 1-36.
- Maximova, V.I.** 2001. Идентификация капрового жука, *Защита карантин растений*, 4: 31.
- Mitsui, E.** 1967. [Sobre la identificación del escarabajo de Khapra.] *Reports of the Japan Food Research Institute, Tokyo*, 22: 8-13. (en japonés)
- Mordkovich, Ya.B. & Sokolov, E.A.** 1999. Определитель карантинных и других опасных вредителей сырья, продуктов запаса и посевного материала, Колос, Москва: 384.
- . 2000. Выявление капрового жука в складских помещениях, *Защита карантин растений*, 12: 26-27.
- Mound, L.** (ed.) 1989. Common insect pests of stored food products. A guide to their identification. Londres, British Museum (Natural History). 68 págs.
- Mroczkowski, M.** 1968. Distribution of the Dermestidae (Coleoptera) of the world with a catalogue of all known species. *Annales Zoologici*, 26(3): 1-191.
- OIRSA.** 1999a. *Trogoderma granarium* Everts. *En OIRSA, Hojas de Datos sobre Plagas y Enfermedades de Productos Almacenados de Importancia Cuarentenaria y/o Económica para los Países Miembros del OIRSA*, pp. 120-145. El Salvador, OIRSA. Vol. 6. 164 págs.
- . 1999b. *Trogoderma variabile* Ballion. *En OIRSA, Hojas de Datos sobre Plagas y Enfermedades de Productos Almacenados de Importancia Cuarentenaria y/o Económica para los Países Miembros del OIRSA*, pp. 146-161. El Salvador, OIRSA. Vol. 6. 164 págs.
- Okumura, G.T. & Blanc, F.L.** 1955. Key to species of *Trogoderma* and to related genera of Dermestidae commonly encountered in stored grain in California. *En California Legislature*

Joint Interim Committee on Agricultural and Livestock Problems, *Special Report on the Khapra Beetle, Trogodermagranarium*, pp. 87-89. Sacramento, California.

PaDIL. 2011. Khaprabeetle (*Trogodermagranarium*). Pest and Diseases Image Library (PaDIL, biblioteca de imágenes de plagas y enfermedades), disponible en Internet: <http://www.padil.gov.au/pests-and-diseases/Pest/Main/135594>, consultado el 15 de noviembre de 2011.

Pasek, J.E. 1998. *Khapra beetle (Trogodermagranarium Everts): Pest-initiated pest risk assessment*. Raleigh, NC, USDA. 46 págs.

Peacock, E.R. 1993. *Adults and larvae of hide, larder and carpet beetles and their relatives (Coleoptera: Dermestidae) and of derontid beetles (Coleoptera: Derontidae)*. Handbooks for the identification of British insects No. 5, Royal Entomological Society, Londres. 144 págs.

Rees, B.E. 1943. *Classification of the Dermestidae (larder, hide, and carpet beetles) based on larval characters, with a key to the North American genera*. Publicación miscelánea n.º 511 del USDA. 18 págs.

Rees, D.P. 2004. *Insects of stored products*. Melbourne, Australia, CSIRO Publishing; London, UK, Manson Publishing. viii + 181 págs.

Saplina, G.S. 1984. *Обследование складских помещений с помощью ловушек. Защита растений, 9: 38.*

Sinha, A.K. & Sinha, K.K. 1990. Insect pests, *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in stored wheat: A survey at North Bihar (India). *Journal of Stored Products Research*, 26(4): 223-226.

Strong, R.G. & Okumura, G.T. 1966. *Trogoderma* species found in California, distribution, relative abundance and food habits. *Bulletin, Department of Agriculture, State of California*, 55: 23-30.

Varshalovich, A.A. 1963. Капровый жук – опаснейший вредитель пищевых запасов. Сельхозиздат, Москва: 1-52.

Zhang, S.F., Liu H. & Guan, W. 2007. [Identificación de larvas de 8 especies importantes del género *Trogoderma*], *Plant Quarantine*, 21(5): 284-287 (en chino).

9. Figuras



((A))



((B))



(C)



(D)

Figura 1: Síntomas de infestación de productos almacenados con *Trogoderma granarium*: (A) grano de trigo dañado; (B) semillas de colza infestadas; (C) grano de trigo totalmente destruido (polvo y restos de granos); (D) exuvias larvales (pieles abandonadas) que contaminan un producto almacenado (Paweł Olejarski,

Instytut_Ochrony_Roślin – Państwowy Instytut_Badawczy, Poznań, Polonia)

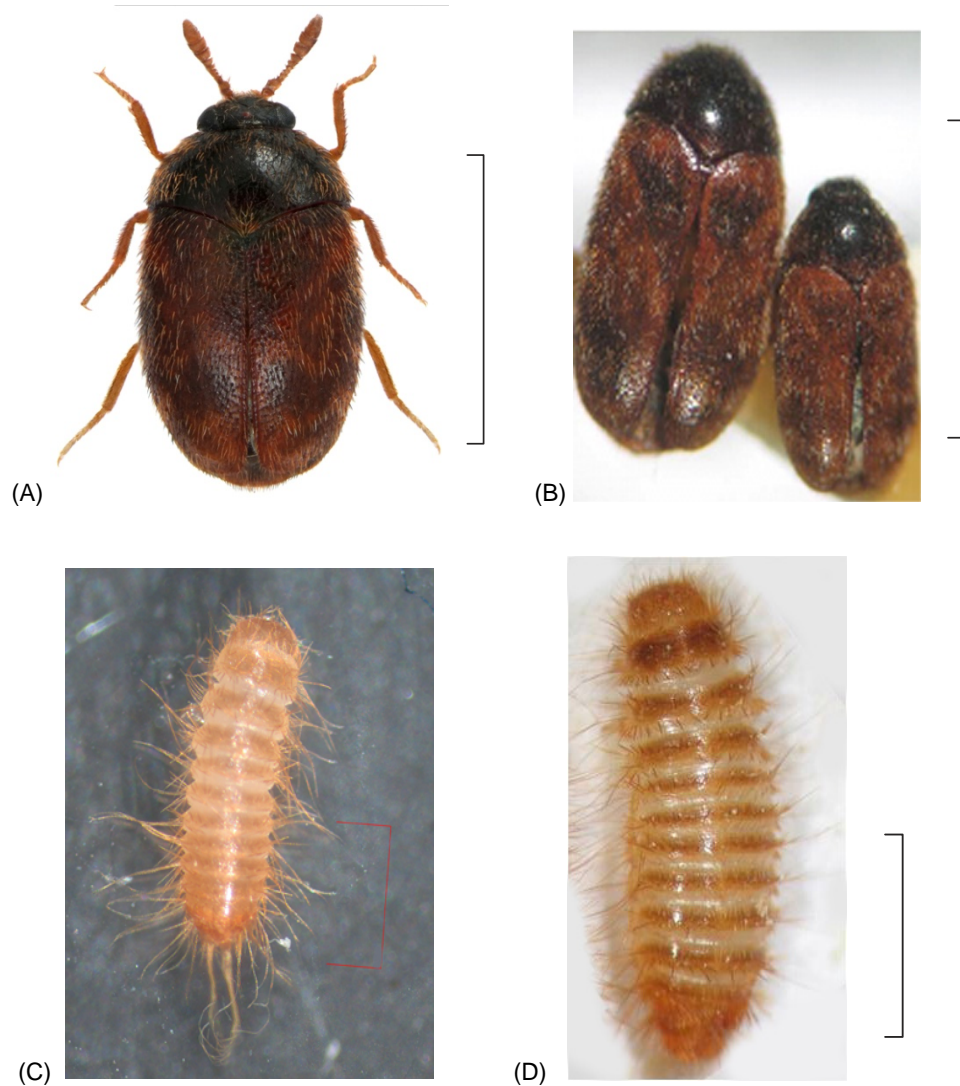


Figura 2: *Trogoderma granarium*:(A) Adulto, hembra; (B) comparación de la forma de la hembra (izquierda) y del macho (derecha); (C) larva joven; (D) larva madura. Barra de escala: (A), (B), (D) = 2 mm; (C) = 1 mm. ((A), Tomasz Klejdysz, Instytut_Ochrony_Roślin – Państwowy Instytut_Badawczy, Poznań, Polonia; (B), (D), Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia); (C), Cornel Adler, JuliusKühn-Institut; (JKI) Alemania))

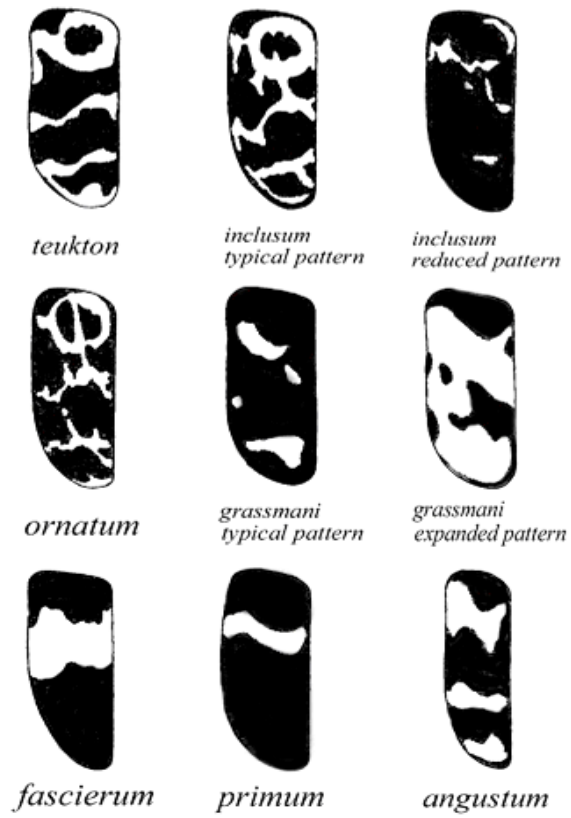


Figura 3: *Trogoderma* spp. patrón de los élitros (Beal, 1954)

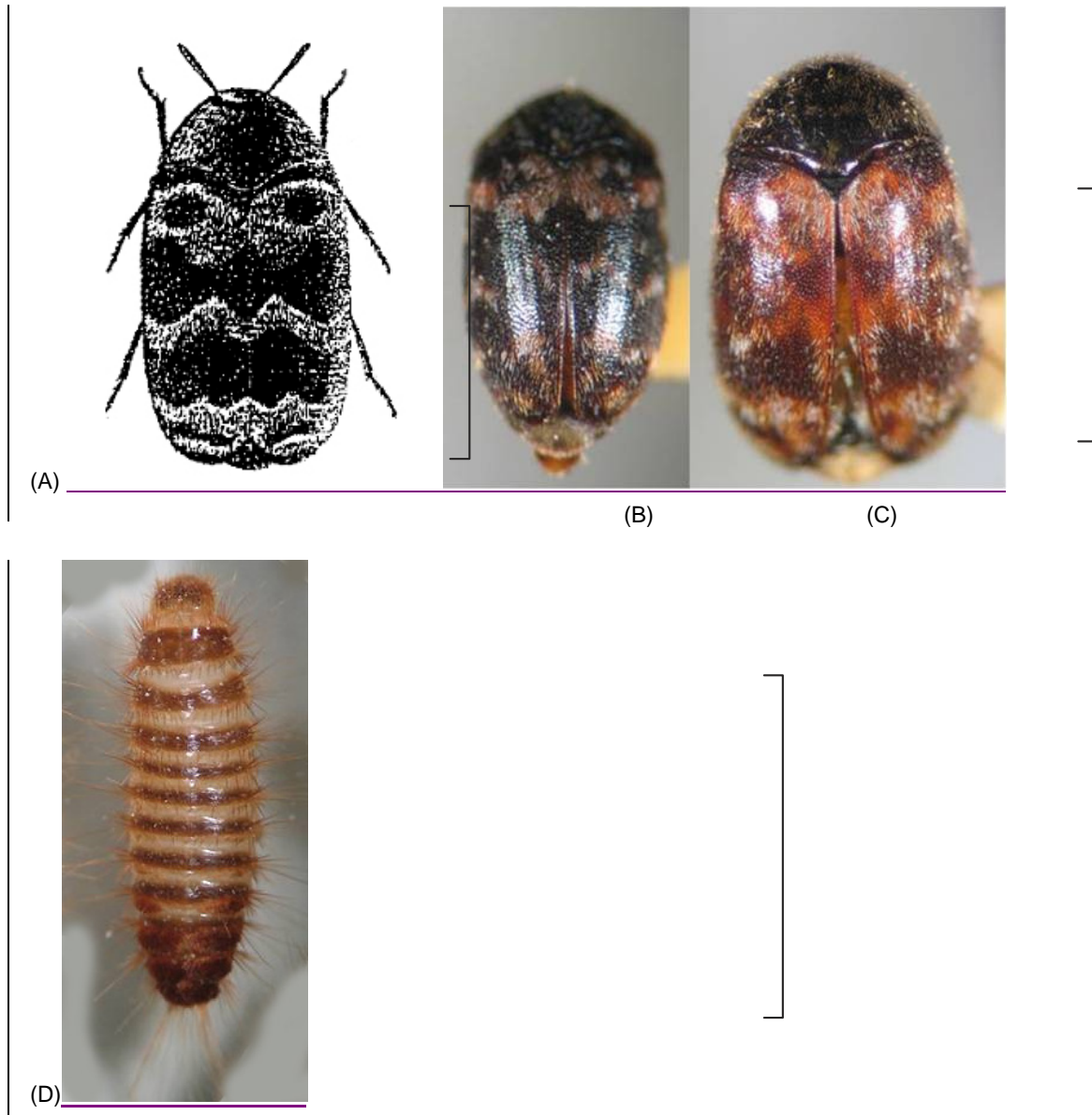


Figura 4: *Trogoderma variable*: (A) dibujo esquemático del adulto; (B) macho; (C) hembra; (D) larva. Barra de escala = 2 mm. ((A), OIRSA (1999b); (B)–(D), Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia)



Figura 5: Patrón de los élitros de *Trogoderma variabile*: izquierda, patrón reducido; centro, típico; derecha, ampliado (Beal, 1954)

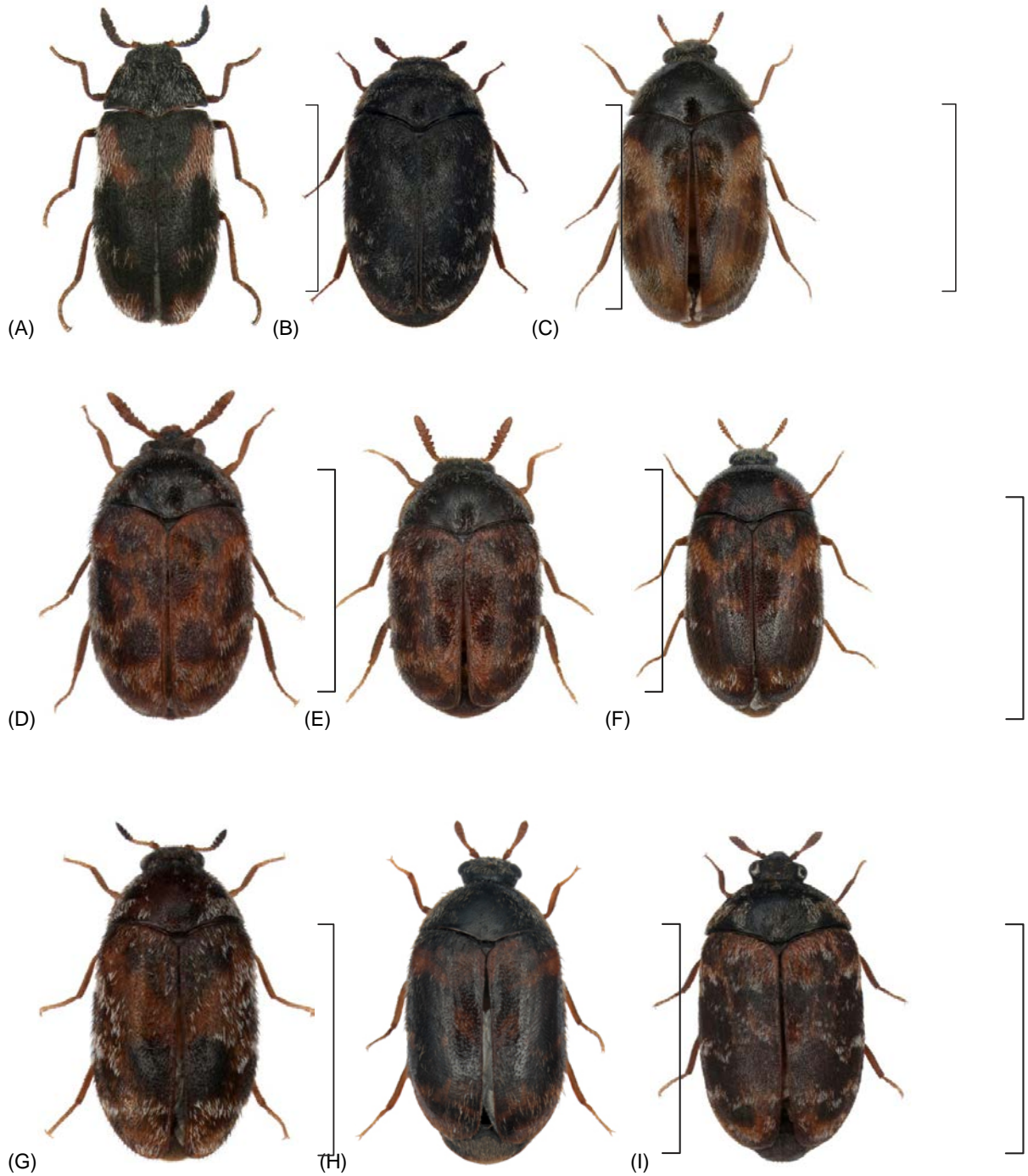


Figura 6: Comparación de hembras de algunas especies de *Trogoderma non-granarium*:(A) *T. angustum*; (B) *T. glabrum*; (C) *T. grassmani*; (D) *T. inclusum*; (E) *T. ornatum*; (F) *T. simplex*; (G) *T. sternale*; (H) *T. variabile*; (I) *T. versicolor*. Barra de escala = 2 mm. (Tomasz Klejdysz, Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Poznań, Polonia)

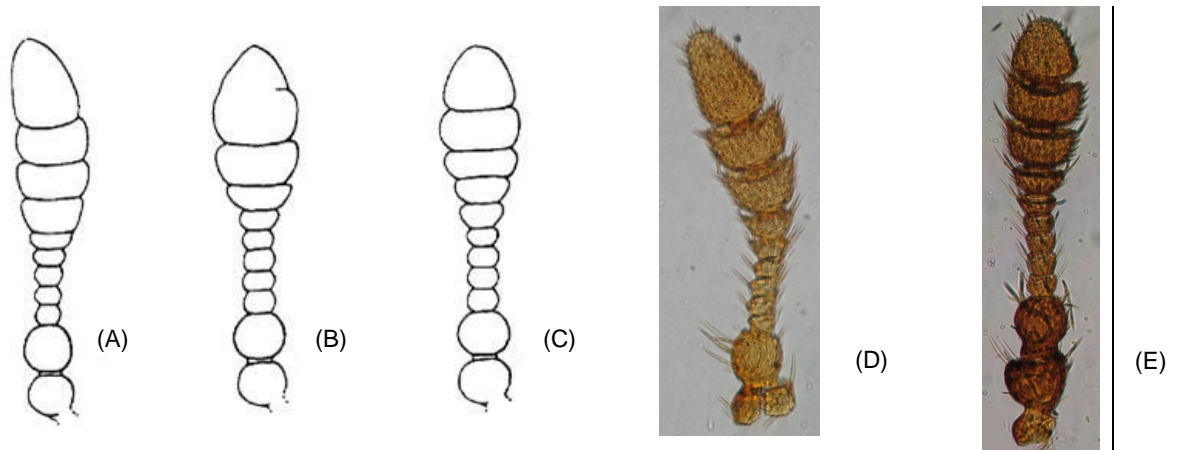


Figura 7:Antenas de *Trogoderma granarium*: (A), (D) antena masculina con número de segmentos normal; (B) antena femenina con número de segmentos reducido; (C), (E) antena femenina con número de segmentos normal ((A)-(C), Beal, (1956); (E), Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia)



Figura 8:Antenas de algunas especies de *Trogoderma*: (A) *T. variabile*; (B) *T. glabrum*; (C) *T. teukton*; 1, antena masculina con número de segmentos normal; 2, antena femenina con número de segmentos normal (Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia)

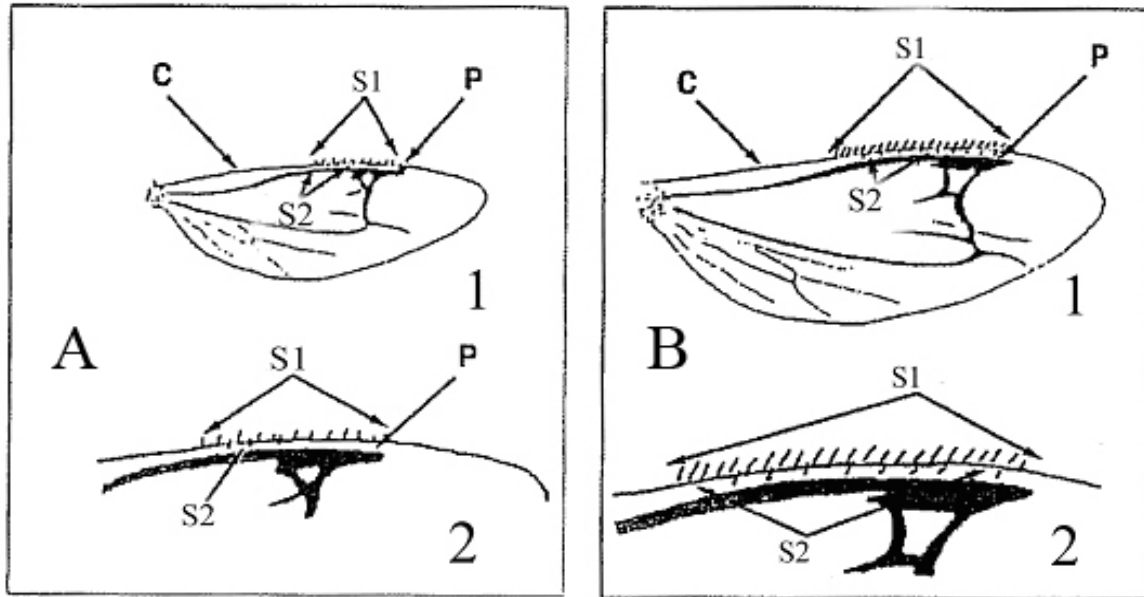


Figura 9: Representación esquemática de la morfología del ala posterior: (A) *Trogoderma granarium* (Maximova, 2001), con un máximo de 14 setas S1 sobre la vena costal (media = 10 S1) y 2-5 setas S2 o sin setas S2 entre vena costal y pterostigma (media = 2 S2); (B) *Trogoderma variabile* y *T. glabrum* con 16 o más setas S1.

Detalles: 1, morfología general del ala; 2, parte posterior del ala agrandada (C, vena costal; P, pterostigma; S1, setas sobre la vena costal; S2, setas pequeñas entre vena costal y pterostigma). No se utiliza para el diagnóstico el número de setas S2 porque no se conoce esta característica para otras especies.

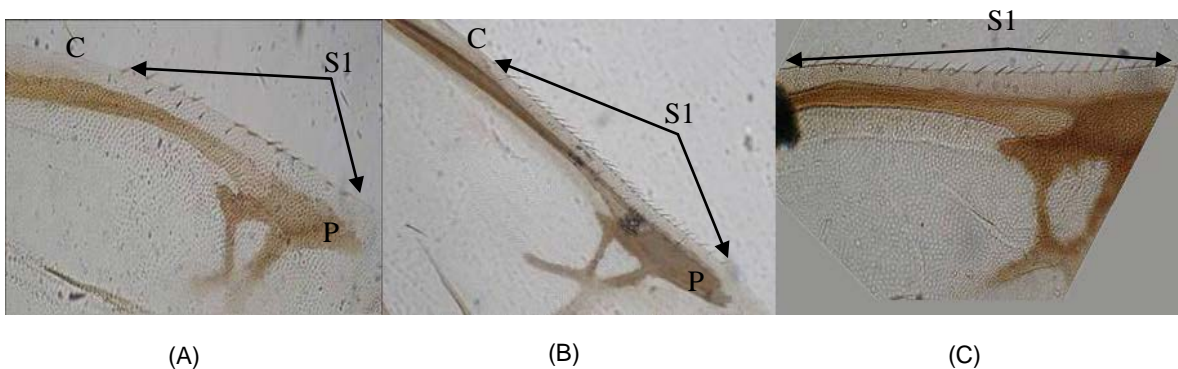
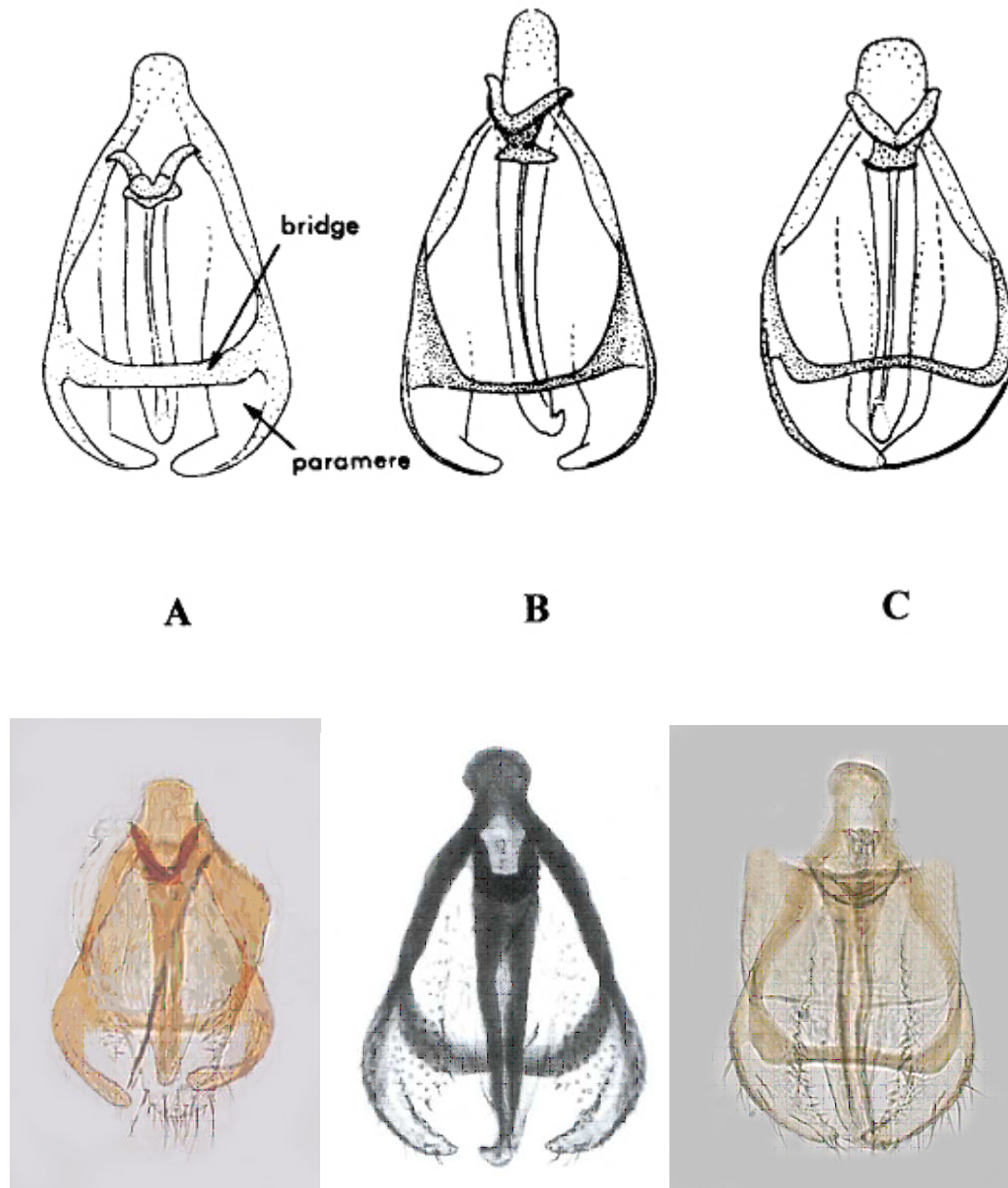


Figura 10: Morfología de las alas posteriores: (A) *T. granarium*; (B) *T. glabrum*; (C) *T. variabile* (Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia)



DEF

Figura 11: Genitales masculinos: (A), (D) *Trogoderma granarium*; (B) *T. inclusum*; (C), (F) *T. variabile*; (E) *T. glabrum* ((A)–(C), Green (1979); (D)–(F), Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia).

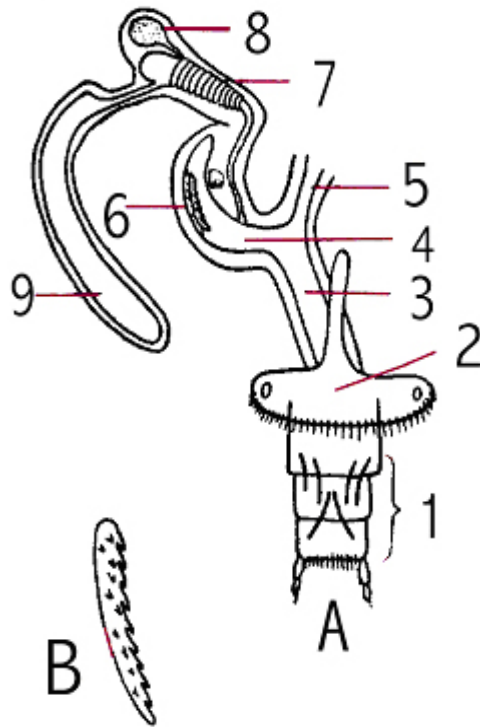


Figura 12: Genitales femeninos de *Trogoderma granarium*: (A) vista general de los genitales; (B) uno de los escleritos aserrados de la bolsa copulatriz (Varshalovich, 1963). Detalles: 1, ovipositor; 2, 7º esclerito abdominal; 3, vagina; 4, bolsa copulatriz; 5, oviducto; 6, dos escleritos aserrados en la bolsa copulatriz; 7, parte ondulada de la espermateca; 8, espermateca; 9, glándulas accesorias.



(A)



(B)

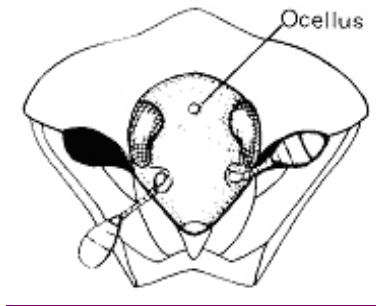


(C)

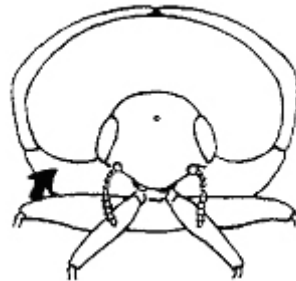


(D)

Figura 13: Escleritos aserrados de la bolsa copulatriz de **los genitales la genitalia** femeninas de diferentes especies de *Trogoderma*: (A) *T. granarium*; (B) *T. variable*; (C) *T. glabrum* (Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia)



(A)



(B)

Figura 14: Cavity de antena: (A) cavity de antena claramente visible en la vista anterior (*Anthrenus*), antenas que ocupan plenamente la cavity; (B) cavity de antena no visible en la vista anterior (*Trogoderma*), antenas que se alojan de manera laxa en la cavity ((A), Mound (1989); derechos reservados: Natural HistoryMuseum, Londres (Reino Unido); (B), Kingsolver (1991))

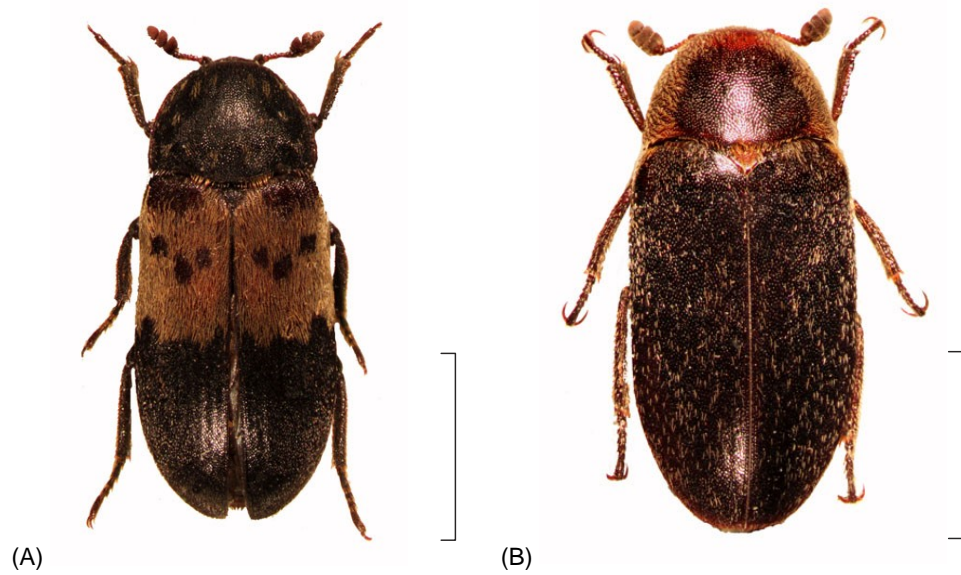


Figura 15: Adultos de la especie de Dermestes: (A) *D. lardarius*; (B) *D. maculatus*. Barra de Escala = 2 mm. (Marcin Kadej, Instytut Zoologiczny, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polonia)

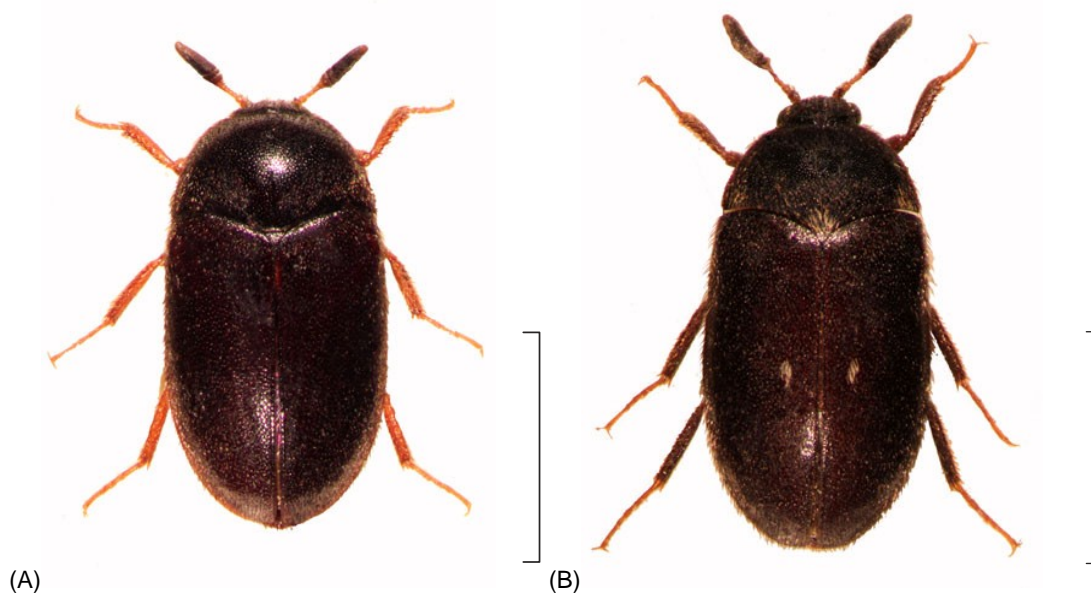


Figura 16: Adultos de la especie de Attagenus: (A) *A. unicolor*; (B) *A. pelloi*. Barra de Escala = 2 mm. (Marcin Kadej, Instytut Zoologiczny, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polonia)



Figura 17: Adulto de *Anthrenus verbasci*. Barra de escala = 2 mm. (Marcin Kadej, Instytut Zoologiczny, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polonia)

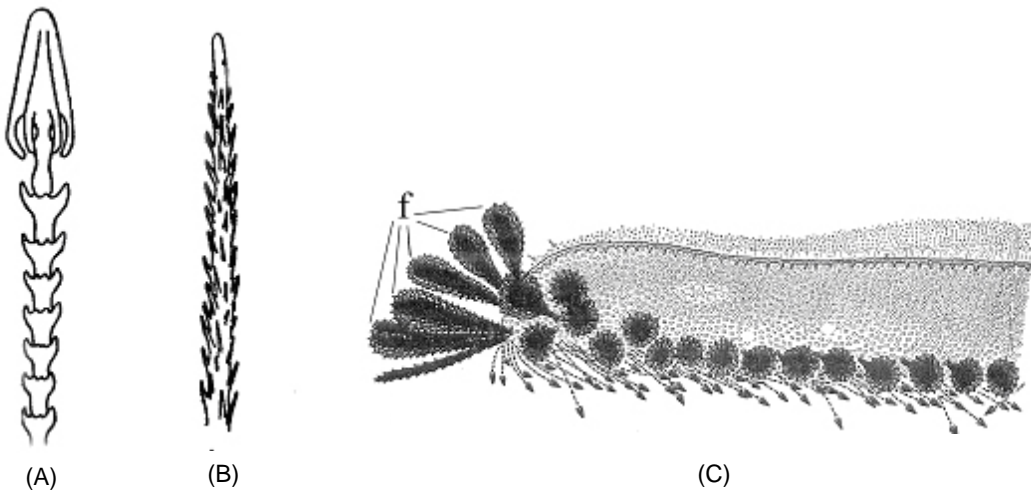


Figura 18: Setas de larvas larvarias: (A) hastiseta, (B) espiciseta, (C) fuscisetas (f) en el primer tergo abdominal de una larva de *Trogoderma carteri* ((A), (B), Varshalovich (1963); (C), Beal (1960))

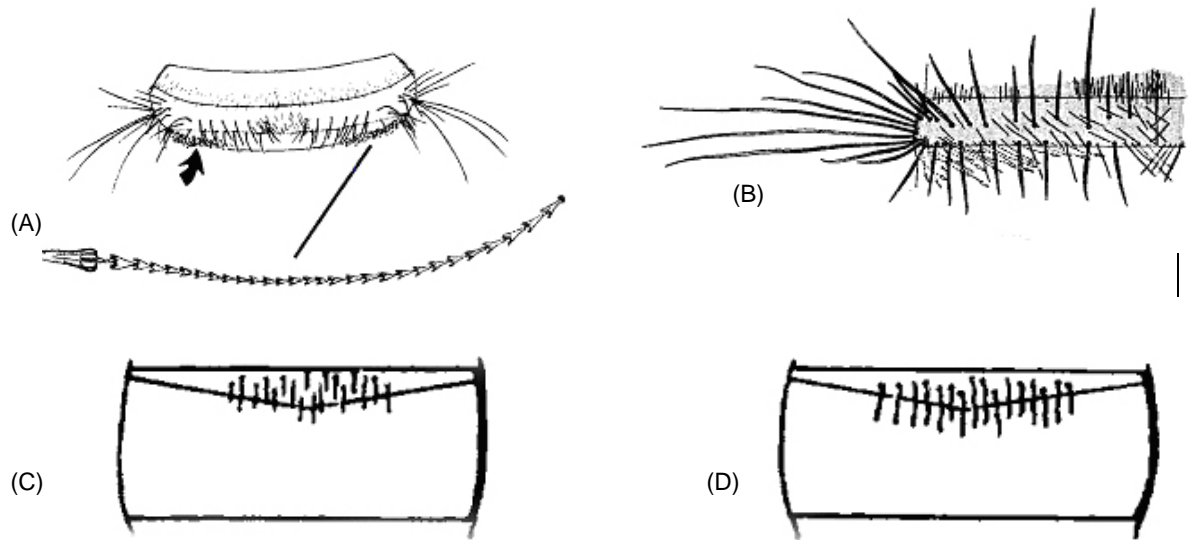


Figura 19: Tergitos y setas abdominales: (A) tergito abdominal de larva de *Trogoderma variable* con hastiseta agrandada; (B) primer tergito abdominal de larva de *T. variable*; (C) setas de la parte anterior del primer tergito abdominal de longitud no suficiente para extenderse caudalmente por encima de la sutura antecostal (*T. variable*); (D) las mismas setas de longitud suficiente para extenderse caudalmente superando la sutura antecostal (*T. no variable*) ((A), Kingsolver (1991); (B), Beal (1954); (C), (D), OIRSA (1999a))

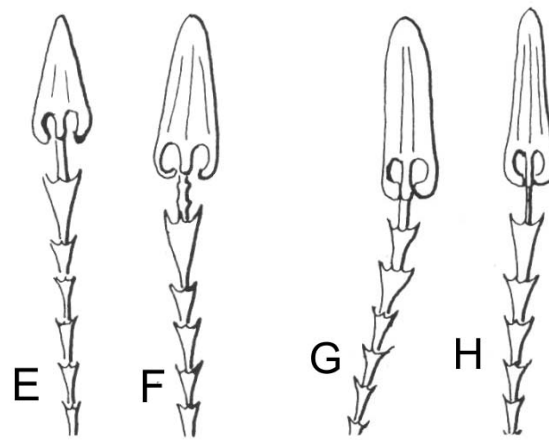
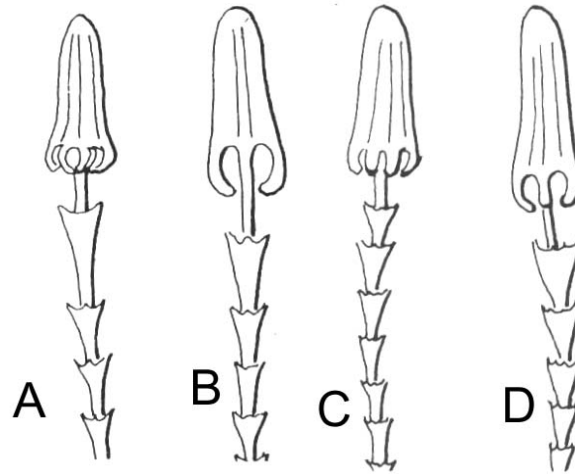


Figura 20: Comparación de la morfología de las hastisetas de diversas larvas de *Trogoderma*: (A), (B) *T. granarium*; (C), (D) *T. glabrum*; (E), (F) *T. variabile*; (G), (H) *T. inclusum*; derechos reservados: Natural History Museum, Londres (Reino Unido); (B), (Peacock, 1993)

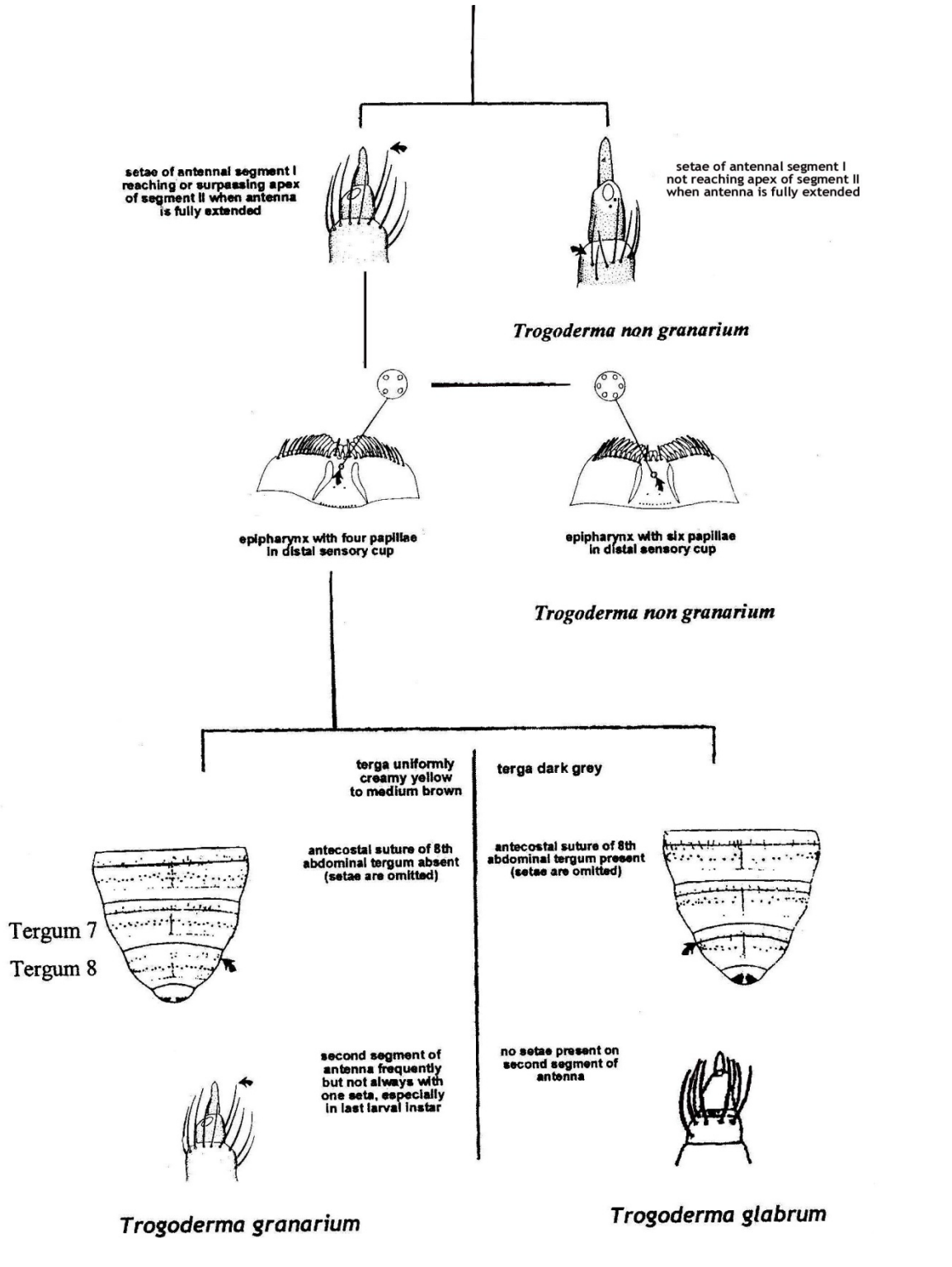


Figura 21:Clave ilustrada para distinguir las larvas de *Trogoderma granarium* de otras especies de *Trogoderma* (Kingsolver, 1991; OIRSA, 1999a)



Figura 22:Epifaringe de larva de Trogodermasp. con excavación sensitiva distal señalada por una flecha

(Ya.B. Mordkovich and E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia)

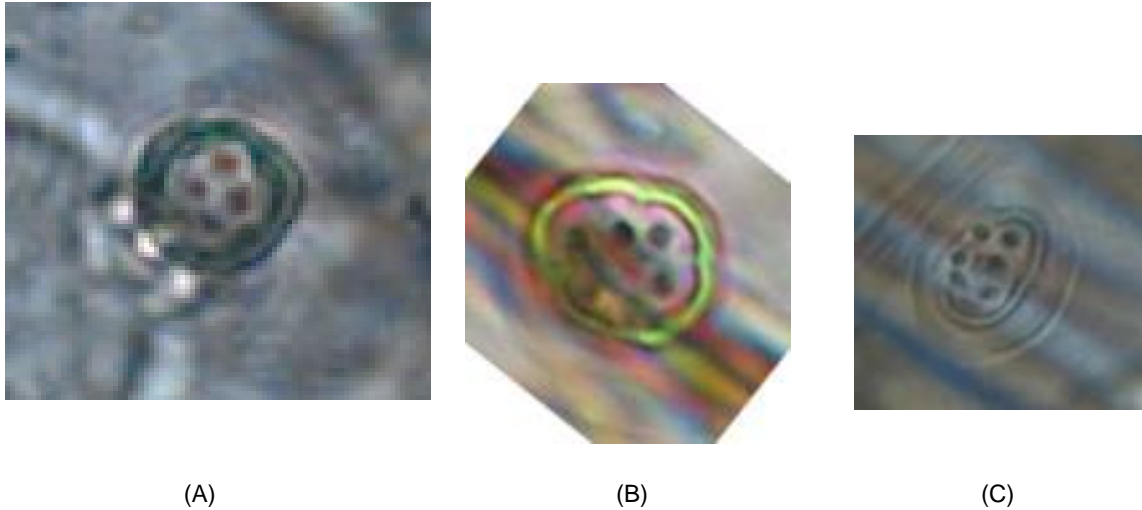


Figura 23. Papilas distales: (A) cuatro papilas distales en la excavación sensitiva de una larva de *T. granarium*; (B) seis papilas distales en *T. variabile*; (C) seis papilas distales en *T. glabrum* (Ya.B. Mordkovich y E.A. Sokolov, Centro de Cuarentena Vegetal de la Federación de Rusia, Bykovo, Rusia)

Historia de la publicación

Esta no es una parte oficial de la norma.

Esta historia de la publicación se refiere sólo a la versión española. Para la historia completa de la publicación, consulte la versión en inglés de la norma.

La CMF-7 (2012) adoptó el Anexo 3 de la norma 27:2006.

NIMF 27.2006. Anexo 3 :*Trogoderma granarium* Everts (2012). Roma, CIPF, FAO.

Última actualización de la historia de la publicación: junio de 2012.