



**NAPPO**

North American Plant Protection Organization

Organización Norteamericana de Protección a las Plantas

**MEXICO - USA - CANADA**

***DD 09: Criterios para evaluar tratamientos fitosanitarios para semillas***

Preparado por los miembros del Grupo de Expertos en Semillas de la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO), el cual está integrado por expertos en la materia de las Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria de cada país miembro así como de la industria, con la colaboración de otros expertos de los países miembros de la NAPPO.

## **Criterios para evaluar tratamientos fitosanitarios de semillas**

1. Antecedentes .....	3
2. Tipos de tratamientos .....	4
3. Finalidad de los tratamientos .....	4
4. Elaboración de un protocolo de investigación para un tratamiento fitosanitario para semillas .....	5
5. Determinación de la eficacia de los tratamientos.....	5
5.1 Pruebas a pequeña escala .....	5
5.2 Pruebas confirmativas a gran escala .....	5
5.3 Medición de la eficacia .....	5
5.4 Determinación de los efectos del tratamiento .....	6
6. Factibilidad de los tratamientos .....	6
7. Consideraciones especiales para la investigación de los tratamientos fitosanitarios para semillas .....	7
7.1 Pruebas de semillas sometidas a tratamiento .....	7
8. Intercambio de protocolos y datos de investigación entre las ONPF de la NAPPO .....	8
9. Brecha de conocimientos .....	8
10. Referencias.....	9
APÉNDICE 1 - Ejemplos de diferentes tipos de tratamientos para semillas.....	10
Plaguicidas .....	10
Desinfectantes .....	10
Los tratamientos físicos incluyen el tratamiento térmico y el aire caliente forzado .....	10
APÉNDICE 2 - Ejemplo de tamaños de pruebas específicas para los tratamientos para semillas – .....	11
APÉNDICE 3 - Consideraciones adicionales para desarrollar tratamientos para semillas.....	12
Pruebas para fitopatógenos .....	12
Semilla hospedante .....	12
Tratamientos para semillas .....	12
Equipo.....	12

## Criterios para evaluar tratamientos fitosanitarios para semillas

Este proyecto tuvo como finalidad la **elaboración de una lista de criterios para evaluar los tratamientos fitosanitarios para semillas**, así como la identificación de brechas en los datos y las necesidades de investigación, de haberlas. Este documento cubre los temas siguientes:

- ¿Qué constituye un tratamiento eficaz?;
- ¿Cuándo deberían aplicarse los tratamientos?;
- ¿Cómo convendrían los países en que el tratamiento es (o no es) suficiente para manejar el riesgo?;
- ¿Cuándo (o si) se justifica la verificación mediante las pruebas?;
- ¿Cuándo (o si) resulta apropiado realizar pruebas adicionales después de un tratamiento?;
- Si la semilla es una vía epidemiológica importante (¿cuál es la probabilidad de introducción del patógeno) después del tratamiento? y,
- ¿Cuáles impactos tienen los tratamientos en el producto mismo?

### 1. Antecedentes

La Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias 28 (NIMF 28 - *Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas*) brinda orientación general sobre la elaboración de tratamientos fitosanitarios. Sin embargo, la norma no brinda ninguna orientación específica sobre tratamientos fitosanitarios para semillas. La evaluación de los tratamientos fitosanitarios para semillas puede diferir de la realizada a otros productos; por ende, este documento presenta las consideraciones adicionales para evaluar los tratamientos fitosanitarios específicamente para semillas.

La meta de la investigación fitosanitaria para tratamientos de semillas es someter la semilla infectada a uno o más tratamientos que disminuyan y/o desvitalicen al patógeno de la vía de la semilla. Los tratamientos para semillas representan un caso especial debido a la dificultad que supone verificar que la eficacia del tratamiento haya cumplido con el nivel apropiado de protección identificado por el país importador. En algunos casos, los tratamientos para semillas pueden afectar la vitalidad de las semillas sometidas a tratamiento.

Según el tipo de diagnóstico que se utilice para verificar la eficacia del tratamiento, la semilla aún puede generar resultados positivos por la presencia de una plaga incluso si se ha sometido a un tratamiento eficaz para inactivar a la plaga (p. ej., las pruebas serológicas aún pueden detectar proteínas de los patógenos o las pruebas a base de ácido nucleico pueden detectar el ADN o RNA residual después de realizarse un tratamiento eficaz). Además, los tratamientos de semillas – al igual que la mayoría de los tratamientos fitosanitarios para otros tipos de productos – pueden que no alcancen el 100% de desvitalización de la plaga. El riesgo relacionado con la plaga y el nivel adecuado de protección del país importador darán a conocer el nivel necesario de eficacia del tratamiento. Una combinación de factores podría ayudar a evaluar el riesgo disminuido de un lote de semillas particular; la biología de la plaga, la tasa mínima fundadora, la eficacia del tratamiento de la semilla y el nivel de riesgo que sea aceptable.

**Nota:** El ámbito de este proyecto se enfoca tanto en las plagas transportadas como las transmitidas por semillas. Se entiende que las (semillas de) malezas invasoras pueden presentar un posible riesgo fitosanitario en la vía de las semillas, sin embargo, los criterios y las consideraciones para mitigar las (semillas de) malezas cuarentenarias son considerablemente diferentes a aquellos

empleados para los patógenos. Por lo tanto, no hemos tratado de incluir los criterios para mitigar las (semillas de) malezas cuarentenarias en este documento. La certificación de semillas, la inspección y limpieza para eliminar (semillas de) malezas cuarentenarias y las pruebas para certificar lotes de semillas libres de estas (semillas de) malezas son prácticas comúnmente utilizadas para mitigar la presencia de (semillas de) malezas reglamentadas en lotes de semillas. Los certificados de pruebas de semillas otorgados por laboratorios con sistemas de acreditación reconocidos internacionalmente y/o pruebas de laboratorios acordes con métodos de pruebas de semillas reconocidos internacionalmente son fuentes confiables que proveen evidencia de la ausencia de especies de malezas reglamentadas. Si las Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria (ONPF) están dispuestas a aceptar mutuamente estas fuentes, se pudiera eliminar la necesidad de realizar pruebas a lotes de semillas para detectar la presencia de semillas de malezas reglamentadas tanto en el país de origen como en el país de destino.

## 2. Tipos de tratamientos

De acuerdo con la norma NIMF 38 adoptada por la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) sobre *Movimiento internacional de semillas*, “los tratamientos para semillas incluyen, entre otros:

- plaguicidas (fungicidas, insecticidas, nematicidas y bactericidas)
- desinfectantes, generalmente usados contra bacterias y virus y algunos hongos; la desinfección puede realizarse durante diferentes pasos en el procesamiento de las semillas (p. ej., extracción de semillas, remojo de semillas) o durante un proceso de desinfección dedicado
- tratamientos físicos (p. ej., calor seco, vapor, agua caliente, irradiación con luz ultravioleta, presión alta, congelación)
- tratamientos biológicos o bioquímicos basados en diferentes modos de acción, tales como antagonismo, competencia y resistencia inducida.”

El Apéndice 1 incluye ejemplos de plaguicidas, desinfectantes y tratamientos físicos. Los tratamientos pueden ser sistémicos o tratamientos de contacto. Un tratamiento particular puede ser eficaz contra uno o más patógenos, o dos o más de los tratamientos pueden combinarse para actuar sobre uno o más patógenos.

## 3. Finalidad de los tratamientos

Los tratamientos para semillas por lo general se aplican como tratamientos de protección cuya finalidad es prevenir que una plaga transportada por el suelo infecte a la plántula en crecimiento (p. ej., las semillas se someten a tratamiento con un fungicida para prevenir la infección causada por hongos cuando brote la semilla) o eliminan plagas microbiales que puedan encontrarse en la superficie de la semilla. Para fines fitosanitarios, el tratamiento se aplica para matar o desvitalizar una plaga que esté relacionada con la semilla. Además, los tratamientos de semillas para su control biológico pueden disminuir de manera directa (p. ej., mediante producción de antibiótico o competencia por el nicho) o indirecta (provocando la resistencia de la planta) el riesgo de introducción del patógeno y el desarrollo de la epidemia.

#### **4. Elaboración de un protocolo de investigación para un tratamiento fitosanitario para semillas**

Los materiales y métodos experimentales deberían describirse en detalle. Los protocolos de investigación deberían presentarse a la ONPF que considerará el tratamiento antes de iniciar la investigación. Esto es para asegurar que se acepte dicho protocolo antes de iniciar la investigación y de que cumpla con los requisitos del país importador. La investigación llevada a cabo sin un protocolo que se haya revisado podría dar lugar al rechazo de los resultados de la investigación.

#### **5. Determinación de la eficacia de los tratamientos**

Al igual que con cualquier otro tratamiento fitosanitario, la eficacia se demuestra mediante pruebas a pequeña escala seguidas de pruebas confirmativas a gran escala.

##### **5.1 Pruebas a pequeña escala**

Las pruebas a pequeña escala o pruebas preliminares por lo general se realizan para determinar el mejor tratamiento. Todos los tratamientos están sujetos a los reglamentos para plaguicidas y deberían cumplir con cualquier requisito específico relacionado con dichos reglamentos. Se deberían utilizar varias dosis para determinar el tratamiento óptimo. Se debe ensayar cada tasa de tratamiento multiplicándola (como mínimo 3 repeticiones por tratamiento) con el control negativo apropiado para permitir realizar el análisis estadístico de los efectos del tratamiento. De ser posible, diferentes tasas de infestación deberían someterse a prueba (p. ej. porcentajes bajos, medianos y altos en semillas/lotos infestados).

El investigador deberá escoger el método de ensayo de detección más apropiado para la plaga y el producto. Esto dependerá de la biología del patógeno y el tipo de tratamiento que se está probando. Se pueden utilizar varios ensayos, de ser necesario. El ensayo debe explicarse en detalle. También es necesario que los investigadores presenten a la ONPF todos los resultados de las pruebas de dosis-respuesta a pequeña escala, antes de iniciar los ensayos confirmativos. Este paso asegurará que no hay discrepancias entre la ONPF y los investigadores en cuanto corresponde al mejor tratamiento.

##### **5.2 Pruebas confirmativas a gran escala**

Las pruebas confirmativas a gran escala se realizan para establecer confiabilidad estadística de la eficacia de un tratamiento propuesto. El tamaño de la muestra para la prueba confirmativa se acordará de manera mutua entre la ONPF y los investigadores. En el Apéndice 2 se encuentran ejemplos de tamaños de pruebas específicas. Las plagas de las semillas son diversas y las directrices para el tamaño de las pruebas confirmativas dependerán de la biología del patógeno, el riesgo de establecimiento en el ambiente y el hospedante.

Puede resultar desafiante la obtención de semillas infectadas de manera natural en suficiente cantidad para realizar pruebas de importancia estadística. De ser apropiado, se pueden utilizar muestras de semillas infectadas artificialmente. De utilizarse estas, el método de infección artificial debería asemejarse a la infección natural de la semilla causada por esa plaga específica. En el Apéndice 3 puede encontrar información adicional sobre los requisitos de la prueba.

##### **5.3 Medición de la eficacia**

Los investigadores deberían someter los datos a los análisis estadísticos apropiados, tal como análisis de probit a niveles DL50, DL95, DL99 y probit-9. Debería describirse el tipo de análisis

estadístico que se utiliza para determinar la eficacia del tratamiento. También se exhorta a los investigadores a presentar datos “en bruto” en una tabla. Entre las medidas aceptables que se utilizan para la detección de patógenos se incluyen las unidades formadoras de colonias (ufc), que se utilizan con frecuencia para tratamientos que se consideran desinfectantes. El diseño experimental de un estudio debería tomar en consideración la necesidad de cuantificar o medir la eficacia, y dar cuenta del modo de acción del tratamiento.

#### **5.4 Determinación de los efectos del tratamiento**

Los patógenos (p.ej., hongos, bacterias, virus, etc.) son los tipos más comunes de plagas relacionadas con las semillas. Debido a la biología de estos organismos, puede ser difícil evaluar el efecto (inactivación, desvitalización, etc.) y la eficacia del tratamiento. Posiblemente también se necesite un período de crecimiento y observación extenso de la semilla plantada en una cámara de crecimiento, invernadero o parcelas pequeñas de campo. Esto se debe a la complejidad del ciclo de vida de los patógenos que posiblemente solo produzcan síntomas en las plantas maduras.

Al realizar pruebas confirmativas, los investigadores deberán demostrar que la plaga no es viable (está inactiva, desvitalizada, etc.) en/sobre la semilla posterior al tratamiento. Esto podrá demostrarse mediante la detección directa del patógeno, ensayos de crecimiento de la plántula/planta o con una combinación de detección del patógeno y crecimiento de la planta. Véase también el apartado a continuación sobre pruebas a semillas sometidas a tratamiento.

Algunos tratamientos biológicos para semillas no matan ni desvitalizan a las plagas; dichos tratamientos se aplican de manera superficial a la semilla y, una vez esta se siembra y germina, estos tratamientos biológicos colonizan rápidamente a la rizósfera y el sistema de desarrollo de las raíces para limitar la transmisión de la enfermedad de la semilla a la plántula. En estos casos, la eficacia podría variar según las condiciones ambientales y la microflora del suelo. Por ende, tal vez tenga que determinarse la eficacia del tratamiento de la semilla evaluando los efectos en las plantas que surjan a través de estudios de crecimiento en diferentes lugares/condiciones. En tales casos, estos temas deberían discutirse con la ONPF antes de realizar pruebas.

### **6. Factibilidad de los tratamientos**

La Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias 28 (*Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas*) brinda orientación en cuanto a asuntos relacionados con la factibilidad de los tratamientos. Para las semillas en particular, una consideración especial es el efecto de los tratamientos en la viabilidad o tasa de germinación de la semilla. Los tratamientos que afectan de manera negativa al producto deberían considerarse cuidadosamente antes de utilizarse. La información acerca de los efectos de los tratamientos en los siguientes atributos de la semilla debería incluirse en los resultados de la investigación de la eficacia, puesto que son una consideración importante para los usuarios de tratamientos para semillas:

- Vigor
- Viabilidad
- Daño físico
- Alteraciones fisiológicas de la semilla
- Promoción del estado latente o germinación prematura de la semilla
- Efectos en el almacenamiento de la semilla
- Vida útil del tratamiento

Otros aspectos de la factibilidad que hay que considerar incluyen el costo, el aspecto práctico de su aplicación y la accesibilidad a los insumos (equipos y materiales).

Cabe mencionar que es probable que las autoridades responsables necesiten registrar los tratamientos con plaguicidas que se utilicen en semillas tanto en el país exportador como en el importador.

## **7. Consideraciones especiales para la investigación de los tratamientos fitosanitarios para semillas**

### **7.1 Pruebas de semillas sometidas a tratamiento**

Durante la investigación, podrá ser necesario confirmar si el tratamiento ha desvitalizado, matado o inactivado a la plaga, o tal como se indica en el apartado 5.4 cuando los tratamientos biológicos previenen la transmisión de la enfermedad. Esto puede realizarse mediante una prueba de diagnóstico apropiada si la prueba puede indicar que la plaga se ha desvitalizado o eliminado.

Sin embargo, cabe mencionar la siguiente información que se encuentra en la NIMF 38 *Movimiento internacional de semillas*: “Los resultados de las pruebas con semillas tratadas deberían interpretarse con precaución, ya que pueden plantearse las situaciones siguientes:

- El tratamiento inactiva la plaga, pero el método de detección detecta tanto las plagas viables como las inviables. Es lo que podrá ocurrir con algunas pruebas serológicas o moleculares, o cuando la detección utilice criterios morfológicos para identificar plagas o estructuras de plagas que podrán sobrevivir al tratamiento (nematodos o esporas). En tales casos, la determinación de la eficacia del tratamiento solo es concluyente si se utiliza una prueba validada para semillas tratadas.
- El tratamiento inhibe física o químicamente el método de detección; por ejemplo, algunos métodos de detección de bacterias se ven afectados por los tratamientos con fungicidas.
- El tratamiento incide de forma negativa en el método de detección; por ejemplo, un método detecta solo las plagas presentes externamente, y las que sigan estando presentes internamente después del tratamiento no pueden detectarse. En estas situaciones, deberían utilizarse otros métodos que sean capaces de detectar la infección interna”.

En algunos casos, podría ser apropiado cultivar semillas bajo condiciones propicias a enfermedades para determinar si los patógenos viables aún están presentes. Antes de cultivar semillas, existen diversos tipos de métodos *in vitro* que pueden utilizarse para verificar la presencia de patógenos (p. ej., germinación de semillas en un medio de cultivo o en papel secante humedecido con agua estéril).

Para descartar cualquier prueba adicional de lotes de semillas con tratamiento, las ONPF podrían entrar en un acuerdo comercial en el cual ambas partes hayan revisado los datos de investigación del tratamiento y acordado que es suficiente para mitigar el riesgo fitosanitario. Si se considera necesario realizar pruebas adicionales de la semilla sometida a tratamiento, se dejaría a discreción de la ONPF y debería realizarse solamente si existe una justificación técnica según las normas pertinentes (NIMF 1, 11, 28, 38, etc.). Una vez que se haya llegado a un acuerdo sobre el tratamiento que se utilizará en el comercio, la(s) ONFP(s) tal vez necesite(n) verificar periódicamente la eficacia del tratamiento a través de pruebas.

## **8. Intercambio de protocolos y datos de investigación entre las ONPF de la NAPPO**

Todos los resultados, incluyendo el protocolo de investigación utilizado, los datos en bruto y el análisis estadístico deberían compartirse con la ONPF. La calidad y constancia de los datos determinarán si los resultados de las investigaciones serán aceptados. La ONPF que ha aprobado el tratamiento debería considerar proveer los detalles del tratamiento a la ONPF del país importador para consideración del mismo. Si un país miembro de la NAPPO aprueba un tratamiento desarrollado de acuerdo con un protocolo de investigación apropiado, otros países miembros de la NAPPO podrían considerar la aprobación de dicho tratamiento para su propio uso.

## **9. Brecha de conocimientos**

Aunque el comercio de semillas ha aumentado drásticamente en los últimos 40 años, las herramientas disponibles para los funcionarios normativos para mitigar las plagas transmitidas por semillas son muy limitadas y es un área que merece investigación adicional. Muchos de los tratamientos que actualmente están disponibles para fines fitosanitarios no son apropiados para abordar a los patógenos que se encuentran dentro o sobre el tegumento de las semillas, en el caso de las semillas que se utilizan con fines de propagación ya que reduce drásticamente la germinación de la semilla. Los funcionarios normativos necesitan que se desarrollen otras opciones de tratamientos para patógenos transportados y transmitidos por semillas que se encuentren dentro o sobre el tegumento de las semillas o en el endosperma.

Varias empresas privadas están investigando tecnologías nuevas para aplicar tratamientos a los patógenos transmitidos por semillas, pero los tratamientos tienen que ser validados por las ONPF para poder utilizarse con fines fitosanitarios. La industria y los científicos del gobierno necesitan desarrollar opciones adicionales para patógenos externos e internos de la semilla y ser validados para uso de las ONPF.

Las pruebas de semillas pueden utilizarse para confirmar la condición fitosanitaria de un envío en el puerto de entrada, pero hay muchas brechas que necesitan llenarse en relación con las pruebas. Primero, las pruebas de semillas pueden generar resultados erróneos si se realizan en semillas que han sido sometidas a tratamiento. Es necesario que las ONPF desarrollen y validen las pruebas de semillas contra patógenos prioritarios, que puedan aplicarse después que la semilla haya sido sometida a tratamiento. El contar con una prueba efectiva para semillas permitirá a los funcionarios normativos tomar decisiones normativas bien fundadas en el puerto de entrada con respecto a la condición de la infección en un envío importado.

Además, las metodologías de muestreo para semillas es un área que merece investigación adicional. El muestreo puede afectar la capacidad de detección de patógenos en lotes de semillas. El tamaño de la muestra necesario puede variar dependiendo del patógeno y el tipo de semilla.

Muchos lotes de semillas que se mueven alrededor del mundo contienen menos de 20,000 semillas. Estos lotes pequeños de semillas presentan un reto único a las ONPF en cuanto al muestreo y las pruebas. Muy a menudo, los lotes de semillas son muy pequeños para que los resultados de la prueba brinden un resultado de importancia estadística. El desarrollo de tratamientos efectivos para patógenos cuarentenarios puede facilitar la movilización de estos lotes pequeños de semillas.



## 10. Referencias

- NIMF 11. 2016. *Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias*. Roma, CIPF, FAO.
- NIMF 28. 2016. *Tratamientos fitosanitarios para plagas reglamentadas*. Roma, CIPF, FAO.
- NIMF 38. 2017. *Movimiento internacional de semillas*. Roma, CIPF, FAO.
- NRMF 36. 2013. *Directrices fitosanitarias para la movilización de semillas*. Ottawa, Canadá, NAPPO.
- USDA. 2016. *Treatment Manual*.  
[https://www.aphis.usda.gov/import\\_export/plants/manuals/ports/downloads/treatment.pdf](https://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/ports/downloads/treatment.pdf)

## APÉNDICE 1 - Ejemplos de diferentes tipos de tratamientos para semillas

### Plaguicidas

Un ejemplo de tratamiento químico es el uso de Thiram para brindar tratamiento a semillas de alfalfa:

Semillas de alfalfa (*Medicago falcata*, *M. gaetula*, *M. glutinosa*, *M. media* y *M. sativa*)

Plaga: *Verticillium albo-atrum*

Tratamientos alternativos:

Tratamiento: polvo con 75 por ciento de Thiram a una tasa de 166 gramos por 50 kilogramos de semilla (3.3g/kg).

Tratamiento: Someter a tratamiento con un compuesto de Thiram 75 WP a una tasa de 166 gramos por 360 mililitros de agua por 50 kilogramos de semillas (3.3g plaguicida/7.2ml agua/kg semilla). (Nota: El tratamiento químico es la aplicación de Thiram 75 WP)

### Desinfectantes

Un ejemplo del uso de un desinfectante es agua caliente además de inmersión química para someter las semillas de cítricos a tratamiento contra el cancro de los cítricos (*Xanthomonas axonopodis*).

Semillas para cítricos (familia de Rutaceae)

Plaga: cancro de los cítricos (*Xanthomonas axonopodis*)

Tratamiento: agua caliente más inmersión química

1. Lave la semilla en caso de que cualquier material mucilaginoso, tal como la pulpa, se haya adherido a la semilla.
2. Sumerja la semilla en agua caliente a 125 °F (51.6 °C) o a una temperatura más alta durante 10 minutos.
3. Luego, sumerja la semilla en una solución que contenga 200 partes por millón de hipoclorito de sodio con un pH de 6.0 a 7.5 por lo menos durante 2 minutos. (Nota: El tratamiento químico es la aplicación de hipoclorito de sodio)

### Los tratamientos físicos incluyen el tratamiento térmico y el aire caliente forzado

Un ejemplo de un tratamiento físico es el uso de vapor para someter a tratamiento a las semillas de maíz:

Maíz (semilla) (lotes pequeños para propagación, pero no para fines de consumo humano o animal o para fabricación de aceites)

Plaga: Varias enfermedades relacionadas con el maíz

Tratamiento: Aplicar tratamiento a semillas con una aplicación seca de Mancozeb combinado con Captan. Desinfectar bolsas con: 1) calor seco a 212 °F por 1 hora. Aplicar tratamientos a fardos pequeños solamente; o 2) aplicar vapor a 10 libras de presión a 40 °F durante 20 minutos.

## **APÉNDICE 2 - Ejemplo de tamaños de pruebas específicas para los tratamientos para semillas –**

Ejemplo 1: Un ejemplo de tamaño de prueba específico que está aprobado por el USDA-APHIS es de 30,000 semillas infectadas o una cantidad mayor. Ningún propágulo de patógeno debería sobrevivir en las 30,000 semillas infectadas sometidas a prueba. Estadísticamente, los resultados de la prueba definidos aquí brindan un control probit de 8.72 con 99.990015 por ciento de mortalidad a un nivel de 95% de confianza con una tasa de infección de 0.0001000. Si el APHIS las aprueba, se pueden utilizar cantidades más pequeñas según la biología del hospedante y el patógeno. El tamaño del lote de control sin tratamiento debe ser por lo menos 25% tan grande como el lote de semillas utilizado para la prueba del tratamiento. Utilice por lo menos 4 repeticiones. Cada repetición debería tener el equivalente de 100% de semilla infectada.

## **APÉNDICE 3 - Consideraciones adicionales para desarrollar tratamientos para semillas**

### **Pruebas para fitopatógenos**

Utilice aislados/cepas del fitopatógeno de interés que represente a las poblaciones más virulentas en el país para el cual se está desarrollando el tratamiento. La virulencia debería demostrarse y mantenerse a través del período experimental. La investigación debe suministrar información completa sobre 1) identidad taxonómica del patógeno, 2) fecha de aislamiento, 3) patogenicidad y 4) metodología para el mantenimiento del patógeno. Utilice inoculación natural o artificial e incluya una descripción completa de los métodos de inoculación. Cuando se utilicen métodos artificiales, el método debería asemejarse a la infección natural en la mayor medida posible. Es preferible utilizar semilla infestada o infectada de manera natural pero el nivel del inóculo debería considerarse de manera cuidadosa.

### **Semilla hospedante**

Realice todas las pruebas preliminares, investigación de dosis-respuesta y ensayos confirmativos en el producto para el cual se está desarrollando el tratamiento.

Utilice semillas de calidad de mercado que no hayan sido sometidas a tratamiento con fungicidas u otros químicos.

Utilice un cultivar que sea altamente susceptible a infecciones. Cada tratamiento preliminar incluyendo la repetición del control no sometido a prueba debería incluir por lo menos 100 semillas infectadas.

### **Tratamientos para semillas**

Tratamiento con plaguicida – de ser posible, utilice fungicidas registrados tanto en el país exportador como en el importador para el cultivo que se ha de someter a prueba con el fin de evitar problemas con el uso de plaguicidas o barreras comerciales. Cuando el fungicida no esté registrado, es probable que se tenga que obtener las autorizaciones normativas adecuadas. Escoja fungicidas que tengan un nivel alto de eficacia.

Tratamiento físico – los tratamientos con agua caliente o aceite pueden utilizarse en varios productos de semillas para detectar diversas enfermedades. Presente una descripción detallada del baño termal y los procedimientos para realizar el tratamiento térmico. Se sabe que este tratamiento ofrece un nivel de control cuarentenario para algunos patógenos. Puede utilizarse en combinación con los tratamientos químicos. Las lecturas de la temperatura no pueden calcularse por promedio. Desinfectantes – Hay varios tratamientos químicos para semillas además de los fungicidas, incluyendo el cloro, cloruro de amonio cuaternario, peróxido de hidrógeno, ácido peroxiacético que se utilizan como desinfectantes. Los investigadores deberían ofrecer una descripción detallada del equipo y los procedimientos cuando realicen pruebas a los desinfectantes.

### **Equipo**

Equipo – Los investigadores deberían proporcionar una descripción detallada del equipo de monitoreo del tratamiento que se utilice durante el estudio, p. ej., tipo, cantidad y ubicación del sensor; precisión del equipo de monitoreo; especificaciones del equipo de tratamiento. También se deberían presentar diagramas y fotos para todos estos factores para las pruebas a pequeña escala y las confirmativas, según corresponda.