



# NAPPO

North American Plant Protection Organization  
Organización Norteamericana de Protección a las Plantas

## Informe sobre conferencia telefónica de la NAPPO

Grupo de expertos:	Semillas - subgrupo 3 del ToBRFV	
Lugar:	Videoconferencia (plataforma en Zoom)	
Fecha:	20 de agosto del 2021	
Presidenta	Beatriz Xoconostle (CINVESTAV, México)	
Participantes:		
Samantha Thomas (industria de EE. UU.)	Jennifer Nickerson (ACIA)	Maribel Hurtado (NAPPO)
Geoffrey Dennis (USDA-APHIS-PPQ)	Edward Podleckis (USDA-APHIS-PPQ)	Kevin Ong (TAMU)
Marlene Ortíz (industria de México)	Vessela Mavrodieva (USDA-APHIS-PPQ)	Stephanie Bloem (NAPPO)
Nedelka Marín-Martínez (NAPPO)	Alonso Suazo (NAPPO)	Ángel Ramírez (SENASICA)
<b>Resumen</b>		
Proyecto:	Proyecto piloto para la armonización de protocolos de diagnóstico para plagas de semillas centrado en el virus del fruto rugoso café del tomate (ToBRFV).	
Asunto 1	Fuentes de semillas y ARN	
Decisiones:	<p>La presidenta del subgrupo:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• presentó una lista de laboratorios participantes en Canadá y México y solicitó a los miembros de EE. UU. enviar la lista de laboratorios de su país para actualizar la base de datos</li><li>• indagó acerca de la disponibilidad de material de control para las pruebas del anillo. Los miembros de EE. UU. indicaron que:<ul style="list-style-type: none"><li>○ la industria de México y EE. UU. cuentan con semillas</li><li>○ PPQ tiene semillas que pueden utilizarse como controles</li><li>○ es necesario determinar quién va a obtener esas muestras y definir lo que es una muestra. También se indicó que los laboratorios necesitan contar con protocolos para calcular de una mejor forma cuántas semillas se necesitarán</li><li>○ es necesario trabajar con las semillas para caracterizarlas y para asegurar la uniformidad de las muestras (uniformidad en el nivel de infestación, etc.). Kevin Ong y Vessela Mavrodieva indicaron que los laboratorios en TA&amp;N y PPQ pueden ayudar con la caracterización de las</li></ul></li></ul>	

	<p>muestras. Ángel Ramírez indicó que SENASICA puede ayudar pero con el protocolo que ellos están utilizando ahora. El trabajo con otros protocolos tomará más tiempo. El Sr. Ramírez indicó que el Centro Nacional de Metrología (CENAM) podría hacer el trabajo en México (evaluar las semillas para determinar los niveles de infestación). CENAM necesitará las semillas del GE. Vessela sugirió que ella puede trabajar con Kevin Ong en la elaboración de una lista de lo que se necesita para los paneles</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ El Sr. Ramírez propuso que CENAM prepare los materiales de referencia candidatos (controles positivos y negativos, ARN, etc.) pero costaría aproximadamente US \$52,260 para cada uno de los materiales de referencia. Samantha Thomas indicó que la industria de EE. UU. está dispuesta a hacer la caracterización del material de las semillas (homogeneidad y contenido viral) sin costo alguno</li> <li>○ los miembros del GE sugirieron invitar a los miembros de CENAM a unirse a las discusiones del GE y brindar detalles adicionales acerca de las preparaciones y los costos de las muestras</li> <li>○ considerar tener los paneles para que los laboratorios practiquen antes de que se implementen las pruebas del anillo mismas. La industria de EE. UU. indicó que ellos tienen semillas y de ser necesario, se pueden preparar los paneles para que los laboratorios prueben los protocolos antes de realizar las pruebas del anillo.</li> </ul>
Asunto 2	Permisos
Decisiones:	<p>La presidenta:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• recordó al GE que las semillas y el ARN se moverán por los países de la NAPPO</li> <li>• indicó que México ya brindó detalles de los permisos necesarios para mover el material</li> <li>• indagó acerca de los permisos necesarios en EE. UU. y Canadá.</li> </ul> <p>EE. UU. indicó que los permisos con un período específico son necesarios para mover cualquier material vegetal hacia EE. UU. No se necesitan permisos para mover el ARN.</p>
Asunto 3:	Protocolos
Decisiones:	<p>La presidenta indicó que:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• la versión preliminar del manual contiene: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ dos protocolos de extracción de ARN (en caso de que un laboratorio los necesite, puesto que este paso no estará armonizado</li> <li>○ tres protocolos para RT-PCR convencional</li> </ul> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ se han incluido dos protocolos para qRT-PCR en el documento (directrices para los laboratorios)</li> <li>● informó que se ha redactado un documento con información detallada acerca de cada protocolo, pero se necesita información adicional de algunos protocolos para completarlo</li> <li>● se solicitó información acerca de algunos protocolos que se necesitan para completar el documento. Marlene Ortiz la proporcionará</li> <li>● indicó que el GE debería calcular la cantidad y los tipos de reactivos que se han de utilizar (incluidos los primers) tomando en cuenta el número de laboratorios y los protocolos. La hoja de cálculo que fue creada por Geoffrey Dennis (APHIS PPQ) podría utilizarse como referencia</li> <li>● indicó que es importante determinar el equipo que se necesita en cada laboratorio participante, especialmente los termocicladores que se utilizan para las reacciones de PCR. Vessela Mavrodieva, Kevin Ong y Ángel Ramírez acordaron trabajar en esta tarea.</li> </ul>	
Asunto 4:	Recolección, almacenamiento y análisis de datos	
Decisiones:	<p>Geoffrey Dennis (APHIS PPQ) indicó que:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● PPQ cuenta con un portal en línea para la introducción, el almacenamiento y análisis de datos</li> <li>● se ha creado un módulo para la prueba del anillo de la NAPPO dentro del portal</li> <li>● se ofrecerá una demostración de 30 minutos durante la próxima conferencia telefónica con el GE</li> <li>● se puede conceder un permiso especial a la oficial científica de la NAPPO quien ayudará con el almacenamiento y análisis de datos</li> </ul>	
<b>Próximos pasos</b>		
<b>Responsable</b>	<b>Acciones</b>	<b>Fecha</b>
Jennifer Nickerson	Presentar un diagrama de flujo con los pasos necesarios para los paneles de semillas	
Vessela Mavrodieva, Ángel Ramírez y Jennifer Nickerson	Verificar con sus laboratorios participantes el tipo de equipo de PCR que tienen en cuanto a su compatibilidad	
Vessela Mavrodieva y Kevin Ong	Elaborar una lista de lo que se necesita para el panel de semillas	
Marlene Ortiz	Brindar información adicional a Beatriz acerca de los protocolos que se seleccionaron.	
<b>Próxima reunión</b>		
Lugar:	Se enviará al GE la encuesta en Doodle para programar la próxima videoconferencia.	
Fecha:	Por determinar	
<b>Asuntos propuestos</b>		

1. Presentación de CENAM acerca de la preparación de material de referencia candidatos (20 min, 10 min para preguntas y comentarios)
2. Explicación del diagrama de flujo con los pasos necesarios para los paneles de semillas. Presentada por Jennifer Nickerson
3. Lista del equipo de laboratorio que está disponible en los laboratorios participantes, énfasis en equipo para PCR compatible. Presentado por Vessela Mavrodieva, Ángel Ramírez y Jennifer Nickerson
4. Lista de lo que se necesita para los paneles de semillas. Presentada por Vessela Mavrodieva y Kevin Ong
5. Demostración de Geoffrey Dennis (APHIS PPQ) del portal en línea para la introducción, el almacenamiento y análisis de datos (20 min, 10 min para preguntas y comentarios)
6. Solicitud de la industria: protección de propiedad intelectual de variedades de semillas que se utilizan en el ensayo. (Solicitud de uso restringido: solo para fines de diagnóstico para limitar la distribución de semillas)
7. Asignación de tareas según el diagrama de flujo
8. Comentarios generales