



NAPPO

North American Plant Protection Organization
Organización Norteamericana de Protección a las Plantas
MEXICO - USA - CANADA

PROTOCOLO DE TRATAMIENTOS DE LA NAPPO

PT n.º 02

Microinjerto de Ápices Caulinares (MAC)

Secretaría de la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas
1431 Merivale Road, 3rd. Floor, Room 140
Ottawa, Ontario, Canadá, K2B 0B9
4 de marzo de 2015

Ingrediente activo	NA
Tipo de tratamiento	Biológico
Plaga objetivo	Virus, viroides, espiroplasmas y otros patógenos trasmisibles por injerto.
Artículos reglamentados objetivo	<i>Citrus</i> spp.
Calendario del tratamiento	<p>El microinjerto se puede realizar en cualquiera época en que los ápices estén disponibles.</p> <p>Un calendario o programa típico sería:</p> <p>Día 1: Preparar el sustrato para crecer patrones.</p> <p>Día 2: Preparar materiales para plantar semillas; quitar tegumentos de las semillas.</p> <p>Día 3: Plantar semillas.</p> <p>Día 6: Defoliar árboles (fuente de los ápices).</p> <p>Día 15: Preparar sustrato para microinjerto.</p> <p>Día 16 – 18: Recoger ápices; microinjerto.</p> <p>Día 24, 31, 38: Verificar microinjertos.</p> <p>Nota: Para obtener detalles adicionales véase el punto 3.</p>
Otra información pertinente	<p>El tratamiento de microinjertos debería usarse como parte de las medidas que se aplican en un programa de certificación de material propagativo libre de patógenos. El siguiente cuadro representa el flujo normal de los procedimientos usados para los tratamientos de microinjertos de ápices caulinares y termoterapia.</p> <pre> graph TD A[/Vareta/] --> B{Buena condición} B -- No --> C[Esterilizar y destruir] B -- Sí --> D[Propagación para establecimiento de fuente de plantas (yemas injertadas sobre patrón vigoroso, opcional)] D --> E[Diagnóstico Inicial * (atención en patógenos tolerantes al calor, opcional)] E --> F{Sano} F -- No --> C F -- Sí --> G[Propagación y preacondicionamiento ** (yemas injertadas sobre patrón resistente/tolerante al calor)] G --> H[Termoterapia] H --> I[Cultivo in vitro y microinjerto de ápice caulinar ***] I --> J[Diagnóstico específico (atención en patógenos detectados previamente)] J --> K{Sano} K -- No --> G K -- Sí --> L[Diagnóstico completo y final] L --> M{Sano} M -- No --> G M -- Sí --> N[Liberación] </pre>

	<p>*Se recomienda un diagnóstico inicial. Esto ayudará a comparar la condición fitosanitaria del material antes y después del tratamiento para esos patógenos que se detectaron (no todos los patógenos se detectan con el diagnóstico inicial). Sin embargo, el material propagativo** puede someterse directamente a microinjerto de ápices caulinares y/o termoterapia.</p> <p>***El microinjerto de ápices caulinares y la termoterapia pueden ser tratamientos complementarios. El material vegetal puede someterse a ambos tratamientos o a uno u otro. Este protocolo se refiere específicamente al microinjerto.</p>
<p>Referencias</p>	<p>Brown, L. G. y L. L. Breman. 1996. Introduction of Citrus Germplasm into Florida. Plant Pathology Circular No. 379. Fla. Dept. Agric. & Consumer Services.</p> <p>Citrus Clonal Protection Program (CCPP). Shoot-tip micrografting. Riverside, California.</p> <p>Frison, E. y M. Taher. 1991. Technical Guidelines for the Safe Movement of Citrus Germplasm. FAO/IBPGR.</p> <p>Navarro, L. 1979. Microinjerto de ápices caulinares <i>in vitro</i> para la obtención de plantas de agrios libres de virus. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Centro de Levante, Moncada (Valencia). Bol. Serv. Plagas, 5: 127 – 148.</p> <p>Navarro, L. 1981. Citrus shoot-tip grafting <i>in vitro</i> (STG) and its applications: a review. Proc Int Soc Citriculture pp 452-456.</p> <p>Navarro, L., C.N. Roistacher y T. Murashige. 1975. Improvement of shoot-tip grafting <i>in vitro</i> for virus-free citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100:471-479.</p> <p>Navarro, L. y J. Juárez. 1977. Elimination of citrus pathogens in propagative budwood. II. <i>In vitro</i> propagation. Proc. Int. Soc Citriculture 3:973-987.</p> <p>NRMF 16. 2013. <i>Medidas integradas para la movilización de material propagativo de cítricos</i>. Ottawa, NAPPO.</p> <p>Roistacher, C.N., L. Navarro y T. Murashige. 1976. Recovery of citrus selections free of several viruses, exocortis viroid, and <i>Spiroplasma citri</i> by shoot-tip grafting <i>in vitro</i>. Proc 7th Conf Intern Org Citrus Virol. IOCV, Riverside. Pp 186-193.</p> <p>Wisler, G. C., L. G. Brown y C. L. Schoulties. 1996. A Manual for Introduction of Citrus Germplasm into Florida. Fla. Dept. Agric. & Consumer Services.</p>

Factibilidad y aplicabilidad

Procedimiento que debe aplicarse para realizar el tratamiento fitosanitario

Lo siguiente es un resumen del procedimiento de Brown y Breman (1996); CCP (ND); Frison y Taher (1991); Navarro (1979, 1981); Navarro et al. (1975); Roistacher et al. (1979); Wisler et al. (1996).

Para realizar la técnica de microinjerto de ápice caulinar es necesario desarrollar las siguientes actividades:

1. Obtención del patrón y germinación de plántulas *in vitro*
2. Obtención de brotes jóvenes
3. Microinjerto
4. Reinjerto en plántulas cultivadas de manera convencional o
5. Transplante de las plantas microinjertadas directamente en suelo.

1. Obtención del patrón

- Asegúrese que las semillas que se utilizan para producir patrones no están infectadas por algún patógeno transmisible por semilla.
- Cuando las semillas (Troyer o Carrizo) hayan sido sometidas a tratamiento con fungicida, es necesario eliminar el fungicida con un lavado previo.
- Deje las semillas remojando en agua destilada durante 24 horas (cambiar el agua cada 8 horas).
- Ponga las semillas en agua destilada a 52 °C, durante 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, coloque las semillas en agua a temperatura ambiente.
- Pele (descascarille) las semillas eliminando los dos tegumentos. Almacene las semillas peladas en el refrigerador en cajas de Petri con discos de papel filtro húmedo. Las semillas pueden prepararse (pelarlas) hasta 24 horas antes de sembrarlas.
- Cuando las semillas estén listas para sembrarse, prepare el medio para germinación de semillas y vacíe 25 ml de éste en tubos de cultivo estériles de 25x150 mm.
- Envuelva los grupos de 10 semillas peladas (descascarilladas) en una gasa. En una campana de flujo laminar, desinfecte las semillas por inmersión en hipoclorito de sodio al 10% (formulación comercial) más 1% de Tween 20 durante 10 minutos. Lave tres veces con agua destilada estéril y usando técnicas asépticas, siembre dos semillas por tubo con medio para germinación de semillas. Cubra los tubos con las tapas.
- Mantenga los tubos a 27 °C en oscuridad, hasta obtener la plántula, aproximadamente entre 2 a 3 semanas.

2. Obtención de brotes jóvenes

Los brotes pueden obtenerse directamente del campo o de plantas cultivadas en invernadero, por defoliación de la planta. En el caso de plantas en el invernadero, se defolia al árbol quitando todas las hojas y se poda el crecimiento joven y tierno. Normalmente, se necesitan 10 a 15 días para obtener ápices de un tamaño apropiado para microinjertar (1 a 2 cm). El crecimiento depende de la época del año y de la variedad. El árbol se puede mover a un cuarto más caliente o más fresco si los brotes están creciendo demasiado lento o demasiado rápido.

Una alternativa es el uso de yemas axilares cultivadas *in vitro*.

- Use varetas de aproximadamente 10 cm de longitud, que tengan de 4 a 6 yemas. Una alternativa es usar una vareta que tenga una sola yema.

- Lávelas con etanol al 95% y agua para eliminar el polvo.
- En una campana de flujo laminar, desinfectelas por inmersión en hipoclorito de sodio al 10% más 1% de Tween 20 durante 10 minutos. Lave tres veces con agua destilada estéril, haga un corte diagonal en la parte inferior de la vareta y colóquela en un tubo de cultivo esterilizado que contenga aproximadamente 25 ml de medio para obtener brotes para el MAC. Otra posibilidad es que los tubos pueden contener 1/3 del volumen de arena hortícola enriquecida con 25 ml de sales de MS de 4.3 g/L (pH 5.7) y sembrar la vareta en la arena.
- Mantenga los tubos que contienen las varetas en el cuarto de producción de brotes, a una temperatura entre 25 a 30 °C, y una iluminación de 1000 lux/16 horas.

La mayoría de las yemas producirán los brotes entre 7 a 14 días. Es importante usar brotes menores de 5 cm de longitud para evitar ápices en estado de abscisión.

3. Microinjerto

Los siguientes pasos deberían realizarse bajo condiciones asépticas, bajo una campana de flujo laminar. Todos los instrumentos deberían esterilizarse con hipoclorito de sodio al 10% (formulación comercial).

Patrón

- Con unas pinzas extraiga el patrón del medio de cultivo y colóquelo en una caja de Petri bajo un microscopio de disección.
- Decapite el patrón, dejando una porción de epicótilo de 1 a 2 cm y elimine el ápice de la raíz, dejando un trozo de raíz de 4 a 6 cm. Elimine los cotiledones y yemas axilares.
- Sostenga la plántula de manera firme y con un bisturí realice un corte en forma de triángulo (1 mm) sobre la corteza del patrón y sin alcanzar la médula. El triángulo se hace por debajo del corte de decapitación. O bien, se puede realizar un corte en forma de T inversa.
- Coloque la planta en la caja de Petri lejos de la luz.

Brotes

- Use ápices de 1 a 2 cm de longitud, frescos y en buenas condiciones.
- En una campana de flujo laminar, desinfecte los brotes por inmersión en hipoclorito de sodio al 5 % (formulación comercial) más 1% de Tween 20 durante 10 minutos, lave tres veces con agua destilada estéril.
- Tome un ápice caulinar con una pinza invertida y colóquelo bajo el microscopio de disección.
- Sosteniendo el ápice caulinar lo más cerca posible al extremo, con un bisturí quite las hojas del primordio, dejando únicamente el meristemo y 2-3 hojas del primordio.
- Sumerja la navaja o bisturí en hipoclorito de sodio al 10 % (formulación comercial), después en agua y corte la punta. Trabaje con el extremo de la navaja y sustituya ésta después que las puntas no se separen con facilidad (generalmente 5 o 10 cortes).

Microinjerto

- Con el brote aún en el extremo de la navaja, coloque el ápice caulinar sobre el corte triangular o sobre el corte T. La base del ápice debe traslaparse con la base del triángulo. Si se utiliza el corte T, el brote debería colocarse en forma plana sobre la superficie del corte y los bordes del corte deberían estar cerrados sobre el brote.
- Tome la planta microinjertada con una pinza y coloque la punta de la raíz en el agujero del soporte "Heller" (utilizando el medio de cultivo preparado según el punto 5.b.1. abajo). Baje el soporte hasta el tubo de cultivo de tal forma que esté a nivel con el medio. Tape el tubo y colóquelo en la gradilla.
- O bien, tome la planta microinjertada con una pinza y coloque el microinjerto en el tubo con el medio de recuperación del injerto (utilizando el medio preparado según el punto

5.b.2 abajo). Tape el tubo y colóquelo en la gradilla.

- Después de realizar 4 a 5 injertos, sumerja las herramientas en alcohol y colóquelas sobre una toalla limpia para que se sequen.
- Mantenga los microinjertos en el cuarto o cámara de cultivo a una temperatura entre 26 a 27 °C, y una iluminación de 1000 lux/16 horas, de 5 a 8 semanas o hasta que las plantas muestren por lo menos dos o tres hojas expandidas procedentes del ápice.
- Revise periódicamente los microinjertos y con unas tijeras, de manera aséptica, elimine los brotes adventicios producidos por el patrón.

4. Reinjerto

- Cuando el microinjerto ha prendido y crecido cerca de 1-2 cm, las plantas pueden reinjertarse sobre plántulas cultivadas convencionalmente.
- Use un patrón vigoroso libre de enfermedades, como limón rugoso o *C. volckameriana* y corte por arriba de 30 cm usando pinzas esterilizadas.
- Utilizando una navaja para injertar esterilizada, realice un corte en forma de T sobre la corteza del limón rugoso.
- Retire la planta microinjertada del tubo y corte las raíces y los brotes adventicios con una navaja esterilizada. Realice un corte debajo del microinjerto, de modo que haya un área plana que garantice el contacto con el tejido del cambium del limón rugoso.
- Coloque cuidadosamente la planta microinjertada dentro del corte T y envuelva el injerto con cinta.
- Coloque una bolsa de plástico sobre la planta y manténgala bajo sombra en el invernadero.
- Después de dos semanas abra ligeramente la bolsa pero déjela sobre la planta y mantenga la planta bajo sombra. Tres o cuatro días más tarde, quite completamente la bolsa de plástico y conserve en sombra a la planta por una semana más.
- Retire la planta de la sombra según sea necesario.

Cuando el injerto tenga de 2 - 3 meses, las pruebas de diagnóstico deberían realizarse en el material microinjertado para corroborar su condición fitosanitaria. Diversas metodologías se pueden utilizar para este objetivo. En un programa de certificación de plantas, se realiza el diagnóstico biológico a través de indexado (a saber, injerto del material sometido a tratamiento en diversas plantas indicadoras de enfermedades) y/o a través de un diagnóstico de laboratorio usando técnicas serológicas y moleculares. Sírvase consultar los anexos 1 y 2 de la NRMF 16: 2013 sobre las pruebas de diagnósticos aceptadas para los diversos patógenos que afectan a los cítricos.

5. Medio

5.a. Medio para sembrar semillas

1. Agregue 1900 ml de agua destilada en un vaso de precipitados de 4 L.
2. Agregue 8.66 g de sales de Murashige y Skoog y disuélvalas.
3. Verifique el pH de la solución y agregue IN NaOH para que el pH alcance 5.7 ~ 0.1.
4. Transfiera la solución a un matraz Erlenmeyer de 4 L y agregue agua destilada para que la solución alcance 2000 ml.
5. Agregue 4 g de reemplazo del agar y agite el matraz ligeramente.
6. Tape el matraz con papel aluminio y colóquelo en la autoclave durante 7 minutos.
7. Prepare dos gradillas cada una con 40 tubos de cultivo.
8. Cuando se complete la autoclave, retire el matraz y agítelo cuidadosamente hasta que el reemplazo del agar se mezcle con la solución.
9. Mida 25 ml de agua en un tubo y utilícela con aproximadamente 25 ml de medio.

Asegúrese que la abrazadera se encuentra en el tubo, rellene el embudo con medio y vierta 25 ml en cada tubo.

10. Lave el embudo y matraz con agua caliente para eliminar el reemplazo del agar.
11. Ponga el tapón de plástico en los tubos y colóquelos en la autoclave durante 15 minutos. Coloque una bandeja encima de los tubos para sostener el tapón de plástico durante el proceso de autoclave.
12. Pase los tubos estériles hacia el gabinete en el cuarto antipolvo para que se enfríen.

5.b.1 Medio para microinjerto (líquido, usando soporte Heller)

A. Materiales:

1. Vaso de precipitados de 4 L
2. Sales de M-S; 8.66 g
3. Vitaminas Whites; 20 ml
Acido nicotínico; 25 mg
Piridoxina; 25 mg
Tiamina He 1; 5 mg
Agua destilada; 250 ml

Con estos materiales prepare las vitaminas White en un matraz volumétrico de 250-ml y almacénelas en una botella etiquetada y con tapa en el refrigerador

4. Inosital; 200mg
5. Sucrosa; 150 g
6. Equipo de pH:
 - 1N NaOH
 - Amortiguador 7.0
 - Botella para rosear para enjuagar el electrodo
 - Toalla de papel para secar el electrodo
 - Vaso de precipitados
7. 80 tubos de cultivo (25 X 150 mm) en dos gradillas
8. Base y embudo
9. Materiales de soporte Heller:
 - papel de filtro Whatman, 9 cm
 - tubo de ensayo pequeño en su base
 - pincho de madera
10. 80 tapones de plástico

B. Procedimiento:

1. Agregue alrededor de 1800 ml de agua destilada a un vaso de precipitados de 4 L.
 2. Agregue 8.66 g de sales de M-S, 20 ml vitaminas Whites, 200 mg de inosital y 150 g de sucrosa.
 3. Revuelva con el agitador magnético hasta que se disuelva la sucrosa.
 4. Ajuste el pH a 5.7 + 0.1.
 5. Agregue el agua destilada para que la solución alcance 2000 ml.
 6. Coloque dos gradillas cada una con 40 tubos.
 7. Mida 25 ml de agua en un tubo y utilice esta para alcanzar alrededor de 25 ml de medio.
- Asegúrese que la abrazadera se encuentra en el tubo, rellene el embudo con medio y vierta 25 ml en cada tubo de cultivo.

5.b.2. Medio alternativo para microinjerto (gel, sin uso de soporte Heller)

A. Materiales

1. Vaso de precipitados de 4 L

2. Sales de M-S, 8.86 g
3. Vitaminas White; 20 ml
 - Acido nicotínico; 25 mg
 - Piridoxina; 25 mg
 - -Tiamina He 1; 5 mg
 - Agua destilada; 250 ml
4. Sucrosa, 150 g
5. Agar, grado de micropropagación, 14 g
6. Equipo de pH
 - 1N NaOH
 - amortiguador 7.0
 - botella para rosear para enjuagar el electrodo
 - toalla de papel para secar el electrodo
 - vaso de precipitados
7. 80 tubos de cultivo (25 X 150 mm) en dos gradillas
8. Base y embudo
9. 80 tapones de plástico

B. Procedimiento:

1. Agregue alrededor de 1800 ml de agua destilada en un vaso de precipitados de 4 L.
2. Agregue 8.66 g de sales de M-S, 20 ml vitaminas Whites, 200 mg de inosital, 150 g de sucrosa y 14 g de agar de grado de micropropagación.
3. Revuelva con el agitador magnético hasta que se disuelva la sucrosa.
4. Ajuste el pH a 5.7 + 0.1.
5. Agregue el agua destilada para que la solución alcance 2000 ml.
6. Coloque dos gradillas cada una con 40 tubos.
7. Caliente la solución en un agitador magnético para disolver el agar, observándolo atentamente para prevenir el "cocimiento excesivo"
8. Mida 25 ml de agua en un tubo y utilice esta para alcanzar alrededor de 25 ml de medio. Asegúrese que la abrazadera se encuentra en el tubo, rellene el embudo con medio y vierta 25 ml en cada tubo de cultivo.

5.c. Medio para adquirir brotes para MAC

A. Materiales

1 L de agua destilada
 sales de M-S de 4.3 g
 2 g de reemplazo del agar (o agar de grado microbiológico)
 10 ml vitaminas White (25 mg ácido nicotínico, 25 mg piridoxina, 5 mg tiamina HCl en 250 ml de agua destilada)

2. Procedimiento

Agregue las sales de M-S y las vitaminas White en el agua y disuélvalas. Ajuste el pH a 5.7, transfiera a un matraz de 2 L y agregue el reemplazo del agar. Coloque en la autoclave durante 7 minutos, retire y agite cuidadosamente en forma circular para dispersar el reemplazo del agar en la solución. Rellene los tubos de ensayo de 25 X 150 ml con aproximadamente 25 ml de medio. Tape los tubos de ensayo con los tapones de plástico y coloque en la autoclave durante 20 minutos. Retire los tubos y déjelos enfriar.

Costo de una instalación tipo para el tratamiento y gastos de funcionamiento, de ser apropiado

Para realizar la técnica de microinjerto, se requiere de equipo de laboratorio como: balanza, autoclave, potenciómetro, cristalería, sustancias varias (vitaminas, sales, etc.), microscopio estereoscópico, campana de flujo laminar, incubadora, lo que representa una inversión aproximada de 80,000 dólares estadounidenses.

Así también, se requiere de invernaderos para propagar las plántulas microinjertadas.

Importancia comercial, incluyendo su asequibilidad

Las enfermedades producidas por virus, viroides y otros organismos similares causan importantes pérdidas económicas en los cítricos de todo el mundo. Algunas enfermedades provocan la muerte de las plantas y otras disminuyen la producción y la calidad de la fruta, causando pérdida de vigor y de longevidad de la planta. Las virosis y otras enfermedades se transmiten mediante el injerto de yemas. Una vez realizado el injerto, la planta puede permanecer con la enfermedad latente durante muchos años. Las yemas que se extraigan de una planta con enfermedad latente originarán plantas enfermas. Los países con citricultura de avanzada han basado su éxito en el empleo de programas de certificación utilizando plantas libres de enfermedades, especialmente las causadas por virus, organismos similares y otros patógenos transmisibles por injerto.

Estas plantas *libres de virus* se obtienen a partir de plantas de variedades cítricas agrónomicamente ideales pero afectadas por una o más enfermedades causadas por virus u organismos similares. Para esto se recurre a técnicas que permitan la obtención de plantas libres de virus a partir de individuos enfermos. El microinjerto es una técnica usada para conseguir tal objetivo.

Hasta qué punto otras ONPF han aprobado el tratamiento como medida fitosanitaria

Los países que cuentan con un programa de certificación de material propagativo como España, EE. UU, etc. utilizan la técnica de microinjerto en sus programas de saneamiento.

Disponibilidad de los conocimientos especializados necesarios para aplicar el tratamiento fitosanitario

- Conocimiento de la técnica.
- Preparación de soluciones nutritivas.
- Experiencia o práctica con técnicas asépticas y manipulaciones a una escala micro.

Versatilidad del tratamiento fitosanitario

Se puede aplicar también a otros cultivos perennes. Potencialmente puede eliminar un rango de patógenos.

En qué medida el tratamiento fitosanitario complementa otras medidas fitosanitarias
El microinjerto es otra técnica para eliminar patógenos en material propagativo de cítricos. El microinjerto y la termoterapia pueden complementarse simultáneamente. El microinjerto se puede realizar usando los ápices de un árbol ya sometido a la termoterapia y a la inversa, la termoterapia se puede realizar con yemas de un árbol ya sometido al microinjerto de ápices caulinares. Debido a que ambas técnicas tienen sus propios puntos fuertes y débiles, muchas veces es preferible utilizar ambas técnicas juntas. Por ejemplo, algunos patógenos difíciles de eliminar con la termoterapia (a saber, <i>Spiroplasm citri</i>) se pueden eliminar con microinjerto de ápices caulinares, y otros que resultan difíciles eliminar con microinjerto de ápices caulinares (a saber, citrus tatter leaf virus) se pueden eliminar con la termoterapia. Si el material propagativo está infectado con más de un patógeno, el uso de las dos técnicas juntas puede ser obligatorio. Además, es posible utilizar una clase de termoterapia a 32 °C durante algunas semanas para precondicionar el material para el microinjerto de ápices caulinares. Este precondicionamiento también puede eliminar psorosis, un virus que es difícil eliminar con microinjerto.
Resumen de la información disponible sobre la debilidad del tratamiento o posibles efectos indeseables
La técnica de microinjerto se basa en la hipótesis de que los fitopatógenos no llegan a infectar al meristemo debido a que los conductos vasculares de la planta madre no han estado en contacto con los de la yema meristemática que aún no se diferencian. Una vez obtenida la planta por esta técnica debe ser sometida a las pruebas de comprobación sanitaria (pruebas biológicas, inmunoquímicas, serológicas, moleculares, etc.) que determinen con certeza que esa planta está libre de patógenos específicos.
Aplicabilidad del tratamiento con respecto a combinaciones específicas de artículos/plagas reglamentados
El microinjerto de ápices caulinares es una técnica efectiva para eliminar diversos virus como: <i>Citrus tristeza closterovirus</i> , citrus vein enation virus, citrus tatter leaf virus, <i>Citrus psorosis ophiovirus</i> y otros, así como viroides de cítricos, agentes causales de enfermedades como exocortis y cachexia; y otros patógenos transmitidos por injerto como <i>Spiroplasma citri</i> .
Viabilidad técnica
Este tratamiento es comercial y se aplica de manera extensiva en muchos países.
Fitotoxicidad y otros efectos en la calidad de los artículos reglamentados, cuando proceda
NA
Consideración del riesgo que el organismo objetivo tenga o desarrolle resistencia al tratamiento
NA

Revisión

Los Protocolos de tratamiento y diagnóstico fitosanitario de la NAPPO están sujetos a revisiones y enmiendas periódicas. La fecha de la próxima revisión de este protocolo de la NAPPO es 2020. De solicitarlo un país miembro de la NAPPO, se pueden llevar a cabo revisiones de cualquier protocolo de la NAPPO en cualquier momento.

Aprobación

El presente protocolo fue aprobado por el Comité Ejecutivo de la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO) el 19 de octubre del 2009, revisado el 4 de marzo de 2015 y entrará en vigor a partir de esta fecha.

Aprobada por:



Greg Wolff
Miembro del Comité Ejecutivo
Canadá



Osama El-Lissy
Miembro del Comité Ejecutivo
Estados Unidos



Javier Trujillo Arriaga
Miembro del Comité Ejecutivo
México