

SISTEMAS DE SEMILLAS DE LA OCDE

DIRECTRICES PARA LOS ENSAYOS EN LAS PARCELAS DE CONTROL Y LA INSPECCIÓN DE CAMPO DE LOS CULTIVOS DE SEMILLAS



Septiembre 2012



**SISTEMAS DE LA OCDE
PARA LA CERTIFICACIÓN VARIETAL O EL CONTROL DE LAS
SEMILLAS DESTINADAS AL COMERCIO INTERNACIONAL**

DIRECTRICES

**PARA LOS ENSAYOS EN LAS PARCELAS DE CONTROL Y LA
INSPECCIÓN DE CAMPO DE LOS CULTIVOS DE SEMILLAS**

ORGANIZACIÓN PARA LA COOPERACIÓN Y EL DESARROLLO ECONÓMICO

PARÍS 2012

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	3
PARTE I. ENSAYOS EN LAS PARCELAS DE CONTROL	5
Objetivos.....	6
Pre-control	6
Post-control.....	7
Control fuera de temporada	7
Muestra Estándar	8
Cultivos anteriores	9
Labores agrícolas	9
Distribución de las parcelas de control	9
Registro.....	10
Cifras de rechazo.....	11
Ensayos en las parcelas de control para especies cuyo estándar de pureza varietal se expresa como un número por unidad de superficie.....	13
Ensayos en las parcelas post-control para maíz	14
Aplicando el estándar actual de pureza varietal a las parcelas	14
Aplicando cifras de rechazo a las parcelas de maíz	15
PARTE II. INSPECCIÓN DE CAMPO DE LOS CULTIVOS DE SEMILLA.....	17
Objetivos.....	18
Principios	18
Cultivos anteriores	19
Autenticación	19
Identidad varietal	19
Estado de los cultivos de semillas.....	20
Aislamiento.....	20
Pureza de las especies	21
Pureza varietal.....	22
Requisitos de los cultivos	22
Requisitos adicionales para los cultivos híbridos	23
Inspección de conformidad de los estándares porcentuales.....	24
Cómputo de impurezas.....	24
Zonas de muestreo.....	24
Cifras de rechazo.....	25
Inspección de conformidad de los estándares expresados como un número máximo por unidad de superficie.....	27
Método A / Doble plan.....	28
Método B / Muestreo secuencial	28
PARTE III. MÉTODOS ADICIONALES DE ENSAYO PARA LA IDENTIDAD Y PUREZA VARIETALES	31
Objetivos.....	32
Examen de semillas.....	32
Examen de plántulas	33
Examen de plantas	34
Rango de etapas de crecimiento.....	34

INTRODUCCIÓN

1. Los procedimientos descritos en el siguiente documento son directrices consultivas para las Autoridades Nacionales Designadas (AND). Tienen la finalidad de abordar los métodos utilizados para determinar la pureza e identidad varietales pero no de prescribir las normas y el alcance de los ensayos o parcelas que continúan siendo una prerrogativa de cada AND.

2. Los Sistemas de la OCDE para la certificación varietal o el control de semillas destinadas al comercio internacional, en lo sucesivo denominados “Sistemas de Semillas de la OCDE”, son un conjunto de procedimientos, métodos y técnicas que verifican la calidad de la semilla durante el proceso de multiplicación y que tienen como objetivo asegurar que la identidad y pureza varietales de las variedades se mantienen y protegen.

3. Los controles se realizan en diferentes etapas de la producción de semillas para detectar posibles mezclas mecánicas, mutaciones, polinizaciones cruzadas no deseadas y otras incidencias no previstas que pudieran afectar a la calidad de la semilla.

4. Para ello, se tienen que determinar las características que distinguen a una variedad de otra, de forma que sea posible identificar los cultivos y lotes de semillas conformes con las características conocidas de la variedad reconocida en el momento del registro. Estas características no sólo se utilizan para confirmar la identidad varietal sino también la pureza varietal; necesitan ser adecuadas para su utilización en condiciones de campo, aunque también hay algunas características que en ciertas especies están relacionadas con la propia semilla.

5. La evaluación de la identidad y pureza varietales durante la producción de semillas es crucial para mantener estándares de calidad elevados de las semillas.

6. El proceso de producción de semillas debe garantizar que no suceda nada que pueda afectar negativamente a la calidad de las semillas durante el crecimiento del cultivo de semillas, la recolección, el procesado, envasado y etiquetado del lote de semillas, o la distribución posterior.

7. Los Sistemas de Semillas de la OCDE proporcionan procedimientos diseñados para comprobar el progreso de una variedad en diferentes etapas del proceso de producción de semillas. Son los siguientes:

- a) Examen de las parcelas de control utilizando muestras de semillas procedentes de lotes;
- b) Ensayos de laboratorio en semillas y plántulas, utilizando muestras de semillas procedentes de lotes;
- c) Inspección de campo de los cultivos de semillas en crecimiento, en una o más ocasiones.

En estos ensayos e inspecciones, es esencial adoptar métodos técnicos que generen resultados suficientemente precisos y fiables, y que a su vez puedan implementarse con los recursos disponibles. La aprobación de la multiplicación de semillas se basa en la parcela de control, la inspección de campo o los ensayos de laboratorio, o una combinación de éstos.

8. Los métodos descritos en estas Directrices se han desarrollado, durante muchos años, para generar resultados satisfactorios y proporcionar los principios en los que se deberían basar dichos métodos. Han sido adoptadas por la mayoría de países miembros y no miembros de la OCDE que participan en los Sistemas de Semillas de la OCDE e intercambian semillas certificadas a través del comercio internacional.

PARTE I.

ENSAYOS EN LAS PARCELAS DE CONTROL

Objetivos

9. Los ensayos en las parcelas de control se utilizan para supervisar la identidad y pureza de una variedad (híbrida o no híbrida) en diversas etapas del programa de multiplicación de semillas, asegurando de este modo la Autoridad Nacional Designada que la calidad de las semillas producidas en los Sistemas de la OCDE tiene un nivel satisfactorio.

10. Los ensayos en las parcelas de control están diseñados para responder a dos preguntas:

- a) ¿Se ajusta generalmente la muestra a la descripción de la variedad, confirmando por tanto su identidad?
- b) ¿Se ajusta la muestra a las normas publicadas para la pureza varietal?

11. La primera pregunta se puede responder efectuando una comparación visual entre la parcela de control, sembrada con una muestra representativa del lote de semillas, que debe ser seleccionada por un funcionario o un muestreador autorizado, y una parcela cultivada con una muestra de referencia, en lo sucesivo denominada "Muestra Estándar".

12. La segunda pregunta requiere la identificación de las plantas fuera de tipo dentro de la parcela de control, de forma que las cifras puedan relacionarse con las normas publicadas en los Sistemas de Semillas de la OCDE. Este ensayo mide la uniformidad del lote de semillas y determina si las características de la variedad se han mantenido invariables durante la multiplicación de semillas. También determinará la eficacia del sistema y la limitación del número de generaciones de cultivos.

Pre-control

13. Pre-control es el término utilizado para la verificación de la variedad de las semillas de primera generación, es decir, de las semillas Pre-básicas y Básicas. Cuando un lote de semillas de generación temprana se multiplica para producir una nueva generación, la información facilitada por una parcela de control es muy valiosa ya que proporciona a las Autoridades Nacionales Designadas datos sobre la identidad y calidad, disponibles antes – o casi al mismo tiempo – que el siguiente cultivo de semillas esté listo para la inspección de campo. En este caso el ensayo, que se denomina ensayo de pre-control, se cultiva simultáneamente con el cultivo de semillas de la siguiente generación. El pre-control es un componente muy importante de un programa de multiplicación y certificación de semillas debido a su capacidad para identificar deficiencias de la identidad y pureza varietales en una etapa temprana, antes de que se conviertan en un importante problema generalizado. El pre-control es muy fiable y para muchas especies es la única herramienta de evaluación de la identidad varietal. Además, el pre-control genera información útil sobre la pureza varietal, enfermedades transmitidas por semillas, etc. que puede respaldar la inspección de campo de las multiplicaciones correspondientes.

14. Aunque las inspecciones de campo son un requisito esencial de los Sistemas de Semillas de la OCDE, el pre-control de las parcelas ofrece muchas ventajas para las Autoridades Nacionales Designadas. Son las siguientes:

- a) Se pueden observar las plantas que representan el lote de semillas de la variedad con tanta asiduidad como sea necesaria.
- b) Se puede alargar el periodo de observación desde la germinación de las plántulas hasta la plena madurez.

- c) En caso necesario, se pueden examinar en detalle todas las plantas de la población de la parcela de control.
- d) Se puede realizar una comparación con la Muestra Estándar.
- e) También se puede realizar comparaciones con lotes de semillas de la misma variedad de la misma generación o anteriores.
- f) Un experto puede evaluar todas las parcelas de control de todas las variedades y categorías, asegurando así la normalización del registro.
- g) Cuando en la parcela no haya plantas espontáneas y las máquinas de limpieza se hayan utilizado para la siembra, la Autoridad Nacional Designada puede asegurarse de que las plantas fuera de tipo observadas en la parcela de control han crecido a partir de la muestra de semillas.
- h) Las Autoridades Nacionales Designadas pueden utilizar un ensayo adverso en la parcela de pre-control para rechazar cultivos de semillas sembrados con el mismo lote.

Post-control

15. Post-control es un término habitualmente utilizado para la verificación de la variedad de Semilla Certificada que no se multiplicará más. En el año en que se están cultivando las parcelas, la Semilla Certificada se ha vendido a los agricultores y se ha plantado para su producción, y los resultados de los ensayos llegarán demasiado tarde para adoptar medidas correctoras a menos que el lote de semillas -o partes del mismo- no se hayan comercializado. Se denomina post-control ya que no se dispone de un resultado hasta después de que se haya certificado la semilla. Sin embargo, los ensayos post-control son valiosos, porque registran el grado de eficiencia del proceso de producción de semillas en el mantenimiento de la pureza varietal e identifican maneras de mejorar el sistema. Al permitir las comparaciones entre las plantas cultivadas a partir del lote de semillas producido y las que se cultivan a partir de la Muestra Estándar, la Autoridad Nacional Designada puede supervisar la calidad y asegurar que los estándares mínimos se cumplen.

16. Para la Semilla Certificada que será multiplicada, por ejemplo la Semilla C1 se multiplica para producir semillas C2, una parcela de control puede desempeñar una doble función: post-controlar el lote de semillas C1 de la última cosecha y pre-controlar el cultivo de semillas C2 para la próxima cosecha.

17. En el caso de las variedades híbridas, dado que la identidad y pureza varietales no se pueden verificar en el campo de producción de semillas, es necesario asegurar la calidad de la producción en las parcelas de post-control.

18. La variedad híbrida observada en parcelas de post-control debe ser fiel a su identidad varietal, y las plantas deben ajustarse a las características de la variedad enumeradas por la Autoridad Nacional Designada en el momento de su registro.

Control fuera de temporada

19. Para obtener resultados de las observaciones en parcelas de control sin esperar al final de la siguiente temporada de cultivo, es posible realizar estos ensayos (pre-control y post-control) en una región del otro hemisferio. De esta forma se puede determinar la calidad de la semilla básica, de los componentes parentales híbridos y de las semillas no comercializadas en stock, antes del siguiente período de siembra.

Muestra Estándar

20. Las comprobaciones de identidad y pureza varietales en el pre- y post-control se pueden realizar mejor comparando plantas cultivadas a partir de una muestra del lote de semillas con plantas cultivadas a partir de semillas de la "Muestra Estándar".
21. El objetivo de la Muestra Estándar es proporcionar una descripción viva de la variedad; cuyo suministro, mantenimiento y autenticación son de vital importancia.
22. Es importante tener en cuenta que a menudo hay dos muestras oficiales de referencia en poder de las autoridades responsables del registro y certificación.
23. La primera es la muestra utilizada por la autoridad encargada de la lista nacional de variedades. Cuando una nueva variedad se remite para su registro, la Autoridad de Inscripción utiliza una muestra como estándar oficial en los ensayos para evaluar la distinción, homogeneidad y estabilidad (en adelante llamada la "Muestra Definitiva"). Es la Autoridad de Inscripción quien conserva y utiliza la Muestra Definitiva fundamentalmente para fines de registro. La muestra debe ser lo suficientemente grande para satisfacer las peticiones de pequeñas cantidades de semillas, tanto del país participante como de otras Autoridades de Inscripción. En algunos casos puede ser difícil satisfacer las peticiones de semillas de las Autoridades Nacionales Designadas para certificación, ya que las cantidades requeridas pueden ser elevadas y, por tanto, podrían consumir la Muestra Definitiva de forma demasiado rápida.
24. La segunda muestra de referencia es el Muestra Estándar. Es utilizada por la Autoridad Nacional Designada como estándar oficial en parcelas de pre- y post-control para evaluar la fidelidad a la variedad de todas las otras muestras de semillas de la misma variedad en la certificación. Es la Autoridad Nacional Designada quien conserva y utiliza la Muestra Estándar de las variedades mencionadas específicamente para su uso en certificación de semillas. Antes de su utilización, la Muestra Estándar se debe revisar y verificar tanto por la Autoridad de Inscripción como por la Autoridad Designada para asegurarse de que es auténtica e idéntica a la Muestra Definitiva.
25. La Muestra Estándar se debe obtener de la Autoridad Nacional Designada, directamente del obtentor o del conservador. Como alternativa, cuando se necesitan cantidades relativamente elevadas de semillas de la Muestra Estándar – no sólo para la realización anual de ensayos en parcelas de control de semillas certificadas, sino también para satisfacer las peticiones de semillas de otras Autoridades Nacionales Designadas – se permite utilizar una muestra de un lote de semillas Pre-básicas, cuya uniformidad y fidelidad a la variedad de la "Muestra Definitiva" se han comprobado.
26. Para variedades sintéticas de especies alógamas y todas las variedades híbridas, la última generación de semillas certificadas constituirá la Muestra Estándar. Para determinadas especies y para las variedades híbridas, puede ser necesario disponer de Muestras Estándar diferentes que representen las líneas endogámicas y los componentes parentales que se utilizan a nivel de la semilla Básica y Pre-básica para producir la variedad híbrida.
27. Algunos países pueden utilizar la Muestra Definitiva en lugar de la Muestra Estándar para los ensayos en las parcelas de control, y en estos casos la Muestra Definitiva tiene una doble función. Sin embargo, solamente será posible cuando haya poca demanda para el control de la certificación.
28. Para Muestras Estándar de variedades procedentes de un país de otra Autoridad Nacional Designada, es esencial que la Muestra Estándar se obtenga de dicha Autoridad y no directamente del obtentor.

29. La Muestra Estándar, que es reconocida como aquella que proporciona una descripción viva y verdadera de la variedad durante el período de ensayo, es el estándar más fiable que puede utilizarse para evaluar las muestras de semillas de certificación. Debe utilizarse con la descripción oficial, teniendo en cuenta que la descripción de las variedades puede tener algunas limitaciones, ya que no siempre es suficientemente precisa para la clasificación e identificación de las mismas.

30. Cuando la germinación de la Muestra Estándar decae o resulta necesario reponer el stock de semillas, se debe solicitar una nueva muestra. Sin embargo, debe haber tiempo suficiente para comparar la nueva muestra con la antigua en un ensayo de campo para al menos una temporada de cultivo, a fin de comprobar su autenticidad antes de desechar la Muestra Estándar original.

Cultivos anteriores

31. Para el emplazamiento de las parcelas de control, la Autoridad Nacional Designada, o su agente, debe asegurarse de que el terreno es adecuado. No debe haber ningún riesgo de contaminación de plantas espontáneas de la misma especie o de especies estrechamente relacionadas o de grupos de cultivos similares. Para ello se comprueban los cultivos anteriores del terreno a utilizar, asegurándose que una rotación cuidadosamente planificada ha permitido que el terreno esté limpio de semillas – caídas de plantas cultivadas y malas hierbas – después de la cosecha.

32. Se debe prestar atención a las semillas de las especies que permanecen latentes en el suelo durante varios años o que no pueden germinar antes de cultivarse en el suelo. La semilla de diversas especies de plantas de cultivo puede sobrevivir en el suelo durante varios años, si las condiciones son adecuadas. Se sabe que las semillas con elevado contenido de aceite como las de la colza (*Brassica napus*) y el nabo (*Brassica rapa*) se mantienen durante muchos años. También se ha comprobado que las semillas de los cereales de grano pequeño puede sobrevivir durante varios años cuando las condiciones son favorables. Una vez que se han registrado las parcelas de control de estas especies según su identidad y pureza varietales, se recomienda que se destruyan antes de que la semilla que se ha cultivado sea viable. Esto reduce la probabilidad de que haya plantas espontáneas en el terreno la próxima vez que se utilice para cultivar parcelas de control de estas especies.

Labores agrícolas

33. Se recomienda una cama homogénea de semillas para fomentar el crecimiento rápido y uniforme de las parcelas de control.

34. Los requisitos agrícolas para las parcelas de control suelen ser similares a los de los cultivos comerciales con la excepción de que las diferencias y características de las variedades deben mantenerse siempre que sea posible, y que el estado de las parcelas debe permitir examinarlas durante todas las etapas de crecimiento pertinentes. Puede que sea necesario mantener los niveles de abono al mínimo para evitar el encamado, especialmente en cultivos de cereales.

35. También se debe tener cuidado a la hora de utilizar herbicidas y reguladores del crecimiento de las plantas que podrían afectar a su morfología.

Distribución de las parcelas de control

36. Los ensayos en las parcelas de control deben diseñarse de forma que las observaciones puedan realizarse fácilmente.

37. Una distribución sencilla con todas las muestras de la misma variedad agrupadas sentará las mejores bases para la comparación con la Muestra Estándar (esto también es cierto para los componentes

de variedades híbridas). También es ventajoso poner variedades similares cerca para resaltar las diferencias existentes entre ellas.

38. En una variedad determinada, se facilita el registro si los lotes de semillas relacionadas, que comparten el mismo antecedente, se siembran en parcelas contiguas. De esta forma los contaminantes detectados en una parcela pueden examinarse fácilmente por su presencia en parcelas colindantes.

39. Siempre que sea posible y los recursos lo permitan, las parcelas se deben duplicar en otra parte del terreno, de forma que se puedan obtener datos adicionales. Para algunas categorías de semillas la replicación puede ser fundamental para alcanzar el número mínimo de plantas para el registro. Para algunas especies de gramíneas y leguminosas forrajeras, puede resultar necesario utilizar una distribución espaciada de plantas para las parcelas de control para permitir la medición de las características morfológicas como la longitud y ancho de la hoja, la altura de la planta, etc. que se realizará en plantas individuales.

40. El diseño del ensayo debe permitir un análisis estadístico adecuado de los resultados y una toma de decisiones apropiada sobre la base de los límites de confianza convencionales.

Registro

41. El registro de las parcelas de control debe empezar cuando las plantas alcanzan etapas de crecimiento en las que se pueden observar sus características varietales. Dependiendo de las especies, esto puede suceder durante las etapas de crecimiento vegetativo, la floración o en plena madurez. Las parcelas de control también se pueden registrar según la pureza de las especies y la presencia de enfermedades transmitidas por semillas.

42. La última parte de este documento incluye las principales características de los ensayos en las parcelas de control. Para muchas especies, están basadas en las características incluidas en las Directrices de la UPOV para la realización de ensayos de distinción, uniformidad y estabilidad, y están divididas en características "primarias" y "secundarias" para los objetivos de los Sistemas de Semillas de la OCDE.

43. Para la determinación de la pureza varietal, los estándares se expresan como un porcentaje de la población o, cuando las poblaciones de plantas no se determinan fácilmente -por ejemplo las especies herbáceas-, como un número por unidad de superficie. El número de plantas fuera de tipo en la parcela se puede utilizar para determinar la probabilidad de que el lote de semillas cumpla los estándares publicados, siempre que el tamaño de la parcela sea lo suficientemente grande. Las cifras de rechazo que relacionan el número de plantas fuera de tipo observadas en una muestra con respecto al estándar publicado se deben utilizar de tal manera que se tengan en cuenta los riesgos de aceptación incorrecta o rechazo del lote de semillas. El nivel de riesgo está relacionado con el tamaño de la muestra.

44. Registrar la pureza varietal o de las especies – o los niveles de enfermedades transmitidas por semillas – implica la identificación de plantas de aspecto diferente. Las plantas que son atípicas en comparación con las principales características vegetales deben examinarse con más detalle. Se necesita un método de registro e identificación para que no se cuenten por duplicado en futuras visitas. Con este propósito, se han utilizado con éxito etiquetas, marcadores o lana de colores.

45. La población media de plantas en cada parcela de control, para aquellas especies en las que los estándares de pureza varietal se expresan porcentualmente, debe estimarse para facilitar el cálculo del nivel de impurezas varietales. Cuando el número de plantas fuera de tipo en un terreno está próximo a, o por encima de la cifra probable de rechazo, se debe evaluar la población de la parcela con más precisión para asegurar la determinación exacta del número de plantas examinadas.

46. Habitualmente se puede ver cuando una parcela tiene una identidad equivocada o está muy contaminada con una planta fuera de tipo. Sin embargo, puede ser difícil decidir si una planta individual debe clasificarse como fuera de tipo. Estas decisiones requieren la experiencia de un registrador de parcelas, que es un experto en el estudio de las características morfológicas de las especies estudiadas y que también conoce detalladamente las características de la variedad.

47. Los juicios "subjetivos" se deben hacer con la ayuda de la descripción de la variedad para determinar si la planta fuera de tipo es una variante genética o si los factores ambientales han exagerado una variación normal de las plantas. En términos generales, el registrador debe ignorar las pequeñas variaciones y sólo incluir en el recuento final, que puede determinar la aceptación o rechazo de la muestra, plantas fuera de tipo claramente distintas.

48. En el caso de los componentes híbridos masculinos estériles, además de la evaluación de la pureza de la variedad, todas las plantas de la parcela deben ser cuidadosamente controladas para determinar si alguna está produciendo polen viable.

49. Caso particular del centeno híbrido (*Secale cereale*). La producción de semillas híbridas de centeno implica la mezcla física de un polinizador restaurador con un híbrido de un sólo cruce. La muestra extraída de la producción híbrida de triple cruce es por tanto una mezcla de semillas híbridas y semillas polinizadoras auto-polinizadas. Se debe tener en cuenta en el recuento de impurezas en las parcelas de post-control.

Cifras de rechazo

50. Las cifras de rechazo relacionan el número de plantas fuera de tipo observadas en una muestra con el estándar publicado. Para decidir si la pureza varietal de una parcela de control cumple un determinado estándar, se cuenta el número de plantas fuera de tipo en las parcelas. Las plantas en las parcelas de control (de tamaño reducido) pueden, debido a errores de muestreo, no tener la misma frecuencia de plantas fuera de tipo que el lote de semillas correspondiente.

51. Los tamaños de las muestras o las parcelas examinadas tienen que ser suficientes para que las cifras de rechazo sean válidas. Para el pre-control de ciertas especies no siempre resulta posible, dado que requeriría mucha mano de obra y tierra y resultaría muy caro.

52. Las cifras de rechazo se pueden utilizar para medir la calidad de la semilla certificada que se ha comercializado. Las cifras de rechazo en los Cuadros 1, 2, y 3 de los siguientes artículos se refieren a las parcelas de control. Los Cuadros 1 y 3 son aplicables únicamente cuando se cuentan las plantas. Si se cuentan las panículas, se requieren entonces cifras de rechazo más altas y hay que usar el Cuadro 2.

53. Para reducir el riesgo de que una parcela de control no cumpla los estándares correspondientes de pureza varietal, es necesario aceptar más plantas fuera de tipo que las especificadas en los estándares. Sin embargo, aumentar el número de plantas fuera de tipo permitidas también aumentará el riesgo de considerar erróneamente que una parcela de post-control cumple con los estándares de pureza varietal. Por tanto hay dos tipos diferentes de riesgos en la evaluación:

- a) Riesgo de clasificar como insatisfactorio un lote de semillas que satisface el estándar de pureza varietal (riesgo α o riesgo del productor).
- b) Riesgo de clasificar como satisfactorio un lote de semillas que no cumple el estándar de pureza varietal (riesgo β o riesgo del consumidor).

Es necesario decidir en qué medida limitar el riesgo de clasificar erróneamente una parcela de post-control.

54. Se utiliza un conjunto de "tablas de rechazo" en lugar de aplicar directamente el estándar. Los estándares se convierten en valores de rechazo utilizando la distribución de probabilidad binomial en $\alpha=0,05\%$ con una probabilidad del 95%. Una muestra se considera no conforme al estándar – y rechazada – si el número de plantas fuera de tipo es igual o mayor que el número de rechazo para una población dada.

55. Al elegir un tamaño de muestra o de parcela para su examen, se debe llegar a una solución de compromiso entre los costos y el tiempo empleados en la observación de grandes muestras frente a los riesgos de tomar una decisión equivocada. Como regla general, un tamaño de muestra de $4 \times \underline{n}$ se puede utilizar cuando el nivel estándar a considerar es 1 a \underline{n} .

56. El Cuadro 1 a continuación proporciona las cifras de rechazo para diversos tamaños y estándares de muestra.

Ejemplo: Para un estándar de pureza varietal del 99,9%, es decir, con un umbral de impurezas de 1 por 1 000, la regla de rechazo (es decir, 9 o más plantas fuera de tipo en una muestra de 4 000 plantas observadas) limita el riesgo de rechazar incorrectamente un lote de semillas al 5% ($\alpha < 0,05$).

Nota: Cabe señalar que, en este nivel de probabilidad (95%), el sistema se decanta en favor del productor de semillas, ya que el riesgo de una aceptación incorrecta de un lote de semillas es mayor que el riesgo de un rechazo incorrecto.

57. En el Cuadro 1, las cifras de rechazo con fondo blanco no son tan fiables como las de fondo gris, debido a que el tamaño de la muestra no es suficientemente grande, y existe un mayor riesgo de aceptación incorrecta de los lotes de semillas insatisfactorias.

Cuadro 1. Cifras de rechazo para diversos tamaños de muestra y estándares de pureza varietal ($\alpha < 0,05$)

Tamaño de muestra (plantas)	Estándar de pureza varietal				
	99,9%	99,7%	99,5%	99,0%	98,0%
	Cifra de rechazo (plantas)				
200	--	--	4	6	9
300	--	--	5	7	11
400	--	4	6	9	14
1 000	4	7	10	16	29
1 400	5	9	13	21	38
2 000	6	11	16	29	52
4 000	9	19	28	52	96

Nota: El símbolo (--) indica que el tamaño de la muestra es demasiado pequeño para realizar un ensayo válido de la muestra

58. El Cuadro 2 a continuación aporta las cifras de rechazo de panículas para diversos tamaños de muestra y estándares.

Cuadro 2. Cifras de rechazo para diversos tamaños de muestra y estándares de pureza varietal ($\alpha < 0,05$)

Tamaño de la muestra (panículas)	Estándar de pureza varietal				
	99,9%	99,7%	99,5%	99,0%	98,0%
	Cifra de rechazo (panículas)				
200	--	--	5	7	11
300	--	--	6	9	14
400	--	5	7	11	17
1 000	5	9	12	20	34
1 400	6	11	16	26	44
2 000	7	14	20	34	59
4 000	11	23	34	59	106
8 000	17	39	59	106	197

Nota: El símbolo (--) indica que el tamaño de la muestra es demasiado pequeño para realizar un ensayo válido sobre la misma

Ensayos en las parcelas de control para especies cuyo estándar de pureza varietal se expresa como un número por unidad de superficie

59. Para diversas especies, el estándar de pureza varietal se expresa como un número por unidad de superficie, porque determinar el número de plantas por unidad de superficie resulta muy difícil, si no imposible, para estas especies.

Por ejemplo, los estándares de pureza varietal en cultivos de semillas *Lolium perenne* son los siguientes:

El número de plantas de *Lolium perenne* que se identifiquen como no conformes con la variedad en cuestión no debe exceder de una unidad en 50m² en cultivos para producir Semilla Básica y de una unidad en 10m² en cultivos para producir Semilla Certificada. (Sistema de Semillas de gramíneas y leguminosas de la OCDE, 2012, Anexo 1, párr. 7.2)

60. Para un ensayo de post-control de *Lolium perenne*, en teoría sería necesario examinar un área de 120m² para verificar la pureza varietal de la Semilla Básica y de 40m² para la Semilla Certificada. Dado que la densidad de plantas en la parcela de control suele ser muy diferente a la del terreno de multiplicación, resulta muy complicado evaluar de manera fiable la pureza varietal de una parcela de control con respecto al estándar de campo.

61. Para obtener información sobre el nivel de pureza varietal de una determinada parcela de post-control, se recomienda examinar una superficie de al menos 5m². Para ello, se deberían utilizar las cifras de rechazo para determinar si la pureza varietal de una parcela de post-control es motivo de preocupación.

Cuadro 3. Cifras de rechazo para diversas superficies examinadas y estándares de pureza varietal ($\alpha < 0.05$)

Superficie de plantas examinada (m ²)	Estándar de pureza varietal					
	1 /50m ²	1 /30m ²	1 /20m ²	1 /10m ²	4 /10m ²	6 /10m ²
5	2	2	2	3	6	7
10	2	2	3	4	9	11
15	2	3	3	5	11	15
20	3	3	4	6	14	19
25	3	4	4	6	16	23
30	3	4	5	7	19	26
35	3	4	5	8	21	30
40	3	4	6	9	24	33
45	4	5	6	9	26	37
50	4	5	6	10	29	40

62. La Autoridad Designada puede decidir el tamaño de la parcela/superficie a examinar.

Ensayos en las parcelas post-control para maíz

63. Para las variedades de maíz de polinización abierta, los estándares de pureza varietal que se aplican en el campo de cultivo son los siguientes (Sistemas de Semillas de Maíz y Sorgo de la OCDE, 2012, anexo 1, párr. 5.1 y párr. 9.1.):

1. En cultivos de producción de Semilla Básica, la pureza varietal mínima es del 99,5% (= máximo de 1 planta fuera de tipo cada 200 plantas);
2. En cultivos de producción de Semilla Certificada, la pureza varietal mínima es del 99,0% (máximo de 1 planta fuera de tipo cada 100 plantas).
3. En cultivos de producción de Semilla Básica de líneas parentales de variedades híbridas de maíz, la pureza varietal mínima es del 99,9% (= máximo de 1 planta fuera de tipo cada 1 000 plantas).

64. Para el post-control de lotes de Semillas Certificadas de variedades híbridas de maíz, el estándar de pureza varietal para los híbridos de un solo cruce es del 97,0% (= máximo de 1 planta fuera de tipo cada 33 plantas). El estándar de pureza varietal para otros tipos de híbridos es del 95,0% (=máximo de 1 planta fuera de tipo planta cada 20 plantas). Estos estándares están incluidos en las Normas de 2012 de los Sistemas de Semillas de Maíz y Sorgo de la OCDE.

Aplicando el estándar actual de pureza varietal a las parcelas

65. Dado que los estándares de pureza varietal prescritos para los lotes de Semillas Certificadas de variedades híbridas en el post-control son relativamente bajos (97,0% para los híbridos de un solo cruce y 95,0% para otros tipos de híbridos), la Autoridad Nacional Designada puede aplicar el estándar actual de pureza varietal para determinar si el lote de semillas es satisfactorio o no en las parcelas de post-control (Cuadros 4, 5 y 6).

Cuadro 4. Aplicando el estándar actual para un estándar de pureza varietal del 97,0%.

Híbridos de un solo cruce

Tamaño de muestra – Número de plantas	Apto	No Apto
100	3	4
67-99	2	3
33-66	1	2
<33	0	1

Cuadro 5. Aplicando el estándar actual para un estándar de pureza varietal del 95,0%.

Híbridos de tres vías, híbridos topcross y otros híbridos

Tamaño de muestra – Número de plantas	Apto	No apto
100	5	6
80-99	4	5
60-79	3	4
40-59	2	3
20-39	1	2
<20	0	1

Cuadro 6. Aplicando el estándar actual para estándares de pureza varietal del 99,0%, 99,5% y 99,9%.

Tamaño de muestra – Número de plantas	Pureza varietal –Aplicando el estándar actual a las parcelas					
	Semilla Básica Híbrida		Semilla Básica de Polinización Abierta		Semilla Certificada de Polinización Abierta	
	99,9%		99,5%		99,0%	
	Apto	No apto	Apto	No apto	Apto	No apto
<1 000	0	1	-	-	-	-
200	0	1	1	2	2	3
100	0	1	0	1	1	2
75	0	1	0	1	0	1
50	0	1	0	1	0	1

Aplicando cifras de rechazo a las parcelas de maíz

66. Las cifras de rechazo basadas en los valores de los Cuadros 7, 8 y 9 pueden utilizarse además del estándar actual para determinar si los lotes de semillas de variedades híbridas y de polinización abierta cumplen los estándares requeridos de pureza varietales en el post-control para tamaños de muestra diferentes. La aplicación de las cifras de rechazo introduce una tolerancia calculada para el error de muestreo. Un efecto del error de muestreo es que una muestra contenga proporcionalmente más contaminantes que la semilla de la que se extrae. En un sistema en el que el número de plantas que pueden ser razonablemente incluidas en una parcela de post-control esté limitado por los recursos, una estimación del error resulta valiosa para decidir la medida a tomar. Sin embargo, a efectos prácticos se puede aceptar que la aplicación del propio estándar consigue el objetivo de garantizar la calidad de las semillas, aunque con un mayor número de lotes rechazados. Como regla general, y siendo razonables, cuanto mayor es el número de plantas que pueden cultivarse en las parcelas de post-control, más precisa será la indicación de los niveles fuera de tipo en el lote original de semillas.

Cuadro 7. Cifras de rechazo para diversos tamaños de muestra para estándares de pureza varietal del 99,9%, 99,5% y 99,0%. ($\alpha < 0,05$)

Tamaño de Muestra – Número de Plantas	Pureza Varietal		
	Semilla Básica Híbrida	Semilla Básica de Polinización Abierta	Semilla Certificada de Polinización Abierta
	99,9%	99,5%	99,0%
100		3	4
200		4	6
300		5	7
400		6	8
500	3	7	10
600	3	7	11
700	3	8	13
800	3	9	14
900	4	9	15
1 000	4	10	16
1 100	4	11	18
1 200	4	11	19
1 300	4	12	20
1 400	5	13	21
1 500	5	13	23
1 600	5	14	24
1 700	5	15	25
1 800	5	15	26
1 900	5	16	27
2 000	6	16	29

Cuadro 8. Cifras de rechazo para diversos tamaños de muestra para un estándar de pureza varietal de 97,0%

Híbridos de un solo cruce ($\alpha < 0,05$)

Tamaño de Muestra – Número de Plantas	Pureza Varietal 97,0%
47-66	5
67-88	6
89-110	7
111-134	8
135-158	9
159-182	10
183-207	11
208-232	12
233-258	13

Cuadro 9. Cifras de rechazo para diversos tamaños de muestra para un estándar de pureza varietal de 95,0%

Híbrido de tres vías, híbrido topcross y otros híbridos ($\alpha < 0,05$)

Tamaño de Muestra – Número de Plantas	Pureza Varietal 95,0%
41 – 53	6
54 – 67	7
68 – 81	8
82 – 95	9
96 – 110	10
111 – 125	11

PARTE II.

INSPECCIÓN DE CAMPO DE LOS CULTIVOS DE SEMILLA

Objetivos

67. La inspección de campo de los cultivos de semillas es el segundo procedimiento requerido por los Sistemas de Semillas de la OCDE. Las funciones más importantes son controlar que los cultivos de semillas tienen las características de la variedad indicada (identidad varietal) y asegurar que no hay circunstancias que puedan ser perjudiciales para la calidad de las semillas que se cosecharán (pureza varietal).

68. Los cultivos de semillas pueden ser inspeccionados frecuentemente durante la temporada de crecimiento. Debe haber al menos una inspección planificada de forma que exista la mejor oportunidad de evaluar la identidad y pureza varietales, pero puede haber más.

69. Con muchos cultivos el momento ideal para las inspecciones de campo es el período de floración o inmediatamente anterior a la dehiscencia de las anteras. Algunos cultivos también requieren una inspección vegetativa y para otros las observaciones en plena madurez son esenciales.

70. Aunque la técnica de inspección de campo difiere en los detalles, dependiendo de las características particulares de cada especie, los principios fundamentales relativos a los controles de inspección de campo son los siguientes:

- a) El historial de cultivos del terreno debe ser tal que el riesgo de plantas espontáneas no deseadas de la misma especie o especies relacionadas que contaminan el cultivo de semilla se reduzca al mínimo.
- b) El cultivo debe estar lo suficientemente aislado de otros cultivos para reducir el riesgo de contaminación con polen no deseado.
- c) El cultivo debe estar físicamente aislado para evitar la mezcla mecánica durante la cosecha.
- d) El cultivo debe estar aislado de fuentes de enfermedades transmitidas por semillas.
- e) El cultivo debe estar prácticamente exento de malas hierbas y otras especies de cultivos, especialmente aquellas cuyas semillas puedan ser difíciles de separar del cultivo durante el procesamiento de semillas.
- f) El cultivo debe tener la identidad varietal correcta.
- g) No debe haber más plantas fuera de tipo que las permitidas según los estándares actuales de pureza varietal.
- h) No debe haber más plantas de otras especies que las permitidas según los estándares.
- i) Para las variedades híbridas, la proporción de plantas masculinas frente a las femeninas debe ser satisfactoria y tal y como la defina el conservador. La castración física o genética de las plantas femeninas con semilla debe ser efectiva.

Principios

71. Se debe proporcionar toda la información sobre el cultivo de semillas a la persona que realice la inspección de terreno. El inspector debe ser un experto en el reconocimiento de las características de la especie, que se utilizan para distinguir las variedades, y tener un buen conocimiento de las variedades a inspeccionar. La información facilitada debe incluir una descripción de la variedad, o de las

líneas/componentes parentales en el caso de la producción híbrida. El inspector también debe ser informado del historial de la semilla utilizada para sembrar el cultivo, y de los resultados de la parcela de pre-control cultivada al mismo tiempo por la Autoridad Nacional Designada. También se debe poner el historial de cultivo del terreno de los últimos cinco años a disposición del inspector.

72. El inspector debe proporcionar una opinión independiente sobre el cultivo de semillas y es responsable ante la Autoridad Nacional Designada. La función del inspector es informar del estado del cultivo en el momento de la inspección. La inspección podría realizarse en un momento en el que algunas plantas fuera de tipo pueden estar escondidas o resulten difíciles de identificar. En este caso puede resultar necesaria una segunda o posterior inspección antes de que se pueda tomar una decisión.

73. La inspección del cultivo de semillas debe completarse con los resultados de la parcela de pre-control, bajo continua observación de la Autoridad Nacional Designada y que proporcionará al inspector datos fiables sobre todos los aspectos relativos a la identidad y pureza varietales correspondientes al lote (s) de semillas utilizado(s).

Cultivos anteriores

74. El inspector de cultivos debe preguntar a los productores por los cultivos anteriores del terreno. El productor debe proporcionar detalles relacionados con los cultivos plantados en el terreno durante los últimos cinco años. También se puede facilitar en este momento información una posible sub-división de un terreno en años anteriores, o cualquier cultivo anterior con la misma variedad.

75. En el caso de la producción híbrida, el mismo terreno no se puede utilizar de manera consecutiva para las mismas especies, para evitar el crecimiento de plantas espontáneas fértiles procedentes de la producción de semillas híbridas de años anteriores.

Autenticación

76. Para autenticar la identidad de la semilla sembrada, los productores deberán conservar al menos una etiqueta de cada lote de semillas utilizado para sembrar el cultivo. El productor debe enseñar en el terreno una segunda etiqueta de cada lote de semillas utilizado, de forma que pueda ser revisada claramente por el inspector.

77. Para los híbridos, las etiquetas de los lotes de semillas utilizados para el parental masculino y femenino deben conservarse y verificarse.

78. El objetivo de este procedimiento es contrastar los detalles facilitados en la etiqueta con los del formulario de inspección del cultivo, y confirmar la identidad de la variedad.

Identidad varietal

79. La primera función de la inspección de campo es determinar que el cultivo de semillas es consistente en conjunto con las características de la variedad incluidas en la descripción oficial. Esto se hace generalmente adentrándose en el cultivo de semillas y examinando un número razonable de plantas. El número de plantas examinadas finalmente dependerá en cada caso de la complejidad de los caracteres distintivos y la uniformidad de la variedad. Por tanto, sería necesario examinar un mayor número de plantas de especies alógamas que autógamas.

80. Para algunas especies, no siempre resulta posible confirmar la identidad de las variedades individuales, pero debería serlo para garantizar que el cultivo pertenece al grupo de variedad correcto. El

acceso a las parcelas de control familiarizará al inspector con las características de la variedad y le hará consciente de las diferencias con otras variedades del mismo grupo.

81. Para las variedades híbridas, el inspector debe ser capaz de identificar sin dificultad la línea parental masculina y la femenina. El inspector debe verificar la identidad varietal de cada componente parental utilizando las descripciones oficiales correspondientes.

Estado de los cultivos de semillas

82. Después de haber examinado todo el terreno en conjunto, el inspector debe examinarlo en detalle, especialmente alrededor del perímetro.

83. Se deben formular observaciones si hay indicios de que parte del terreno se ha podido sembrar con semillas diferentes o se ha podido contaminar; por ejemplo, en las entradas al terreno o en las cabeceras. Se deben localizar aquellas zonas del terreno donde haya comenzado la siembra para confirmar que los equipos de sembrado se han limpiado adecuadamente antes de la siembra. Se debe prestar especial atención a la presencia de otras especies cultivadas, malas hierbas, enfermedades transmitidas por semillas, y verificar el aislamiento de fuentes de polen contaminante.

84. La valoración general del cultivo de semillas debe determinar si está en condiciones satisfactorias para permitir el examen detallado de las plantas para la pureza varietal.

85. Los cultivos que estén muy enganchados, infectados con malas hierbas, retrasados en su crecimiento debido a enfermedades, plagas u otras causas, y que cuya pureza varietal no se puede evaluar, deben ser rechazados. Sin embargo, el inspector podría utilizar los datos de la parcela de pre-control para complementar la información en el terreno en casos dudosos.

Aislamiento

86. El aislamiento de los cultivos de semillas se debe revisar mientras se rodea su perímetro. Para las especies de cultivos que están polinizadas por los insectos o el viento, esto implicará comprobar todos los terrenos de los alrededores para buscar cualquier cultivo que se encuentre dentro de las distancias mínimas prescritas de aislamiento que pudiera polinizar con el cultivo de semillas.

87. Cuando la distancia de aislamiento entre el cultivo de semillas híbridas y una fuente de polen contaminante es insuficiente para satisfacer los requisitos mínimos, el inspector debe solicitar la destrucción parcial o total de la fuente contaminante para cumplir con la distancia mínima de aislamiento.

88. Cuando el aislamiento se satisface gracias a la existencia de una barrera de polen del parental masculino del híbrido alrededor del cultivo para producir la semilla híbrida, el inspector debe asegurarse de la coincidencia de la floración entre los parentales masculinos y femeninos.

89. Las distancias de aislamiento mínimas se recogen en los Sistemas de Semillas de la OCDE.

90. Un mapa del cultivo de semillas y los cultivos de los alrededores, facilitados por el productor, debe alertar al inspector sobre posibles fuentes de polen extraño.

91. El inspector también debe buscar plantas espontáneas o malas hierbas, tanto en el cultivo de semillas como en los cultivos colindantes, que también podrían ser una fuente de polen contaminante. Para la producción de semillas de sorgo híbrido spp, el inspector debe buscar cualquier planta de otra especie de sorgo [en particular sorgo de Aleppo (*Sorghum halepense*)].

92. Además, los cultivos de semillas de especies autógamas y las variedades apomíticas de la poa de los prados (*Poa pratensis*) deben estar aislados de otros cultivos por una barrera definida o un espacio suficiente para evitar la mezcla física durante la cosecha.

93. También se deben realizar controles para asegurar que los cultivos de semillas están aislados de otros cultivos que puedan estar infectados con enfermedades transmitidas por semillas.

Pureza de las especies

94. Para muchas especies de cultivos, las normas de los Sistemas no incluyen estándares de pureza de las especies que deben aplicarse en cultivos de semillas.

95. Sin embargo, para algunas especies de cultivos, existen estándares mínimos de pureza de las especies además de los de pureza varietal, y estos deben evaluarse durante la inspección del cultivo.

- Sistema de Semillas de gramíneas y leguminosas: Consulte el Anexo VI, Apéndice 1, párr. 7 para *Lolium* y otras especies;
- Sistema de Semillas de crucíferas y otras especies oleaginosas y textiles: Consulte el Anexo VII, Apéndice 1, párr. 7;
- Sistema de Semillas de maíz y sorgo: Para las variedades no híbridas de *Sorghum bicolor* y *Sorghum sudanese* consulte el Anexo XI, Apéndice 1, párr. 6. Para las variedades de sorgo pp., consulte el Anexo XI, Apéndice 1, párr. 10.

96. En el caso de los cultivos de semillas que producen las variedades híbridas de sorgo spp., no deben contener más de una planta en 10 m² de otras especies de sorgo, cuyas semillas son difíciles de distinguir en un ensayo de laboratorio de las semillas de los cultivos o que se polinizarán fácilmente con los cultivos de semillas.

97. Si hay impurezas varietales además de plantas de otras especies, el inspector aplicará los estándares adecuados de pureza varietal por separado. Sus procedimientos se indican a continuación.

98. Sin embargo, la presencia de una serie de especies de cultivos y de malas hierbas en un campo de semillas puede crear problemas no solamente al cultivo de semillas, sino también al procesado de la semilla.

99. En particular, se sabe que las siguientes impurezas causan dificultades en algunos países:

- Vallico (*Lolium* spp) y cereales en cultivos de semillas de otras especies de cereales;
- Guisante forrajero (*Pisum sativum*), haba menor (*Vicia faba*) y judía común (*Phaseolus vulgaris*) en cultivos de semillas de lenteja (*Lens culinaris*) y garbanzo (*Cicer arietinum*);
- Caupí (*Vigna* spp) en cultivos de guisante forrajero (*Pisum sativum*).

100. También hay especies de malas hierbas que pueden resultar difíciles de limpiar durante el procesamiento de semillas. Las siguientes asociaciones se han identificado en varios países:

- Vallico (*Lolium remotum*) en linaza (*Linum usitatissimum*);

- Mostaza Silvestre (senevé) (*Sinapis arvensis*) en mostaza blanca (*Sinapis alba*), nabo (*Brassica napus*), colza (*Brassica rapa*) y mostaza marrón (*Brassica juncea*);
- Sorgo de Aleppo (*Sorghum halepensis*) en sorgo híbrido;
- Avena silvestre (*Avena fatua*) en cereales

Pureza varietal

Requisitos de los cultivos

101. Suponiendo que ubicación, autenticidad, identidad varietal, aislamiento y estado del cultivo son satisfactorios, la etapa final de la inspección es la evaluación de la pureza varietal.

102. Para ello, es necesario seguir un procedimiento de muestreo que se centre en pequeñas zonas del cultivo de semillas para su examen detallado.

103. El número y tamaño de estas zonas tienen que estar relacionados con los estándares mínimos específicos de pureza varietal relativos a las especies de cultivo y la categoría de semilla producida.

104. Al decidir cuántas zonas de muestro se deben examinar, es preciso equilibrar los requisitos de la exactitud estadística con la necesidad de una confianza razonable en el resultado con el tiempo disponible para realizar las inspecciones. Esto puede suponer una menor carga de trabajo por razones prácticas y, en consecuencia, un aumento del riesgo de tomar una decisión errónea. Generalmente, se tiende a aceptar un cultivo que puede tener un nivel de impureza mayor que el estándar deseado. Sin embargo, esto tiene justificación, ya que los estándares de pureza varietal suelen ser más rigurosos de lo estrictamente necesario para la producción de cultivos comerciales.

105. Las zonas de muestreo deben ubicarse de forma que todo el terreno quede cubierto, y el inspector debe seguir un procedimiento predefinido. Sin embargo, es posible que éste tenga que adaptarse a la forma y tamaño de cada terreno, a las características particulares de cada especie, pero en particular a si el estándar para la pureza varietal se expresa como un porcentaje o un número máximo de plantas fuera de tipo por unidad de superficie.

106. La distribución de las zonas de muestreo debe ser aleatoria y extensa para representar todo el cultivo. No se debe seleccionar conscientemente aquellas zonas que parezcan mejores o peores que la media del cultivo. En la práctica esto se puede conseguir determinando una distancia predeterminada entre cada zona de la muestra. La dirección de sembrado también se debe tener en cuenta de forma que cada zona de muestreo incluya un paso diferente de la sembradora.

107. La cuarta parte de este documento "*Características para evaluar la pureza varietal*" proporciona para cada especie las características morfológicas y fisiológicas de mayor utilidad para distinguir las variedades, identificando así las plantas fuera de tipo (impurezas varietales). Las impurezas varietales pueden incluir otras variedades identificables, plantas desviadas o diversos tipos de variedades.

108. La facilidad para identificar impurezas variará significativamente en función del cultivo de semillas. Diferencias como la altura, el color, la forma o la madurez se identifican claramente. Impurezas menos evidentes como la forma de la hoja, su vello, las características de la flor y la semilla, sólo pueden detectarse comprobando una parte concreta de la planta. Se pueden examinar muestras más grandes para las impurezas obvias, y se deberían elegir aleatoriamente de una zona del terreno lo más amplia posible.

109. Los resultados de la parcela de ensayo correspondiente a los lotes de semillas básicas utilizadas deben ponerse a disposición del inspector. Esto permitirá confirmar las plantas fuera de tipo, encontradas en la parcela de pre-control por la Autoridad Nacional Designada, en el cultivo de semillas. También puede haber plantas fuera de tipo que estén en el cultivo de semillas, pero que no se detectaron en la parcela de control; éstas también deben registrarse y considerarse para determinar si el cultivo es aceptable.

Requisitos adicionales para los cultivos híbridos

110. Al inspeccionar los cultivos para producir variedades híbridas, el inspector debe asegurarse, antes de verificar la pureza varietal de los componentes masculino y femenino, que no ha habido una mezcla accidental de las dos filas de componentes.

111. En el caso del maíz, el sorgo y la producción de semilla de girasol híbrido, la purificación por raleo es un método aceptable para obtener la pureza varietal de uno u otro de los dos parentales. En este caso, la eliminación de las plantas aberrantes de una o varias características se debe realizar antes de que se derrame cualquier polen.

112. Si se utiliza la esterilidad masculina, el inspector debe asegurarse de la ausencia de plantas masculinas fértiles o parcialmente fértiles en las filas parentales femeninas.

113. En caso de emasculación mecánica para la producción de semillas híbridas de maíz, el inspector debe asegurarse de que se aplica antes de que las plantas femeninas hayan derramado polen alguno, y sobre todo, antes de que los estigmas de las plantas femeninas estén receptivos.

114. Durante las visitas de campo, el productor de semillas debe informar al inspector de las condiciones de recolección para garantizar que no habrá riesgo de mezcla entre el parental masculino y femenino. Las filas del parental masculino se destruirán o cosecharán por separado antes que las del parental femenino. Esto no aplica a la producción de centeno híbrido (*Secale cereale*), donde las líneas masculina y femenina se cultivan de forma mixta.

115. La pureza varietal del híbrido obtenido en la producción de cultivos sólo se puede comprobar en una parcela de post-control sembrada con una muestra de la semilla híbrida producida. Sin embargo, la pureza varietal se puede asegurar garantizando que se cumplen los siguientes requisitos:

- a) Distancias adecuadas de aislamiento de las fuentes de polen contaminante;
- b) Buenas condiciones para la difusión del polen;
- c) Elevados niveles de esterilidad masculina del parental femenino;
- d) Bajos niveles de hermano;
- e) Elevados niveles de pureza varietal de ambos parentales;
- f) Cosecha separada o destrucción del componente masculino antes de la línea parental (femenina) con semilla.

Inspección de conformidad de los estándares porcentuales

Cómputo de impurezas

116. Para los estándares expresados como un porcentaje, la cantidad de impurezas observadas en las zonas de muestra tiene que estar relacionada con la población de plantas.

117. Una estimación de la población de plantas se puede obtener contando el número de plantas o esquejes en una fila de un metro de longitud, y para cultivos a voleo en superficies de 0,5m².

118. La población por hectárea para cultivos en filas se puede calcular utilizando la siguiente fórmula:

$$P = \frac{1\ 000\ 000\ M}{W},$$

donde P = población de plantas población de plantas por hectárea

M = número medio de plantas por metro de longitud de la fila

W = distancia entre filas (en centímetros)

Para algunos cultivos, como los cereales, suele ser más rápido contar esquejes fértiles con forma de orejas o panículas en lugar de plantas. Para ello se tiene que suponer que cada planta producirá de media el mismo número de esquejes de forma que los recuentos sean proporcionales. El valor de M se obtiene contando el número de plantas o de orejas / panículas en una fila de un metro de longitud dentro de cada zona de muestra y calculando la media.

119. Si se cuentan las panículas en vez de las plantas en un ahijamiento, debe establecerse una tolerancia para la heterogeneidad inducida para los valores de rechazo y el tamaño de la muestra. Ello incrementará el número de panículas que necesitan evaluarse para obtener un mismo nivel de fiabilidad en los resultados. El tamaño de este incremento dependerá del número de panículas por planta. Además, la proporción de panículas fuera de tipo puede no ser la misma que la proporción de plantas fuera de tipo si el número de panículas por planta difiere entre la variedad de cultivo y los fuera de tipo [ver los documentos de la OCDE - TAD/CA/S/RD(2009)7 “*Choosing a sampling scheme for cereal crop sampling*” y TAD/CA/S/RD(2010)2 “*Investigation into heterogeneity and its impact for field inspections of cereal crops*”].

120. La población por hectárea para cultivos a voleo puede calcularse utilizando la siguiente fórmula:

$$P = 20\ 000 \times N,$$

donde P = población de plantas por hectárea

N = número medio de plantas cada 0,5m²

El valor de N se obtiene contando el número de plantas o de orejas / panículas en una superficie de 0,5m² dentro de cada zona de muestra y calculando la media.

Zonas de muestreo

121. El tamaño y número de zonas de muestreo variará dependiendo de las especies a inspeccionar; del tamaño del terreno; de si el cultivo se siembra o se esparce a voleo; de si es autógeno o alógeno, y de la zona geográfica en la que crece. En la práctica, la Autoridad Nacional Designada determinará el tamaño

apropiado y el número de zonas de muestreo de cada cultivo para garantizar que se examinan suficientes plantas para aplicar los estándares mínimos para la pureza varietal.

122. Si se cree que las impurezas varietales no están distribuidas de forma homogénea en el campo, es mejor examinar más zonas con un tamaño menor, manteniendo la superficie total bajo muestreo. Ello ayudará a garantizar que la muestra es más representativa [ver documentos de la OCDE TAD/CA/S/RD(2009)7 “*Choosing a sampling scheme for cereal crop sampling*” y TAD/CA/S/RD(2010)2 “*Investigation into heterogeneity and its impact for field inspections of cereal crops*”].

123. El tamaño de la muestra depende de la naturaleza del cultivo, la categoría que se debe inspeccionar y las consideraciones prácticas. Para los cereales, diez zonas de muestreo de 10m² cada una conteniendo un promedio de 250 esquejes por m², daría, una población total de muestreo de 25 000 ejemplares. Para otras especies cultivadas se debe seguir este modelo siempre que sea posible, aunque en ocasiones habrá que adaptarlo a las circunstancias locales.

124. Para cultivos sembrados en hileras anchas, cada muestra puede tener una longitud de fila de entre 20 y 25 metros, incluyendo el espacio entre éstas. Así, para el maíz, el sorgo y el girasol algunas Autoridades Nacionales Designadas podría considerar que 1 000 plantas en total constituyen una muestra suficientemente grande, mientras que para la soja la cifra podría oscilar entre 3 000 y 10 000 ejemplares, dependiendo de la categoría a inspeccionar.

125. Cuando los cultivos son a voleo, se puede reducir el tamaño de cada zona de muestra para asegurar que el total de plantas examinadas no excede el número requerido estadísticamente para obtener una buena estimación de la pureza varietal.

126. En general, el número de zonas de muestreo debería aumentar en proporción al tamaño del terreno. Debido a estándares más estrictos para los cultivos de semillas Pre-básica y Básica, el número de plantas examinadas en estas categorías debería ser mayor que para las semillas certificadas.

127. Como regla general, una muestra de tamaño $4 \times \underline{n}$ se puede utilizar cuando el umbral de impurezas es 1 a \underline{n} . Así, para una pureza varietal mínima de 99,9% (1 en 1 000) la muestra debería tener un tamaño de 4 000 ejemplares.

128. En algunos cultivos para producción de semillas híbridas, es esencial examinar todas las plantas de la muestra y no verificar únicamente la pureza varietal sino también que el estándar de esterilidad masculina del parental con semilla se haya cumplido.

129. Para algunas especies de cultivos, puede haber importantes características distintivas, que se enumeran en la descripción oficial, pero que son demasiado pequeñas para ser examinadas en condiciones de campo. Estas características podrían ser críticas en la evaluación de la homogeneidad de una variedad y podrían indicar polinización externa, segregación o mutación en el lote de semillas. En estas circunstancias, las plantas podrían ser examinadas más fácilmente en condiciones de laboratorio.

130. La Autoridad Nacional Designada puede basarse principalmente en los datos de la parcela de pre-control y utilizar los resultados de la inspección de campo solamente para confirmación. Cuando exista una divergencia evidente entre la parcela de control y los datos de campo, puede ser necesario realizar exámenes adicionales en ambas zonas de forma que se pueda adoptar una decisión positiva.

Cifras de rechazo

131. Para evaluar los cultivos con respecto a los estándares, se pueden utilizar las “cifras de rechazo” descritas en la sección previa sobre los ensayos en las parcelas de control. Como se dijo anteriormente, si

se cuentan las panículas en vez de las plantas, son necesarios valores de rechazo más amplios. [ver documentos de la OCDE - TAD/CA/S/RD(2009)7 “*Choosing a sampling scheme for cereal crop sampling*” y TAD/CA/S/RD(2010)2 “*Investigation into heterogeneity and its impact for field inspections of cereal crops*”].

132. Se facilitan algunos ejemplos en los Cuadros 10 y 11 para diversos estándares, poblaciones y cifras correspondientes de rechazo que podrían encontrarse en un zona total de muestreo de 100 metros cuadrados (10 x 10m²). Estos son aplicables únicamente cuando se cuentan las plantas. Si se cuentan las panículas, son necesarios entonces valores de rechazo más altos. Ver Cuadros 12 y 13.

Cuadro 10. Cifras de rechazo para una zona de muestra total de 100 m² para diversos estándares de pureza (99,5 a 99,9%)

Población estimada (plantas por ha)	Estándar de pureza varietal		
	99,9%	99,7%	99,5%
	Cifras de rechazo para una zona de muestra de 100m ² (*)		
600 000	11	26	40
900 000	15	37	57
1 200 000	19	47	74
1 500 000	23	57	90
1 800 000	26	67	107
2 100 000	30	77	123
2 400 000	33	87	139
2 700 000	37	97	155
3 000 000	40	107	171
3 300 000	44	117	187
3 600 000	47	126	203
3 900 000	51	136	219

Cuadro 11. Cifras de rechazo para una zona de muestra de 100 m² para diversos estándares de pureza varietal (97,0 a 99,0%)

Población estimada (plantas por ha)	Estándar de pureza varietal		
	99,0%	98,0%	97,0%
	Cifras de rechazo para una zona de muestra de 100m ² (*)		
200 000	29	52	74
400 000	52	96	139
600 000	74	139	203
800 000**	96	182	266

133. Los Cuadros 12 y 13 a continuación ofrecen las cifras de rechazo de panículas para varios tamaños de muestra

Cuadro 12. Cifras de rechazo de panículas para una zona de muestra total de 100 m² para diversos estándares de pureza varietal (99,5 a 99,9%)

Población estimada (panículas por ha)	Estándar de pureza varietal		
	99,9%	99,7%	99,5%
	Cifras de rechazo para una zona de muestra de 100m ² (*)		
600 000	16	31	46
900 000	19	43	67
1 200 000	25	55	85
1 500 000	28	67	100
1 800 000	31	76	118
2 100 000	37	88	136
2 400 000	40	97	154
2 700 000	43	109	169
3 000 000	46	118	187
3 300 000	52	130	202
3 600 000	55	139	220
3 900 000	58	151	235

Cuadro 13. Cifras de rechazo de panículas para una zona de muestra total de 100 m² para diversos estándares de pureza varietal (97,0 a 99,0%)

Población estimada (panículas por ha)	Estándar de pureza varietal		
	99,0%	98,0%	97,0%
	Cifras de rechazo para una zona de muestra de 100m ² (*)		
200 000	34	61	82
400 000	61	106	151
600 000	85	154	220
800 000**	106	196	286

(*) Los cultivos se rechazan si el número total de impurezas que se encuentran en la zona de 100m² es igual o mayor que la cifra dada para la estimación adecuada de población y estándar de pureza varietal.

(**). Con niveles de pureza varietales del 99,0% e inferiores y poblaciones de plantas de más de 1 000 000 ejemplares por ha, no es necesario utilizar las cifras de rechazo. Esto se debe a que el número de impurezas, que tienen que contarse para rechazar una cosecha, es tan grande que la diferencia entre la cifra esperada y la cifra de rechazo es lo suficientemente pequeña como para ignorarla a efectos prácticos.

134. La pureza de la especie y la pureza varietal se deben evaluar por separado y ambas deben ser satisfactorias para aceptar el cultivo.

Inspección de conformidad de los estándares expresados como un número máximo por unidad de superficie

135. Para muchas especies de cultivos no resulta ni posible ni práctico estimar con precisión las poblaciones de plantas debido al sistema de cultivo utilizado. En estos casos, los estándares de pureza varietal se expresan como un número máximo de impurezas por unidad de superficie (ver Sistemas de Semillas de la OCDE).

136. Tras la inspección de todo el terreno – para comprobar las condiciones de aislamiento, la escasa presencia de malas hierbas, la identidad varietal y la homogeneidad del cultivo – se debe utilizar uno de los métodos de muestreo que se describen a continuación.

137. Los procedimientos de muestreo se basan en las siguientes suposiciones: las plantas fuera de tipo y las plantas de otras especies se distribuyen aleatoriamente en todo el cultivo, y el cómputo de impurezas sigue la distribución de Poisson.

138. Si hay manchas de impurezas en algunas zonas del terreno, las suposiciones anteriores no serán válidas. En tales casos, estas manchas deben excluirse de las zonas de maestro e inspeccionarse por separado.

139. En el diseño de los procedimientos de muestreo al inspeccionar un número máximo de impurezas por unidad de superficie, *el riesgo de tomar una decisión equivocada se inclina a favor del productor de semillas*, con un riesgo más bajo si el cultivo se rechaza erróneamente (α) y un riesgo mayor si el cultivo se acepta equivocadamente (β). Este sesgo a favor del productor de semillas puede compararse con el caso de los cultivos inspeccionados según los estándares porcentuales.

140. Los dos métodos que se describen a continuación se han diseñado para comprobar la conformidad del cultivo de semillas hasta un límite máximo de 1 impureza cada 10 m². Ambos métodos aceptan *un riesgo β del 20%* de aceptar terrenos para los cuales la verdadera proporción de plantas fuera de tipo (o plantas de otras especies) es de 1,5 cada 10 m², y *un riesgo α menor del 10%* de rechazar terrenos con un máximo de 1,0 impureza cada 10m².

141. El Método A se diferencia del Método B en el que permite un máximo de dos recuentos (doble plan). El Método B se basa en una técnica de muestreo secuencial, con un máximo de nueve recuentos sucesivos.

Método A / Doble plan

142. Este método permite un máximo de dos pasos. El tamaño del terreno está limitado a 10 hectáreas y los recuentos de impurezas se realizan en 11 zonas de muestreo de 10m² cada una. Cuando el cultivo de semillas es mayor de 10 hectáreas, se debe subdividir en dos partes que se inspeccionan por separado.

143. Si el número total de impurezas es igual o inferior a 11, se considera que el terreno ha cumplido con el estándar mínimo de pureza varietal de 1 impureza cada 10m². Si el número total es igual o mayor que 18, el estándar se supera y se debe rechazar el terreno.

144. Cuando el número total de impurezas oscila entre 12 y 17, el método requiere realizar 17 recuentos adicionales. Si el nuevo total de impurezas obtenidas para las 28 zonas de muestra es igual o inferior a 35, el estándar se cumple y el terreno puede aprobarse. Si es igual o superior a 36, el terreno se rechaza. Los riesgos exactos asociados con este procedimiento son $\alpha=0,086$ y $\beta=0,198$.

Método B / Muestreo secuencial

145. Este método es un sistema de muestreo secuencial: El número de zonas de muestra inspeccionadas no está predeterminado sino que depende de los resultados de los sucesivos muestreos.

146. El Método B se ha diseñado para ahorrar tiempo, pero esta ventaja sólo es efectiva en la práctica cuando la mayoría de los cultivos satisface el estándar de pureza varietal de semillas certificadas de 1 impureza cada 10m². Como en el Método A, el tamaño del terreno está limitado a 10 ha. Los terrenos de más de 10 hectáreas deben subdividirse y cada parte se inspecciona por separado.

147. El número mínimo de recuentos a realizar está determinado por el tamaño del terreno (Cuadro 14).

Cuadro 14. Número mínimo de recuentos para diversos tamaños del terreno

Tamaño del terreno (ha)	Número de recuentos
1 ó 2	4
3 ó 4	8
5 a 7	12
8 a 10	16

148. El número total de impurezas en los recuentos se evalúa con el criterio de aceptación o rechazo (ver Cuadro 15).

Cuadro 15. Límites de aceptación y rechazos en función de los recuentos

Número de recuentos	Número total de impurezas	
	TERRENO ACEPTADO Si el número es igual o menor a	TERRENO RECHAZADO Si el número es igual o mayor a
4	1	10
8	6	15
12	12	19
16	18	24
20	22	30
24	27	35
28	31	39
32	36	44
36	43	44

149. Si el número de impurezas se encuentra dentro de las franjas de aceptación o rechazo, se deben realizar más recuentos (hasta un máximo de 36), hasta que se pueda tomar una decisión. Los riesgos exactos asociados a este procedimiento son $\alpha = 0,096$ y $\beta = 0,202$.

PARTE III.

**MÉTODOS ADICIONALES DE ENSAYO PARA LA IDENTIDAD Y
PUREZA VARIETALES**

Objetivos

150. Los métodos adicionales de ensayo, como el examen visual de las semillas y plántulas y los ensayos (bio) químicos, pueden utilizarse para evaluar la identidad y pureza varietales. Se debe disponer de una muestra auténtica del estándar de la variedad para la comparación y debe tratarse y examinarse de la misma forma que la muestra que se está probando. Los métodos de la siguiente lista están siendo utilizados por al menos una de las Autoridades Nacionales Designadas. La lista no es exhaustiva. La metodología para la mayoría de los métodos de ensayo se puede encontrar en las normas internacionales. Por ejemplo, las Normas Internacionales para el Ensayo de Semillas (Asociación Internacional de Análisis de Semillas) y el Manual de Pureza de los Cultivos (Asociación de Analistas Oficiales de Semillas).

Examen de semillas

151. Cereales

Diversas semillas se examinan utilizando las características que se emplearon para describir la variedad. Las características morfológicas se pueden observar mediante el examen visual directo o con un aumento adecuado.

1. En la cebada

Las características más útiles son la forma del grano, la base de la glumela inferior, el color, los pelos ventrales, la apertura del pliegue ventral, los pelos de la raquilla, la dentición de los nervios dorsales laterales, las arrugas de la glémula inferior y la palea, la forma y pilosidad de los lodículos;

Prueba de color de la aleurona utilizando perlado;

Prueba de color de la aleurona utilizando perlado seguido de ácido hidrocloreídrico.

2. En el trigo, la cebada, la avena y el triticale, electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) para la determinación de la identidad y pureza varietales.
3. En la avena, una característica útil es el color del grano, que puede ser blanco, amarillo, marrón o negro.
4. En la avena y la cebada, el color de grano con luz ultravioleta puede servir a veces de diagnóstico (prueba de fluorescencia)
5. En el trigo, el hidróxido de sodio y la prueba de fenol para el color del grano.
6. En el maíz, utilización de isoencimas.

152. Otras especies

1. En algunas especies (por ejemplo, guisantes y altramuces), las diferencias de diagnóstico en color, tamaño y forma se pueden observar mediante examen visual directo con luz natural o luz ultravioleta.
2. En altramuces spp, la presencia o ausencia de alcaloides sirve de diagnóstico.

3. Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) para la verificación de variedades de colza (*Brassica napus*), guisantes y vallicos.
4. Focalización isoelectrica de capa ultrafina (UTLIEF) para medir la pureza del híbrido y verificar las variedades de maíz y girasol.
5. Métodos de ensayo de AND/ARN utilizando técnicas como, pero no limitadas a, Polimorfismo por Restricción de Longitud de Fragmentos (RFLP, por sus siglas en inglés); Polimorfismo de Longitud de Fragmentos Amplificados (PLFA); Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), Repeticiones de Secuencia Simple (SSR, por sus siglas en inglés) y Polimorfismo de un Solo Nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés). Estos métodos son particularmente útiles para aquellas variedades que tienen una característica particular que no es visible para el ojo humano.
6. En soja,
 - Ensayo de peroxidasa
 - Ensayo de color del hilum.

Examen de plántulas

153. Cereales

Algunas variedades se pueden clasificar en función del color de sus coleóptilos.

154. Remolacha

1. Algunas variedades se pueden distinguir por el color de las plántulas, que puede ser blanco, amarillo, rojo pálido o rojo.
2. Ensayo de ploidía.

155. Brassica spp.

En nabo y colza, las variedades de pulpa blanca se pueden distinguir de las de pulpa amarilla por el color de los cotiledones.

156. Vallico spp.

1. En la mayoría de variedades de *Lolium multiflorum* los rastros de las raíces de la mayoría de plántulas se muestran fluorescentes con luz ultravioleta, mientras que no sucede así con la mayoría de las variedades de *Lolium perenne*. Por sí solo, el ensayo de fluorescencia no siempre es suficiente para la identificación de especies o variedades porque muchas de las variedades cultivadas contienen diversas plantas que no reaccionan de la forma habitual. Además, diversas formas híbridas entre las dos especies pueden dar lugar a una reacción intermedia.
2. Ensayo de ploidía

157. Festuca spp.

1. *Festuca rubra* L. y *Festuca ovina* L. se pueden distinguir de manera similar al Vallico spp. Las raíces son fluorescentes en una atmósfera que contenga amoníaco; las de *Festuca rubra* son de color amarillo-verde con luz ultravioleta mientras que las raíces de *Festuca ovina* son de color verde azulado.
2. Ensayo de ploidía

158. Maíz

Utilización de isoencimas

Examen de plantas

159. Distinguir entre dos o más variedades de las especies de forraje mediante el estudio de plantas individuales utilizando una técnica de plantas espaciadas.
160. Crecimiento en cámaras para examinar las características de la descripción de la variedad, a menudo en comparación con la auténtica muestra estándar.
161. Ensayo de color para los hipocotilos de la soja en una cámara de crecimiento.
162. Pulverizar herbicidas de plantas para cuantificar la tolerancia a herbicidas.
163. Verificación de tipo en el trébol rojo (corte simple o doble).
164. Ensayos de hibridación para la colza (*Brassica napus*) (incluye puntuaciones de las plantas después de la aplicación de herbicidas, así como puntuación de fertilidad vegetal).

Rango de etapas de crecimiento

165. Ensayos biológicos de detección para distinguir resistencia o susceptibilidad de la variedad a los herbicidas. Se pueden analizar muchas plantas con un coste relativamente bajo para las características peculiares.
166. Electroforesis en gel de almidón (SGE, por sus siglas en inglés), para la verificación de las variedades de colza (*Brassica napus*).
167. Focalización isoelectrica (IEF, por sus siglas en inglés) de las enzimas hoja para la verificación de las isoenzimas hoja en la Colza (*Brassica napus*).

Los Sistemas de Semillas de la OCDE son un conjunto de procedimientos, medidas y técnicas que tienen como objetivo asegurar la identidad y pureza varietales de las semillas comercializadas internacionalmente. Las presentes directrices para los ensayos en las parcelas de control y la inspección de campo de los cultivos de semillas tienen la finalidad de asesorar a las Autoridades Nacionales Designadas de los métodos y técnicas para determinar la pureza e identidad varietales durante las diferentes etapas de la producción de semillas.

Los métodos descritos han proporcionado resultados precisos y fiables. Las directrices han sido aprobadas por los países miembros y los países no miembros de la OCDE que participan en el Sistema de Semillas de la OCDE e intercambian semillas certificadas en el comercio internacional.