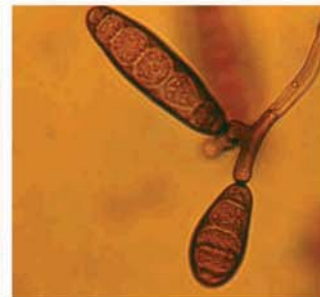


# Taller de Sanidad de Semillas

29 de noviembre-3 de diciembre 2010



Texcoco, Estado de México, a 29 de noviembre de 2010

**Estimado ingeniero,**

Es un honor para mí y para el CIMMYT tener la oportunidad de compartir con usted nuestra experiencia y conocimientos en sanidad de semillas, enfocados a los cultivos de maíz y trigo. Este es el primer curso que aborda este tema, con el que espero crear un antecedente exitoso que nos permita repetir la experiencia en el futuro.

El CIMMYT tiene una larga tradición en capacitación. El Dr. Norman Borlaug, Premio Nobel de la Paz 1970, mejorador de trigo y científico del CIMMYT por más de 40 años, estableció la capacitación como elemento fundamental para el éxito del Centro, en su misión de proveedor de germoplasma de maíz y trigo para los sistemas de cultivo sustentables. La capacitación entendida, sin duda, como el intercambio de información entre interlocutores, en este caso, usted. Sólo así saldremos enriquecidos usted, los demás participantes y yo.

El laboratorio de Sanidad de Semillas del CIMMYT se constituyó, oficialmente, en 1988 y desde entonces ha crecido, hasta llegar, en la actualidad, a estar aprobado por la Dirección General de Sanidad Vegetal (SENASICA) y acreditado con la norma ISO/IEC 17025:2005.

Tiene usted en su mano un programa de actividades para estos días que nos guiará durante la semana. Sin embargo, también nos permite cierta flexibilidad en caso de encontrar temas interesantes en que podamos profundizar o asuntos que sean de su interés y que yo no haya incluido. Abordaremos cuestiones referentes a detección de patógenos a un nivel básico, siempre tratando de ofrecer opciones para resolver los aspectos prácticos que se encuentran, por lo general, durante el desarrollo de los análisis de semilla. Asimismo, trataremos algunos tópicos frecuentes, de carácter menos científico y más burocrático, como cuarentenas y regulaciones de la distribución de semilla que, en ocasiones, no van al paso de la ciencia.

Espero que su estancia sea agradable y no dude en comunicarse conmigo o con el personal de la oficina de capacitación, en caso que usted lo requiera.

Cordialmente,

**Monica Mezzalama**  
Fitopatóloga  
Responsable del Laboratorio de Sanidad de Semillas

International Maize  
and Wheat  
Improvement Center  
Km. 45, Carretera  
Mexico-Veracruz,  
El Batán, Texcoco,  
Edo. de Mexico  
C.P. 56130 Mexico  
E-mail: [cimmyt@cgiar.org](mailto:cimmyt@cgiar.org)  
Web site: [www.cimmyt.org](http://www.cimmyt.org)

Telephone:  
Texcoco:  
+52 (595) 9521900  
Fax: +52 (595) 9521983  
Mexico:  
+52 (55) 58042004  
Fax: +52 (55) 58047558

**Colección de referencias del laboratorio  
de sanidad de semillas**

## Colección de referencias del laboratorio de sanidad de semillas

Por no. de ubicación	Por autor
<b>83</b>	AA.VV. Principles and practice of steam sterilization. Printed in the US. 12 p.
<b>1</b>	Agricultural Research Service. U.S. Department of Agriculture. 1968. Barley: origin, botany, culture, winter hardiness, genetics, and utilization pests. Agriculture Handbook No. 338. Washington, D.C. 127 p.
<b>2</b>	Agrios, G.N. 1986. Fitopatología. Ed. Limusa. México, D.F. 756 p.
<b>91</b>	Autores varios. Descripción del hongo <i>Tilletia cerebrina</i> .
<b>3</b>	Ball, E.M. 1974. Serological Tests for the Identification of Plant Viruses. The American Phytopathological Society Plant Virology Committee. St. Paul, Minnesota, USA. 31 p.
<b>4</b>	Ballantyne, B., P. A. Burnett, G. Fuentes-Davila, B. J. Goates, O.F. Mamluk, J. Nielsen, E. E. Saari and P. Thomas. 1996. Bunt and Smut Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. CIMMYT, México, D.F. 66 p.
<b>5</b>	Barnett, H. L. and B. B. Hunter. 1990. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. Macmillan Publishing Company, United States of America. 218 p. (589.24 BAR 1990).
<b>81</b>	BIOLOG, Inc. 2001. Microlog™ System, Release 4.2. User guide. Printed in the USA, 55 p.
<b>6</b>	Bockelman, H. E., E. L. Sharp and D. C. Sands. 1981. Field Manual of Common Barley Diseases. Bulletin No. 734. Department of Plant Pathology, Montana State University, Montana, USA. 56 p.
<b>73</b>	Bockus W.EW. et al. 2010. Compendium of Wheat Diseases and Pests. Third edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 171 p.
<b>7</b>	Bohmont, B.L. 1983. The new pesticides user's guide. Reston Publishing Company, INC. Reston, Virginia. 452 p.
<b>8</b>	Booth, C. 1977. Fusarium. Laboratory Guide to the Identification of the Mayor Species. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 58 p.
<b>9</b>	Bradbury, J. F. 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 332 p. (589.9 BRA)
<b>10</b>	Brauer, O. 1983. Fitogenética Aplicada. Ed. Limusa, México, D. F. 518 p.
<b>11</b>	Brown, W. M. 1988. Manejo Integrado de Plagas (IPM) Como un Componente del Concepto de Sistemas Agrícolas. Department of Plant Pathology/Weed Science. Colorado State University. Fort Collins. 267 p.
<b>12</b>	Burgess, L.W., B. A. Summerell, S. Bullock, K.P. Gott and D. Backhouse. 1994. Laboratory Manual for <i>Fusarium</i> Research. Third Edition. University of Sidney. 133 p. (589.24 BUR 1994).
<b>13</b>	CAB International. 2005. Crop Protection Compendium, Global Module. 4 <sup>th</sup> edition. Wallingford, UK, CAB INTERNATIONAL.
<b>14</b>	Calderón-Barraza, O y F. J. Espinosa-García. Manual de Identificación de Semillas de Maleza: Claves, Descripciones e Ilustraciones de 74 Especies de Importancia Fitosanitaria (incluye 28 malezas restringidas y 6 prohibidas) SAGAR, México, D.F. 112 p.
<b>85</b>	Carpeta de Requisitos fitosanitarios internacionales para maíz
<b>84</b>	Carpeta de Requisitos fitosanitarios internacionales para trigo
<b>101</b>	Castlebury, L.A., Carris, L.M. 1999. <i>Tilletia walkeri</i> , a new species on <i>Lolium multiflorum</i> and <i>L. perenne</i> . Mycologia, 91,1, 121-131.
<b>15</b>	De León, C. 1984. Enfermedades del Maíz: Una Guía para su Identificación en el Campo. Tercera edición. CIMMYT, México, D.F. 114 p.

<b>18</b>	Dhingra, O. D and Sinclair, J. B. 1987. Basic Plant Pathology Methods. 4 <sup>th</sup> Edition. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. U.S.A. 355 p.
<b>16</b>	Diccionario de Especialidades Agroquímicas-PLM. Edición 2000. 1448 p.
<b>17</b>	Diekman, M and C. A. J. Putter. 1994. Small Grain Temperate Cereals. FAO/IPGRI Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm. No.14
<b>95</b>	Dirección General de Sanidad Vegetal. 4 de abril de 2006. Lista Especifica de Plagas Reglamentadas A1 y A2.
<b>38</b>	Drechsler, C. 1923. Some Graminicolous Species of <i>Helminthosporium</i> . Vol. XXIV. No.8. pp. 641-740.
<b>19</b>	Dubin, H. J., L. Gilchrist, J. Reeves and A. McNab. 1996. <i>Fusarium</i> Head Scab: Global Status and Future Prospects. CIMMYT, México, D.F. 130 p.
<b>20</b>	Dugan, F. M. 2005. The Identification of Fungi. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, U.S.A. 176 p.
<b>22</b>	Durán, R and G.W. Fischer. 1961. The Genus <i>Tilletia</i> . Washington State University. 138 p.
<b>21</b>	Durán, R. 1987. Ustilaginales of México. Taxonomy, Symptomatology, Spore Germination and Basidial Cytology. Washington State University. 331 p.
<b>100</b>	Durrell, L. W. 1963. Notes on <i>Cephalosporium</i> species. Colorado State University.
<b>23</b>	Duveiller, E., Fucicovsky, L and K. E. Rudolph. 1997. The Bacterial Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. CIMMYT. México, D.F. 78 p.
<b>24</b>	Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. 2nd. Edition. John Wiley and Sons, Inc. United States of America. 550 p.
<b>88</b>	European Accreditation Laboratory Committee. 2002. Accreditation for Microbiological laboratories. EA-04/10. <a href="http://www.eurachem.ul.pt/index.htm">http://www.eurachem.ul.pt/index.htm</a> . 26 pp.
<b>25</b>	Eyal, Z., A. L. Scharen, J. M. Prescott and M. van Ginkel. 1987. The Septoria Diseases of Wheat. Concepts and Methods of Disease Management. CIMMYT, México, D.F. 46 p.
<b>93</b>	FAO. 2007. Normas Internacionales para medidas fitosanitarias. De 1 a 29. Secretaria de la Convención internacional de Protección Fitosanitaria. 383 pag.
<b>82</b>	Fisher N.L., Burgess L.W., Tousson T.A., Nelson P.E. 1982. Carnation leaves as a substrate for preserving cultures of <i>Fusarium</i> species. <i>Phytopathology</i> 72, 151-153.
<b>26</b>	French, E. R and T.T. Hebert. 1982. Métodos de Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 289 p.
<b>27</b>	Gilchrist-Saavedra, L., G. Fuentes-Dávila., C. Martínez-Cano., R. M. López-Atilano., E. Duveiller., R. P. Singh., M. Henry y I. A. García. 2006. Guía Práctica para la Identificación de algunas Enfermedades de Trigo y Cebada. Segunda edición. CIMMYT, México, D.F. 68 p.
<b>28</b>	Goggi, S y L. A. Bustamante. 1995. VIII Curso de Actualización en Tecnología de Semillas. Taller de Calidad de Semillas. Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 41 p.
<b>29</b>	Gordon, W.L. 1952. The Occurrence of <i>Fusarium</i> Species in Canada. II. Prevalence and Taxonomy of <i>Fusarium</i> Species in Cereal Seed. <i>Canadian Journal of Botany</i> 30:209-251.
<b>30</b>	Hanlin, R.T. 2000. Illustrated Genera of Ascomycetes. Vol. II. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, U.S.A. 258 p.
<b>31</b>	Hernández, P. D. 1998. Enfermedades de Maíz ( <i>Zea mays</i> L.) Trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L.) y Cebada ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) Presentes en México. Tesis Profesional. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 126 p.
<b>77</b>	Hill, S. A. 1984. Methods in Plant Virology. Vol. 1. Edited for British Society for Plant Pathology. Oxford, United Kingdom, 167 p.
<b>32</b>	ISTA. 2002. Handbook on Seed Health Testing. Section 2. Working Sheets. Edited by: J. Jorgensen. (REF 631.521 JOR section 2).
<b>36</b>	ISTA. 2004. International Seed Testing Association. Seed Sampling. 2 <sup>nd</sup> . Edition. Bassersdorf, CH-Switzerland. (338.1731 INT).

<b>34</b>	ISTA. 2005. International Rules for Seed Testing. Annex to Chapter 7 Seed Health Testing. Seed Health Testing Methods. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. (338.1731 INT 2004 Annex).
<b>35</b>	ISTA. 2009. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. (338.1731 INT 2004).
<b>37</b>	Jaimes-Salgado, F. 1977. Manual de Prácticas de Bacterias Fitopatógenas. Departamento de Parasitología Agrícola. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México. 119 p.
<b>39</b>	Kado, C.I. 1980. Methods in Plant Bacteriology. Department of Plant Pathology, University of California Davis. 82 p.
<b>40</b>	Lelliott, R. A and D.E. Stead. 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Methods in Plant Pathology Vol. 2. British Society for Plant Pathology by Blackwell Scientific Publications. 216 p.
<b>90</b>	Leslie, J.F., Summerell, B.A. 2006. The <i>Fusarium</i> Laboratory Manual. Blackwell Publishing. 388 p.
<b>79.1</b>	Ley Federal de Sanidad Vegetal; Ley Federal de Metrología y Normalización. 1992. 47 p. <a href="http://info4.juridicas.unam.mx">http://info4.juridicas.unam.mx</a> .
<b>79.8</b>	Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización. DOF 1 de julio 1992, reformada 20 de mayo 1997.
<b>41</b>	Leyva-Mir, S. G. 1982. Especies de <i>Helminthosporium</i> Patógenas de la Cebada ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) en México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 70 p.
<b>42</b>	López-Aceves, G. F. 1981. Manejo de Hongos Fitopatógenos. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 135 p.
<b>43</b>	López-Fuentes, M. C. 1982. Fitobacteriología. Departamento de Parasitología Agrícola. Área de Fitopatología. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 45 p.
<b>89</b>	López-Martínez, M. I. 2007. La acreditación en México, sus primeros años. NYCE, México D.F. 285 pp.
<b>44</b>	Manovsky-de Eulacio, C. 1982. Identificación de Bacterias Fitopatógenas. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 109 p.
<b>45</b>	Martínez-Miller, C. 1994. Etiology and Characterization of Two <i>Pseudomonas syringae</i> Pathovars Causing Two Bacterial Kernel Blight of Barley. Thesis for a Doctoral Degree. Montana State University. Bozeman, Montana. 115 p.
<b>46</b>	Mathre, D. E. 1982. Compendium of Barley Diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 78 p.
<b>94</b>	Mathur S.B., Kongsdal O. 2003. Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi. ISTA. 425 pag.
<b>47</b>	Mathur, S.B and B.M Cunfer. 1993. Seed-borne Diseases and Seed Health Testing of Wheat. Copenhagen, Denmark. 168 p.
<b>48</b>	Matsumoto, T and T. Bell. 1989. Laboratory Guide for the Identification of Smut Fungi of Quarantine Significance to California. Sacramento, California.
<b>49</b>	McGee, D.C. 1988. Maize Diseases. A Reference Source for Seed Technologists. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 150 p.
<b>50</b>	Mew, T.W and J. K. Miska. 1994. A Manual of Rice Seed Health Testing. IRRI. Manila, Philippines. 113 p.
<b>78</b>	Morrison, R. H. 1999. Sampling for Decision Making in Crop Assessment and Pest Management. Phytopathology, 89: 84-1087.
<b>92</b>	NAPPO. 2001. Norma de la NAPPO sobre medidas fitosanitarias. Directrices para mantener y verificar Áreas libres de Carbón parcial en Norteamérica. DOC. De la NAPPO 001.002s. 31 p.
<b>51</b>	National Seed Health System. NSHs. USDA. <a href="http://www.seedhealth.org">www.seedhealth.org</a> .

<b>52</b>	Neergaard, P. 1977. Seed Pathology, Vol. I y II. John Wiley & Sons, New York.
<b>53</b>	Nelson, P. E., T. A. Toussoun and W.F.O. Marasas. 1983. <i>Fusarium</i> Species an Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State. University Press. 193 p. (589.24 NEL).
<b>79.6</b>	Norma ISO 10012:2003. Sistema de gestión de las mediciones-Requisitos para los procesos de medición y los equipos de medición.
<b>79.7</b>	Norma ISO 19011:2002. Directrices para la auditoria de los sistemas de gestión de la calidad y/o ambiental.
<b>79.4</b>	Norma ISO/IEC 17000:2004. Evaluación de la conformidad.
<b>79.5</b>	Norma NMX-Z-055-IMNC-2009. Vocabulario Internacional de Metrologia- Conceptos fundamentales y generales, términos asociados (VIM).
<b>79.2</b>	Normas Oficiales Mexicanas desde 001- hasta 035
<b>79.3</b>	Normas Oficiales Mexicanas desde 036 hasta 081; Diario oficial del 25 de marzo 2004; Norma ISO/IEC 17025:2005.
<b>54</b>	Pinto, C. B. 1981. Virología Agrícola. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 175 p.
<b>55</b>	Plant Pathologist's Pocketbook. 1974. The Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 267 p.
<b>56</b>	Protocolos de AGDIA, DAS ELISA (Enzima-linked-immunosorbent assay) <a href="http://www.agdia.com">www.agdia.com</a>
<b>86</b>	Rao B.M., Shetty H.S., Safeeulla K.M. 1984. Production of <i>Peronosclerospora sorghi</i> in maize seeds and further studies on the seed borne nature of the fungus. Indian Phytopathology, 37, 278-283.
<b>96</b>	Riley I.T., Nicol J. M., Dadabat A.A. 2009. Cereal cysts nematodes: status, research and outlook. CIMMYT, Ankara Turkey.
<b>76</b>	Rincón-Sánchez, A. R y Reyes-Ortiz, N. 1992. Manual de Microscopia Óptica. Editado por la Asociación de Químicos del INNS (AQINNSZ), México, D. F. 51 p.
<b>57</b>	Rocha P. M. A y R. González. 1985. Temas en Virología. Sociedad Mexicana de Fitopatología. 139 p.
<b>58</b>	Rodríguez-Mejía, M. L. 2001. Manual para la Identificación de Bacterias Fitopatógenas. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 119 p.
<b>80</b>	Romero-Cova, S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco Km. 38.5. 347 p.
<b>99</b>	SAGARPA-SENASICA-DGSV. Manual Operativo de la Campaña contra el Carbón Parcial del Trigo. Apéndice a la NOM-001-FITO-2001.
<b>59</b>	Sánchez-Martínez, J. 1996. Terminología en Semillas. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. División de Ciencias Agronómicas. Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México. 107 p.
<b>60</b>	Sandin, C. E. 1995. Determinación del Tamaño Óptimo de Muestra para el Diagnóstico de Carbón Parcial de Trigo, <i>Tilletia indica</i> (Mitra, 1931) en Condiciones de Laboratorio, Propuesta de un Método Alternativo. Tesis profesional. Universidad Simón Bolívar. México, D.F. 52 p.
<b>61</b>	SARH. 1992. Guía Fitosanitaria para el Cultivo de Maíz. Serie Sanidad Vegetal. México, D.F.
<b>62</b>	SARH. 1992. Malezas Comunes en Cultivos Agrícolas de México. Descripción, Distribución, Importancia Económica y Control. Serie Sanidad Vegetal. México, D.F. 91 p.
<b>87</b>	Sauer, D.B., Burroughs, R. 1986. Disinfection of seed surfaces with sodium hypochlorite. Phytopathology 76, 745-749.
<b>63</b>	Schaad, N.W., J. B. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Third Edition. APS Press, St. Paul, Minnesota. 373 p. (632.32 SCH 2001)
<b>64</b>	Shurtleff, M.C. 1980. Compendium of Corn Diseases. Second Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 105 p.

<b>98</b>	Simmons E. G. 2007. <i>Alternaria</i> . An identification manual. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands.
<b>65</b>	Singh, G.K and S.S. Aujla. 1987. Cooperative Research on Karnal Bunt of Wheat 1986-87. Punjab Agricultural University. Ludhiana, India. 19 p.
<b>66</b>	Sivanesan, A. 1987. Graminicolous Species of <i>Bipolaris</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Drechslera</i> , <i>Exserohilum</i> and their Teleomorphs. CAB International Mycological Institute. UK. 261 p. (589.2 SIV).
<b>67</b>	Snowball, K and A.D. Robson. 1991. Nutrient Deficiencies and Toxicities in wheat: A Guide for Field Identification. CIMMYT, México, D.F. 76 p.
<b>68</b>	Stubbs, R. W., J. M. Prescott, E. E. Saari and H. J. Dubin. 1986. Manual de Metodología sobre las Enfermedades de los Cereales. CIMMYT. D. F. 46 p.
<b>69</b>	Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 695
<b>70</b>	Valadez, M. E. 2000. Huellas de ADN en Genomas de Plantas (Teoría y protocolos de laboratorio). Universidad Autónoma Chapingo. Ed. Mundi-Prensa, México, D.F. 147 p.
<b>71</b>	Wallwork, H. 2000. Cereal Root and Crown Diseases. Edited by Australian Centre for International Agricultural Research. Adelaide, Australia. 58 p.
<b>72</b>	Warham, E.J., L. D. Butler and B.C. Sutton. 1996. Seed Testing of Maize and Wheat. A Laboratory Guide. CIMMYT, México, D.F. 84 p.
<b>97</b>	Watanabe T. 2002. Pictorial Atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultured fungi and key to species. 2 <sup>nd</sup> edition. CRC PRESS.
<b>74</b>	Williams, E. B. 1989. Diccionario Ingles-Español, Español-Ingles, New York, USA. 724 p.
<b>75</b>	Zillinsky, F.J. 1984. Guía para la identificación de enfermedades en cereales de grano pequeño. CIMMYT, México, D.F. 141 p.



# PROGRAMA

## Taller Sanidad de Semillas

HORA	TEMA	ACTIVIDAD	Ficha Técnica #	PONENTE	LUGAR
<b>LUNES 29/11</b>					
08:30-9:30	Introducción y Presentación Del Laboratorio de Sanidad de Semillas del CIMMYT	Conferencias	1	Dra. Monica Mezzalama	Sala B115
09:30-9:50	Conceptos fitosanitarios		2		
09:50-10:30	Calidad fitosanitaria de la semilla		3		
10:30-10:45	<b>Receso</b>				
10:15-11:00	Detección de patógenos en laboratorio	Conferencias	5		
11:00-11:15	Recepción y preparación de muestra de trabajo		6		
11:15-12:45	Recepción y preparación de muestra de trabajo	Inspección visual Preparación de muestras "Anamnesis"	6	M.C. Noemí Valencia M.C. Gabriela Juárez Dra. Monica Mezzalama	Laboratorio
12:45-13:00	Foto de grupo				Escaleras Edificio Principal
<b>13:00-14:00 COMIDA</b>					
14:00-16:00	Detección de hongos	Prueba de Lavado de semillas y filtración para detección de especies de <i>Tilletia</i>	7	M.C. Noemí Valencia M.C. Gabriela Juárez Dra. Monica Mezzalama	Laboratorio
		Evaluación filtros Preparación prueba de germinación en papel	8		
16:00-17:00	<b>Visita al Banco de Germoplasma de Maíz</b>	Recorrido		Dr. S. Taba M.C. V. Chavez	Banco
<b>MARTES 30/11</b>					
06:00-17:00	<b>Visita a la estación experimental Tlaltzapán, Morelos</b>	Desayuno Presentación Inspección de campo (lote F2) y colección de muestras	4	Ing. Oscar Banuelos, Superintendente de la Estación Experimental	Tlaltzapán, Morelos
<b>MIÉRCOLES 1/12</b>					
08:45-9:15	Detección de bacteria y virus por ELISA	Conferencias	9	Dra. Monica Mezzalama	Sala B115
09:15-9:45	Detección de hongos por incubación		10		
09:45-10:00	<b>Receso</b>				
10:00-13:00	Detección de virus, bacteria y hongos	Preparación prueba de ELISA para detección de <i>P. stewartii</i> y BSMV (sensibilización de placas, extracción de muestras) Aislamiento de patógenos de muestras de campo	9	M.C. Noemí Valencia M.C. Gabriela Juárez Dra. Monica Mezzalama	Laboratorio
<b>13:00-14:00 COMIDA</b>					
14:00-15:00	<b>Visita al área de preparación y distribución de semillas</b>	Recorrido		M.C. Efrén Rodríguez	Banco
15:00-17:00	Detección de virus, bacteria y hongos	Continuación prueba de ELISA (lavado, colocación de muestras y controles) Evaluación prueba de papel secante y congelación (preparaciones al microscopio, uso claves taxonómicas, material bibliográfico)	9	M.C. Noemí Valencia M.C. Gabriela Juárez Dra. Monica Mezzalama	Laboratorio
			10		

HORA	TEMA	ACTIVIDAD	Ficha Técnica #	PONENTE	LUGAR
<b>JUEVES 2/12</b>					
09:00-11:00	<b>Interrelación de los patógenos con el hospedante</b> A. Mecanismos de Infección B. Mecanismos de transmisión	Conferencia		Dra. Ana Maria Hernández Colegio de Postgraduados	Sala B115
11:00-11:15	<b>Receso</b>				
11:15-13:00	Detección de virus, bacteria y hongos	Lavado de semillas, diluciones seriales, aislamiento en medio selectivo Evaluación prueba de papel secante y congelación (preparaciones al microscopio, uso claves taxonómicas, material bibliográfico) Terminación prueba de ELISA (lavado, puesta del conjugado, del sustrato, revelado, lectura)	11 10 9	M.C. Noemí Valencia M.C. Gabriela Juárez Dra. Monica Mezzalama	Laboratorio
<b>COMIDA</b>					
13:00-14:00					
14:00-15:00	<b>Visita al Banco de Germoplasma de Trigo</b>	Recorrido		M.C. Bibiana Espinosa	Banco
14:00-17:00	Detección de virus, bacteria y hongos	Observación prueba de germinación en invernadero Evaluación prueba de papel secante y congelación (preparaciones al microscopio, uso claves taxonómicas, material bibliográfico)	8 10	M.C. Noemí Valencia M.C. Gabriela Juárez Dra. Monica Mezzalama	Laboratorio
<b>VIERNES 3/12</b>					
09:00-9:45	Como garantizar el intercambio seguro de semilla alrededor del mundo	Conferencia	12	Dra. Monica Mezzalama	Sala B115
09:45-10:00	<b>Receso</b>				
10:00-11:30	Evaluación y comentarios a los resultados obtenidos conclusiones			M.C. Noemí Valencia M.C. Gabriela Juárez Dra. Monica Mezzalama	
11:30-12:00	<b>CLAUSURA</b>	Entrega de diplomas		Dr. Thomas Payne Dra. Monica Mezzalama	
<b>COMIDA</b>					

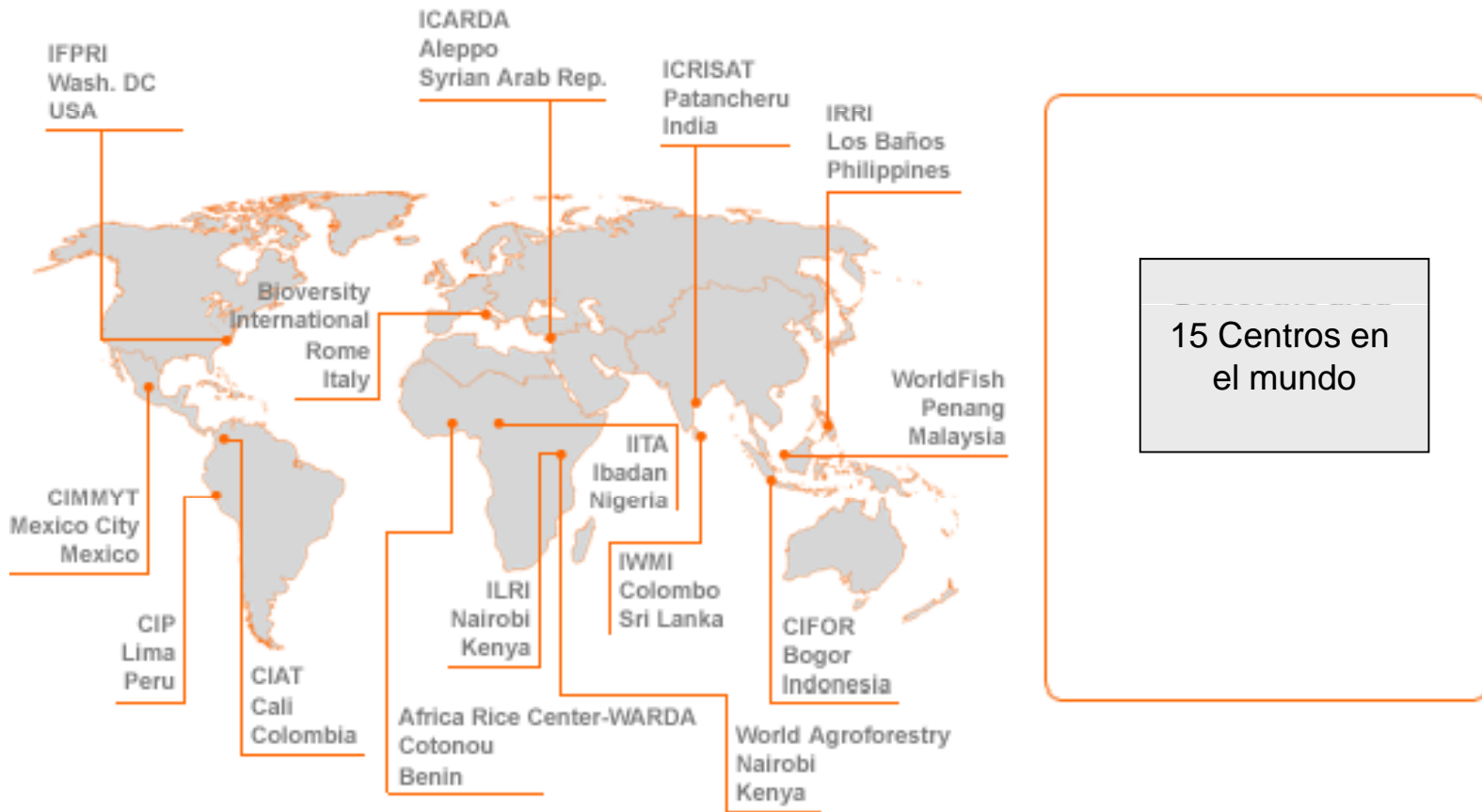
## Índice de las fichas técnicas

<b>Ficha técnica</b>	<b>Título</b>
<b>1</b>	Laboratorio de sanidad de semilla del CIMMYT: promoviendo el intercambio seguro de maíz y trigo por todo el mundo
<b>2</b>	Algunos conceptos fitosanitarios: <i>aislamiento, detección, cuarentena</i>
<b>3</b>	Calidad fitosanitaria de la semilla
<b>4</b>	Inspección en campo
<b>5</b>	Detección en laboratorio
<b>6</b>	Recepción, inspección visual y preparación de muestra de trabajo
<b>7</b>	Detección de teliosporas de <i>Tilletia indica</i> en granos de trigo
<b>8</b>	Prueba de germinación en papel y sustrato de suelo
<b>9</b>	Detección de bacteria y virus por técnica de Elisa
<b>10</b>	Prueba de papel secante y congelación
<b>11</b>	Prueba de lavado y dilución para la detección de bacterias en semilla
<b>12</b>	Como garantizar el intercambio seguro de semilla alrededor del mundo

**Laboratorio de Sanidad de Semilla del CIMMYT:  
Promoviendo el intercambio seguro de maíz y  
trigo por todo el mundo**

Monica Mezzalama  
Noemí Valencia  
Gabriela Juárez

# Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional (CGIAR)



# **CIMMYT:**

**Organismo internacional, sin fines de lucro, que se dedica a la investigación científica y la capacitación relacionadas con el maíz y el trigo.**

## **➤ Mejoramiento genético**

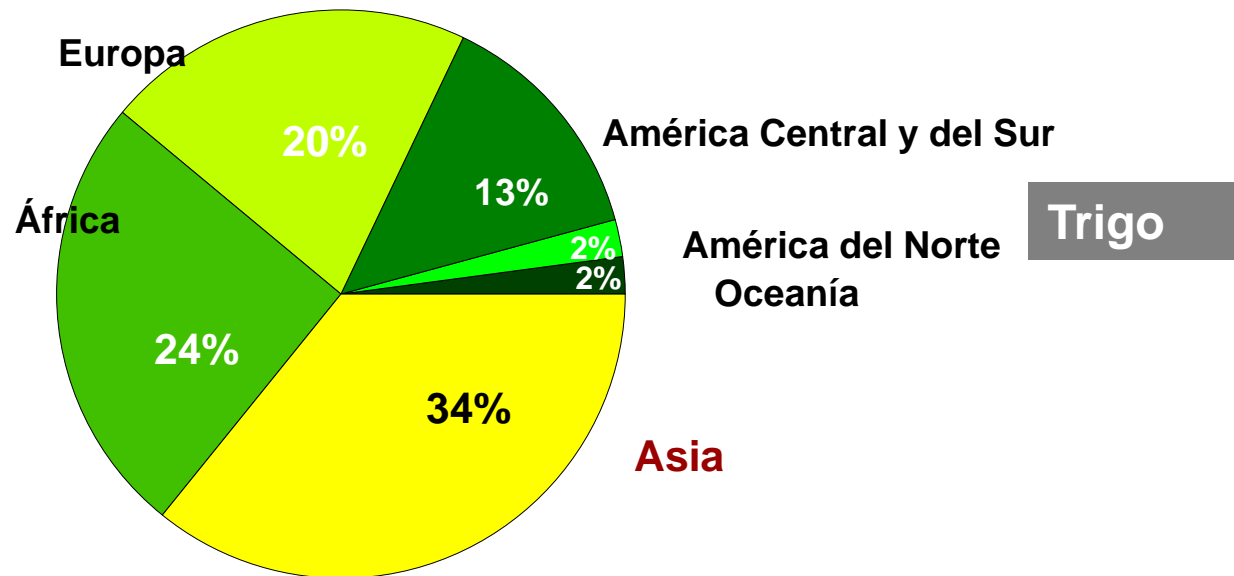
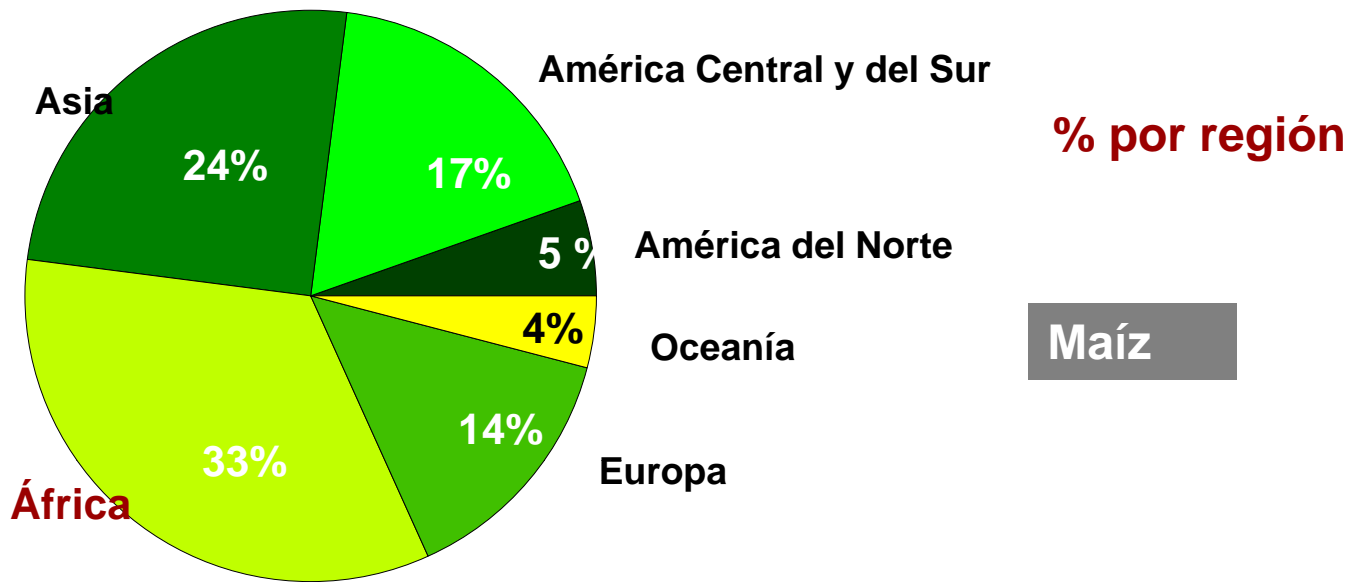
- ▶ Una de las mas grandes redes internacionales de mejoramiento de maíz y trigo
- ▶ Una de las mas grandes redes de distribución gratuita de semilla e información en el marco del Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (TIRFAA) y acompañado por el acuerdo de Transferencia de Material (SMTA)

## **➤ Conservación de los recursos genéticos**

- ▶ la mayor colección mundial de maíz y trigo
- ▶ adquisiciones conservadas en fideicomiso para la humanidad en virtud de los acuerdos con la FAO y el ITPGRFA

## **➤ Ciencias sociales, enseñanza y la investigación de manejo de recursos naturales**

## **➤ Capacitación**



## % por sector

MAÍZ (Ensayos internacionales y variados envíos, no. de colecciones)				
Sector	EDUCATIVO	GUBERNAMENTAL	PRIVADO	TOTAL
	%	%	%	%
TOTAL	<b>23.9</b>	<b>51.2</b>	<b>24.9</b>	<b>100.0</b>

CEREALES DE GRANO PEQUEÑO (Viveros internacionales y variados envíos; no. de colecciones)				
Sector	EDUCATIVO	GUBERNAMENTAL	PRIVADO	TOTAL
	%	%	%	%
TOTAL	<b>25.4</b>	<b>64.0</b>	<b>10.6</b>	<b>100.0</b>

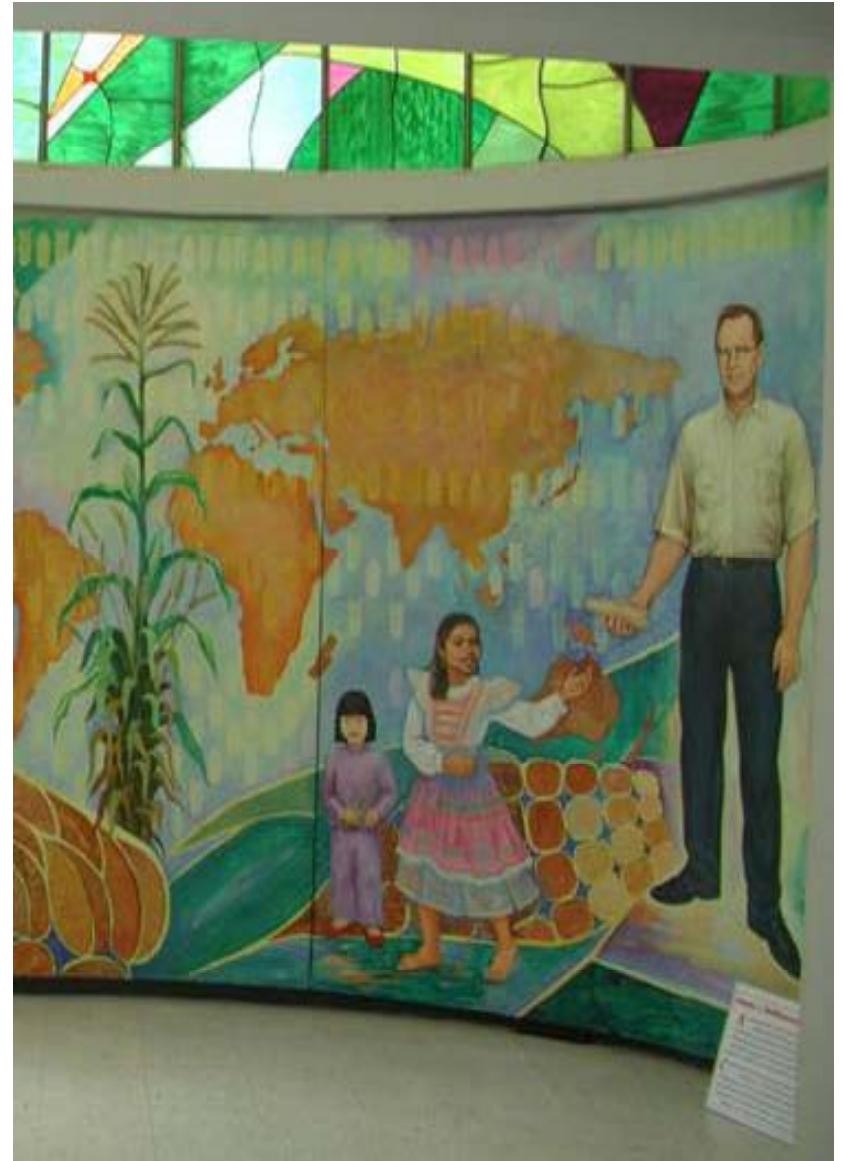


# CIMMYT

## Banco de germoplasma

### Wellhausen-Anderson

<b>Trigo harinero</b>	<b>85,428</b>
<b>Maíz</b>	<b>24,943</b>
<b>Triticale</b>	<b>17,871</b>
<b>Trigo duro</b>	<b>16,436</b>
<b>Cebada</b>	<b>14,528</b>
<b>Triticeae spp.</b>	<b>9,721</b>
<b>Centeno</b>	<b>747</b>
<b>TOTAL</b>	<b>169,770</b>



# ¿Cómo prevenir la distribución de los agentes patógenos transmitidos por medio de la semilla?

## ➤ A nivel internacional y nacional

- El Certificado Fitosanitario Internacional (aprobado y ratificado por 165 países que adhieren a la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, FAO, 1997) como reconocimiento oficial de la condición de las semillas por las normativas fitosanitarias nacionales

## ➤ A nivel de CGIAR

- Directrices para el movimiento seguro de germoplasma

## ➤ A nivel del centro

- Laboratorios de sanidad de la semilla controlan y aseguran el cumplimiento de las normas fitosanitarias internacionales y nacionales de los materiales que son distribuidos cada año.

## **Buenas prácticas observadas por los programas de distribución y de mejoramiento de cultivos de los centros de CGIAR.**



- ▶ **Inspección física y pruebas de laboratorio de todo el germoplasma importado y exportado**
- ▶ **Parcelas separadas, designadas para el cultivo de introducciones de semillas**
- ▶ **Inspecciones de campo de las introducciones y multiplicaciones de semillas**
- ▶ **Análisis realizados por las unidades de la sanidad de semilla de los centros**

<b>Desafíos</b>	<b>Recursos en el CIMMYT</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mantener actualizados los procedimientos de análisis de semilla</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Laboratorio de la Sanidad de Semilla</b></li> <li>➤ Actualización de las técnicas basadas en publicaciones nacionales e internacionales</li> <li>➤ Aplicación de las normas fitosanitarias mexicanas e internacionales.</li> <li>➤ Recursos humanos calificados y altamente capacitados</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Producción de un semilla sana</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Gestión de estaciones experimentales y parcelas de multiplicación</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Libre de OMG no intencionales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mejores y más certificadas prácticas en el banco de germoplasma y de las normas de la introducción de semillas</li> <li>➤ Detección de OMG</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Relación con las autoridades mexicanas de la fitosanitaria</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Relación <i>histórica</i>, de confianza y conocimiento mutuo</li> </ul>



# Laboratorio de Sanidad de Semilla

- Aprobado por las autoridades mexicanas de fitosanitaria (SAGARPA) desde 1998
- Acreditado con la norma ISO/IEC NMX-EC-17025-IMNC-2005 desde abril 2007

Estas recomendaciones jurídicas proporcionan:

- Garantías para el país anfitrión
- Garantías para nuestros colaboradores
- Control de la calidad de nuestros procedimientos a través de procesos obligatorios de auditorías internas y externas.



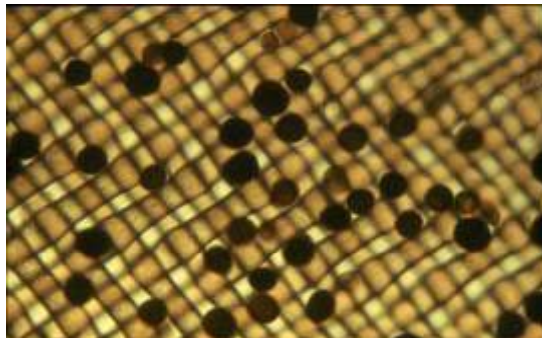
# Pruebas de laboratorio



Examen visual de las semillas



Incubación



Lavado de semillas y filtración



Germinación



Serología

- **Carbones (*Tilletia* spp., *Ustilago* spp.)**
- ***Magnaporthe oryzae* (tizón del trigo)**
- **BSMV, WSMV**
- ***Pantoea stewartii***
- ***Fusarium* spp.**



# Certificación adicional contra carbon parcial del trigo

- ▶ Multiplicación de semillas en una zona libre de KB
- ▶ Separación de las áreas de almacenamiento y preparación
- ▶ Desinfestación de las áreas de almacenamiento y empaque
- ▶ Lavado de las superficies de las semillas con solución de cloro al 1,2%

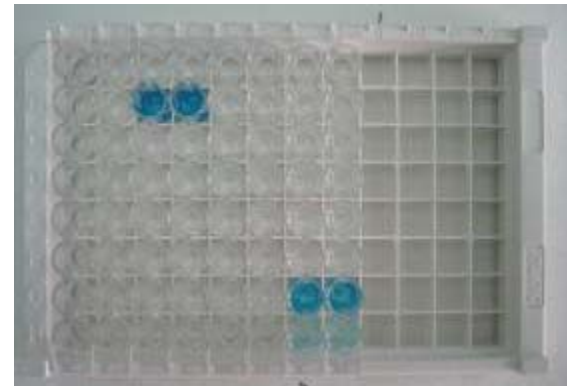


Mexicali 06/07



# Presencia no intencional de OMG en la semilla de maíz

- Pruebas de todas las instrucciones de maíz de todos los países GM
- Mejores prácticas implementadas para el banco de genes y las operaciones del programa de reproducción
- Detección de ELISA
- Detección de PCR



# 7,141 muestras de semilla analizadas en 2009

## Semilla de inroduccion:

**Muestras de trigo 664 (10%)**

**Muestras de maíz 195 (2%)**

1 interceptación de *Claviceps purpurea* and 1 interceptación de *Ustilago nuda*

~ 60% *Alternaria* spp.

~ 8% *Aspergillus* spp.

~ 8-20% *Fusarium* spp.

## Semilla para distribucion:

**Muestras de trigo 4,327 (61%)**

**Muestras de maíz 1,860 (27%)**

▪ Detección esporádica de BSMV, WSMV de trigo

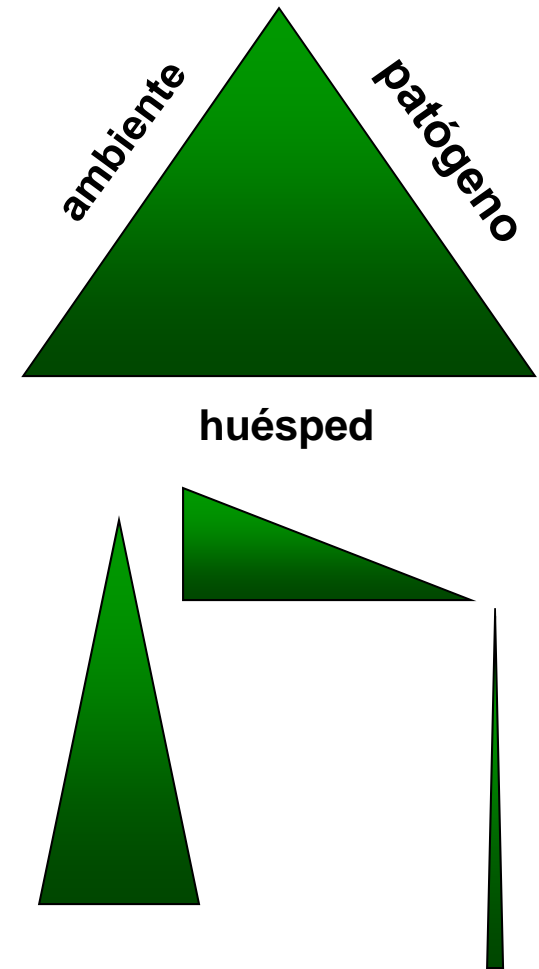
▪ *F. verticilloides* de maíz

**Algunos conceptos fitosanitarios:**  
***Aislamiento, Detección, Cuarentena***

- Cuando un patógeno constituye un riesgo fitosanitario y se considera de importancia cuarentenaria?
- Como se aplican las cuarentenas
- Métodos de detección
- Ejemplos de manejo de patógenos cuarentenados en México:
  - *Tilletia controversa*, carbón del enanismo del trigo
  - *Tilletia indica*, carbón parcial del trigo

## Un patógeno se considera de importancia cuarentenaria:

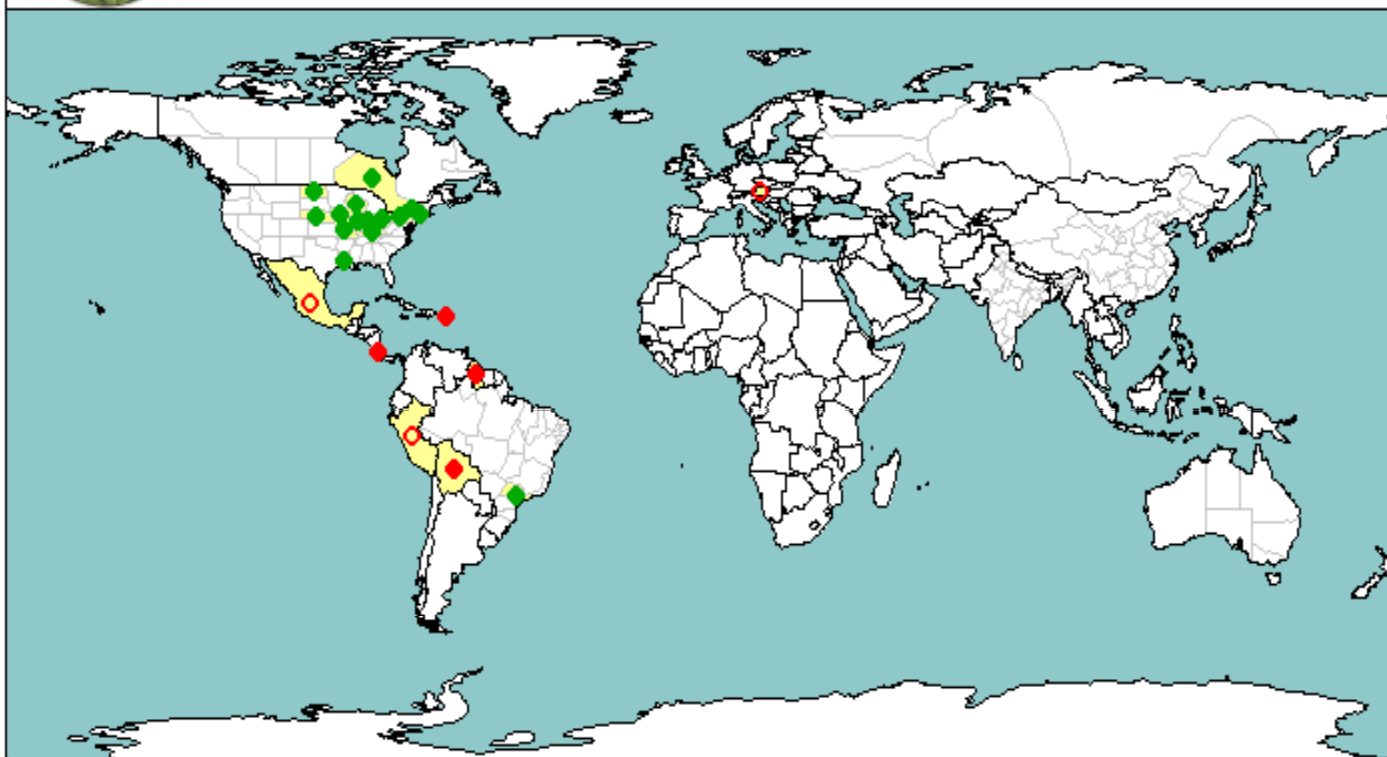
- Cuando no se señale su presencia o la presencia de cepas exóticas en un cierto país, o cuando se a presente en un país pero no sea distribuido y sea sujeto a medidas fitosanitarias de contención o erradicación
- Cuando es conocido como causante de perdidas económicas en otros países; si tiene un ciclo biológico o una interacción huésped/patógeno que potencialmente pueda causar daño económico en condiciones particulares que favorezcan su desarrollo
- Cuando, aunque ausente en un país, tenga un nicho ecológico similar al organismo huésped en un cierto país





Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe

# Pantoea stewartii



National record

Subnational record



Present



Present



Present only in some areas



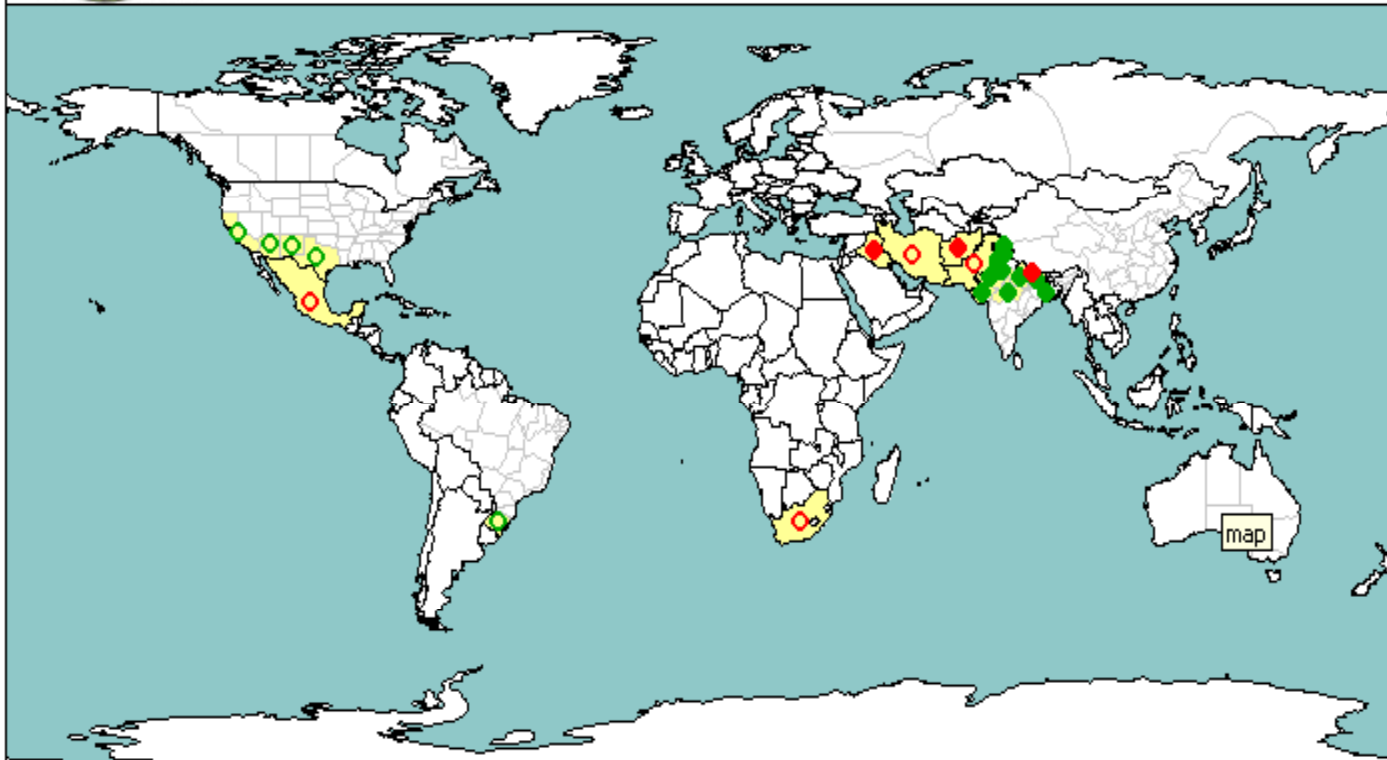
Present only in some areas

2006-09-19



Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe

# Tilletia indica



National record

Subnational record



Present



Present



Present only in some areas



Present only in some areas

2006-09-19

En cada país hay instituciones gubernamentales que se encargan de llevar a cabo las actividades de servicio fitosanitario y cuarentena, en México:

The screenshot shows the website for the Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica). The page features a header with the Senasica logo and navigation links. A main content area displays several news items, including a large image of a citrus fruit with a pest. Below this, there are sections for 'TRÁMITES Y SERVICIOS' (Services and Procedures), 'PROGRAMAS OPERATIVOS' (Operative Programs), and 'SÍGUENOS A TRAVÉS DE' (Follow us on). The page also includes social media icons and a footer with the URL <http://www.senasica.gob.mx/?id=1013>.

**Concluye capacitación**  
Sistema de Reducción de Riesgos de Contaminantes

**Monitoreo Sanitario**  
Chiapas libre de la enfermedad Aujeszky

**Para viajar a México...**  
con tu mascota, consulta los requisitos.

**Huanglongbing de los cítricos**  
situación actual

**Si piensas traer a México**  
Jamones y quesos. Infórmate!

**TRÁMITES Y SERVICIOS**

- Consulta los requisitos para la exportación
- Hoja de requisitos fitosanitarios
- Hoja de requisitos zoonosanitarios
- Pago electrónico de Derechos, Productos y Aprovechamientos (DPA's)
- Aprobación
- Autorización
- Exportación
- Importación
- Movilización

**PROGRAMAS OPERATIVOS**

- Apoyo a la infraestructura TIF
- Apoyo al sacrificio TIF
- Laboratorios de referencia y diagnóstico
- Plantas productoras de insectos benéficos
- Proyectos de Sanidad y de Inocuidad Federalizados

**SÍGUENOS A TRAVÉS DE**

**GOBIERNO FEDERAL MÉXICO 2010**

Portal de Obligaciones de Transparencia

El Gobierno Federal trabajamos con tu ayuda fortalecemos la fe pública

**DENUNCIA**  
los actos de corrupción  
01800FUNCION

**VIVE MÉXICO**

Presupuesto Ciudadano 2011

Internet | Protected Mode: On



- Las organizaciones fitosanitarias gubernamentales emiten LEYES y NORMAS que regulan la entrada de los productos vegetales y que advierten cuales son los patógenos “cuarentenados” en un cierto país
- **Cuarentena**= *“restricción a la movilización..... para prevenir o retardar la introducción de plagas en áreas donde no se sabe que existan.....podrán ser exteriores... o interiores”* (Ley Federal de Sanidad Vegetal, 5 de enero 1994, México)
- México tiene normas “FITO-xx-yyyy” que se encuentran enlistadas en el sitio web de SENASICA



**International Plant Protection Convention**  
Protecting the world's plant resources from pests

   
Búsqueda avanzada

- [Página principal](#)
- [La CIPF](#)
- [Actividades centrales de la CIPF](#)
- [Países](#)
- [Asociados](#)
- [Calendario](#)
- [Novedades](#)
- [Convocatorias](#)

## Proteger de las plagas los recursos vegetales mundiales



CIPF - la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria - es un acuerdo internacional de sanidad de las plantas que cuenta a la fecha con **177 signatarios**. Su finalidad es proteger las plantas cultivadas y las plantas silvestres previniendo la introducción y la propagación de plagas. La **Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación** proporciona la Secretaría de la CIPF. [MÁS INFORMACIÓN](#)



Crusader bug - Mictis profana - Alice Ames, DPI, Victoria.

### Quiénes somos

- El grupo
- Nuestras actividades
- Procedimiento
- Texto de la Convención
- [MÁS](#)

### Actividades centrales

- Gobernanza
- Comisión (CMF)
- Establecimiento de normas
- Normas aprobadas
- Intercambio de información
- Creación de capacidad
- Solución de diferencias
- [MÁS](#)

### Países

- Información presentada por todos los países
- Lista de contactos
- Legislación
- Informes sobre plagas
- Información presentada por países específicos

Escriba la primera letra del nombre del país:

O haga clic en una región:



### Lo último

- Temas de actualidad
- Noticias
- Calendario
- Publicaciones

**08-11-2010**  
Regional workshops on draft ISPMs support participation in the standards setting process

**04-11-2010**  
WTO Committee on Sanitary and Phytosanitary Measures turns spotlight on major new standards under development and the IPPC budget deficit

**03-11-2010**  
The IPPC Secretariat welcomes Kazakhstan as a new contracting party of the Convention

**20-10-2010**  
The IPPC partners to preserve biodiversity

**15-10-2010**  
IPPC strategizing for the next 10 years

[MÁS](#)

# Certificado Fitosanitario Internacional

- Es un documento que declara la condición fitosanitaria de la semilla o del material vegetal que se pretende movilizar;
- Es emitido por las autoridades fitosanitarias del país exportador y dirigido a las autoridades fitosanitarias del país importador;
- En este documento se debe especificar:
  - Cantidad, tipo de material y su nombre científico; lugar de origen; lugar de procedencia; si el material lleva tratamiento; declaraciones adicionales solicitadas por el país importador; la condición fitosanitaria del material y si el material responde a los requerimientos fitosanitarios del país importador;
  - Debe llevar firma y sello del oficial fitosanitario

Sin embargo según la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria)

## **ARTÍCULO VII**

### **Requisitos relativos a la importación**

1. Con el fin de prevenir la introducción y/o la diseminación de plagas reglamentadas en sus respectivos territorios, las partes contratantes tendrán autoridad soberana para reglamentar, de conformidad con los acuerdos internacionales aplicables, la entrada de plantas, productos vegetales y otros artículos reglamentados y, a este efecto, pueden:
  
2. Con el fin de minimizar la interferencia en el comercio internacional, las partes contratantes, en el ejercicio de su autoridad con arreglo a lo dispuesto en el párrafo 1 de este Artículo, se comprometen a proceder de acuerdo con las siguientes condiciones:

# **Calidad Fitosanitaria de la Semilla**

# Introducción

- Definición de calidad de semilla
- Importancia
- Componentes

## ➤ Calidad fitosanitaria

- **Detección**  
e
- **Identificación**  
de los patógenos





**Semilla de alta calidad: la base de una agricultura exitosa**



## **La calidad de la semilla empieza en el campo**



- Selección del área de producción y de lotes.
- Selección de agricultores.
- Preparación de la semilla y la siembra.
- Método de siembra, floración, control del polen.
- Manejo de la fertilidad del suelo.
- Control de insectos, malezas y patógenos.
- Eliminación de plantas atípicas.
- Aislamiento.
- Cosechar cuando ha alcanzado la madurez fisiológica.
- Protegerla de factores bióticos y abióticos.
- Cercanía a zonas de comercialización.



# Mantener la calidad después de la cosecha



## Durante:

### ➤ acondicionamiento

- Secado
- Limpieza
- Evaluación del tamaño del grano
- Tratamiento
- Empaque

### ➤ almacenamiento

- Preservación de la calidad fisiológica
- Control de temperatura y humedad
- Resistencia a insectos y patógenos



# Calidad de la semilla

3 categorías

- **GENETICA**  
Especies y pureza de la variedad, pureza analítica, uniformidad, peso de la semilla.
- **FISIOLOGICA (potencial)**  
germinación, vigor, contenido de humedad, emergencia y uniformidad en el campo, periodo de almacenamiento.
- **FITOSANITARIA**  
contaminación por malezas, **sanidad**, contaminación por hongos de almacenamiento, contaminación por insectos y ácaros.

# Viabilidad

- Del punto de vista fisiológico =
  - los eventos que ocurren del momento de absorción del agua hasta la emisión de la radícula
- ISTA =
  - la propiedad que permite a la semilla, habiendo eliminado la dormancia, de germinar en condiciones favorables y dar origen a una planta normal
- Se expresa como:
  - % de germinación
  - % de plántulas normales y anormales



ISTA= International Seed Testing Association



**Plántulas normales**



**Semilla en germinación**

# Vigor

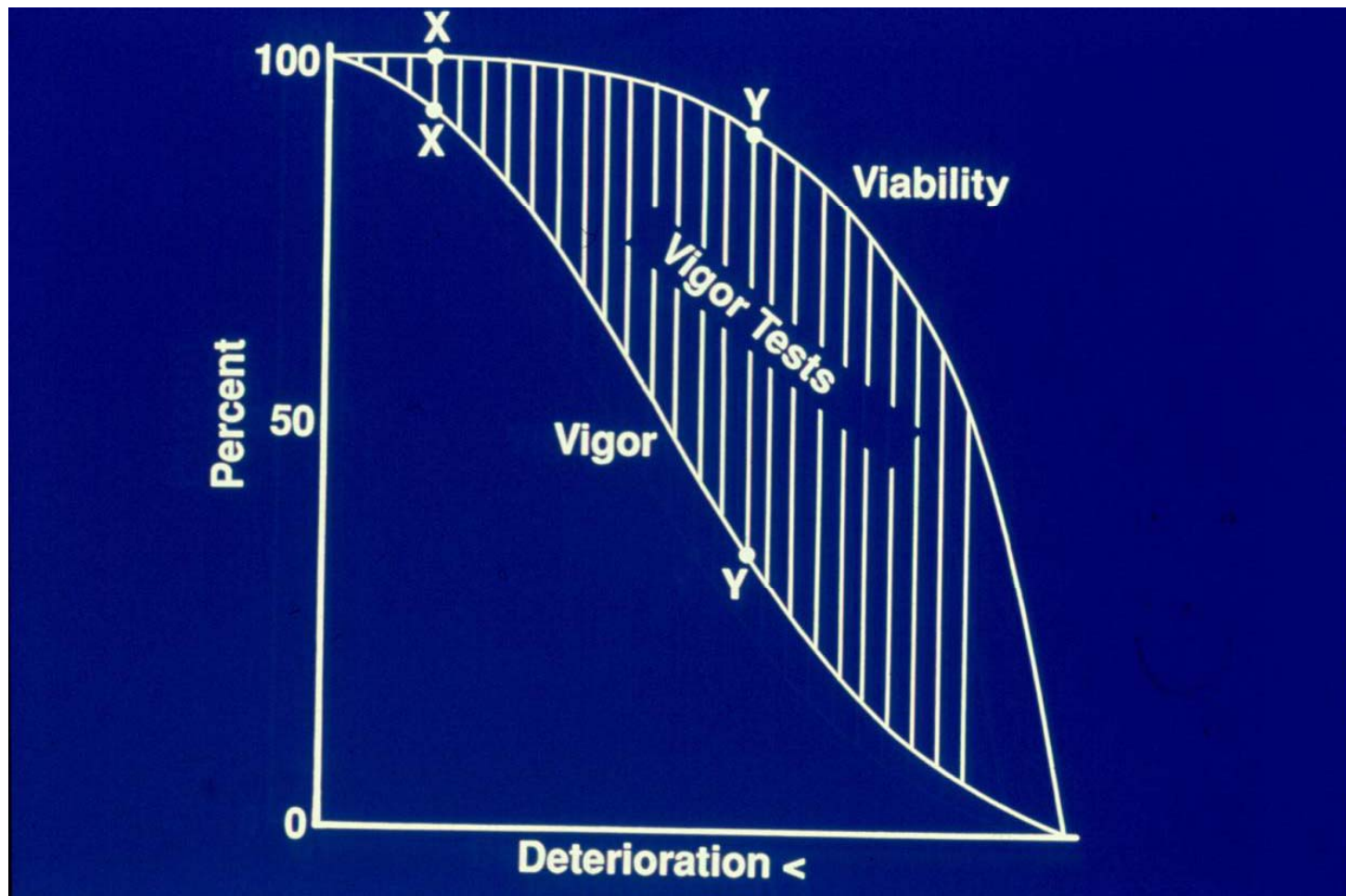
- ISTA =
  - propiedad que determina el potencial de la semilla para obtener una rápida y uniforme germinación, buena emergencia en campo, capacidad de dar un buen establecimiento del cultivo debajo de condiciones de campo diferentes y a veces no óptimas y que tenga buena capacidad de conservación en almacenamiento
- Alta viabilidad no necesariamente significa buen vigor
- El vigor no es una sola propiedad medible de la semilla

## Factores que pueden afectar el nivel de vigor:

- Constitución genética
- Condiciones ambientales y nutrición de la planta madre
- Nivel de madurez a la cosecha
- Integridad mecánica
- Patógenos

## Tipos de Análisis:

- Directos: reproducen el estrés
- Indirectos: miden propiedades fisiológicas de la semilla



# Análisis y medición de los componentes de calidad de la semilla

- Muestreo
- Protocolos estandarizados (ISTA, AOSA, ISSS, NSHS, DSHC, etc.).
- Métodos basados en experimentación científica rigurosa y dinámica.
- Laboratorios especializados y reconocidos oficialmente en cada país para realizar análisis.





# Calidad fitosanitaria

**semilla libre de patógenos**



# Patógenos asociados con la semilla

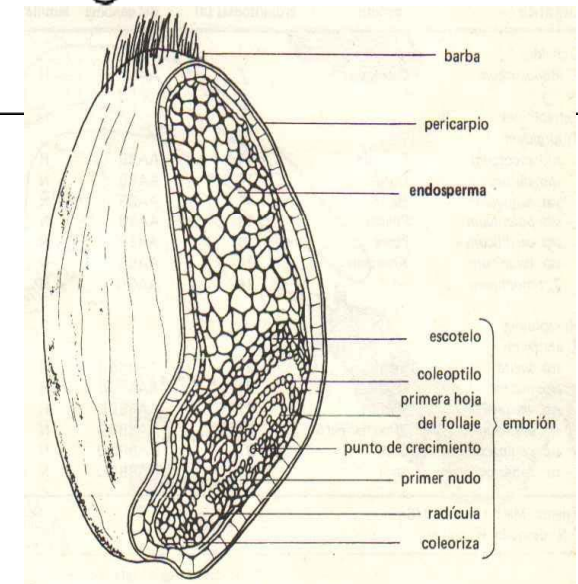
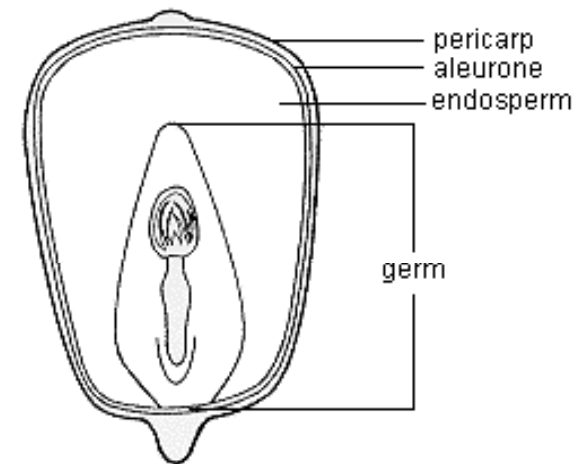
## Definiciones:

### Patógenos llevados por la semilla

- Patógenos que se detectan sobre, dentro o con la semilla.
- No son necesariamente transmitidos a la planta.

### Patógenos transmitidos por la semilla

- La semilla es el medio de transmisión del patógeno a las plantas que nacen de semilla infectada.



# Patógenos llevados por la semilla

## ➤ Hongos



## ➤ Virus



## ➤ Nematodos



## ➤ Bacterias



## Enfermedades causadas:

- Pudrición de la semilla antes de germinar



## Muerte de las plántulas, tizón, marchitez





**Carbones**



**Decoloración del grano**



## Manchas foliares, rayado, amarillamiento, tizones



## Procedimientos para inspección de semillas

- Inspección en el campo de los lotes de multiplicación
- Análisis de la semilla en laboratorio



# Conclusión

- La calidad de la semilla depende de una combinación de complicados factores fisiológicos, morfológicos y ambientales que interactúan entre sí.
- Algunos aspectos todavía son desconocidos.
- La calidad de la semilla causa muchos impactos: abundancia o hambruna, ganancias o pérdidas.
- El lema “*primero la semilla*” debería cambiar a “*primero y siempre, semilla de calidad*” (Hamptom, 2002).



- En muchas ocasiones las medidas de cuarentena o fitosanitarias son obsoletas, ineficaces, sin fundamento científico
  - Ejemplo: *Burkholderia andropogonis* en maíz
- Por esta razón en el CIMMYT tenemos una vigilancia estricta, basada en sustento científico sobre varios patógenos que no aparecen en las normas fitosanitarias y que podrían llegar a representar un riesgo fitosanitario
  - Ejemplo *Magnaporthe oryzae* en trigo

# **Detección en Laboratorio**

# PROPÓSITOS

	<b>PRINCIPIO</b>	<b>ACCIÓN</b>	<b>PROPÓSITO</b>	<b>ANÁLISIS DISPONIBLES</b>	<b>LIMITANTES</b>
1	Exclusión del inóculo	Analizar toda la semilla antes de liberar	Cuarentena	Crecimiento en ambiente protegido	Valido solo para semilla viva y para siembra
2	Exclusión del inóculo	Muestreo	Cuarentena	Incubación en agar o papel Crecimiento Serológicos Moleculares	Considerar valido el muestreo
3	Sanitación: erradicación del o reducción inóculo	Muestreo Establecimiento de tolerancias	Cuarentena en algunos casos Semilla para exportación Semilla de alto valor para siembra	Incubación en agar o papel Crecimiento Serológicos Moleculares	Considerar valido el muestreo
4	Sanitación: erradicación controlada del inóculo	Muestro	Evaluación de la eficacia de tratamientos a la semilla	Incubación en agar o papel Crecimiento	Considerar valido el muestreo
5	Control de calidad de un producto	Muestreo	Evaluación de grano para consumo	Incubación Serología	Considerar valido el muestreo

## **VENTAJAS:**

- Análisis de semilla permite averiguar la condición fitosanitaria de un lote de semilla
- Cuando se haya identificado un patógeno, hay que averiguar que recomendación dar para reducir la contaminación que pueda derivar del movimiento de la semilla

## **Sin embargo:**

no es dicho que un patógeno vaya a causar pérdidas de producción solo porque fue encontrado en la semilla

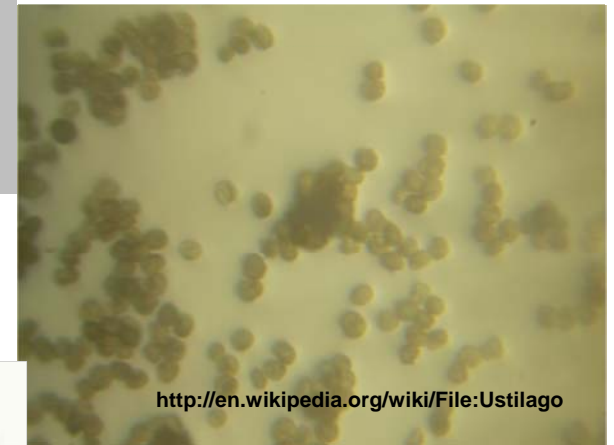
## Factores que pueden afectar el resultado de una análisis en laboratorio:

- Tamaño del lote de semilla
- Técnica de muestreo
- Muestreo en relación al nivel de acondicionamiento de la semilla
- Bajo vigor puede favorecer los patógenos
- Daño mecánico favorece la penetración patógenos
- Presencia de saprofitos
- Presencia de tratamientos químicos o físicos
- Tiempo transcurrido desde la cosecha
- Condiciones de laboratorio

# **TIPOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO:**

# 1. INSPECCIÓN DIRECTA:

- **patógenos:**
  - *con y sobre de la semilla = carbones y nematodos*
- **análisis:**
  - Inspección visual directa
  - Lavado y Filtración (*Ustilago maydis*)
  - Tinción tejidos internos (*Perosclerospora* spp.; *Ustilago* spp. )





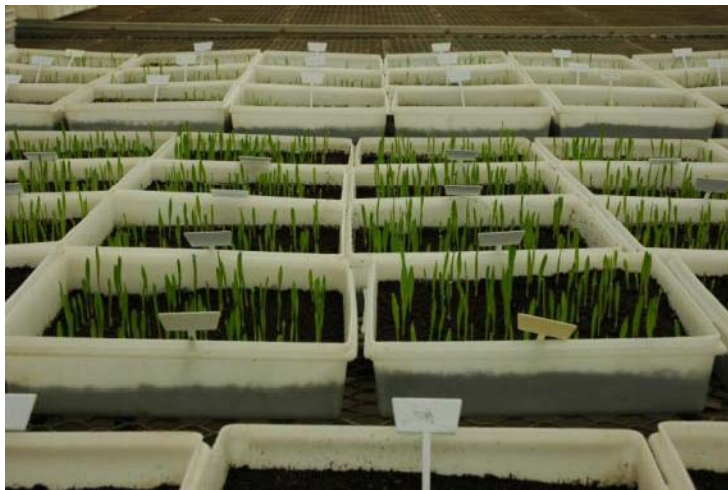
## 2. CRECIMIENTO o GERMINACIÓN:

- **patógenos:**

- *en la semilla = bacteria, virus y hongos*

- **análisis:**

- germinación en suelo o papel húmedo



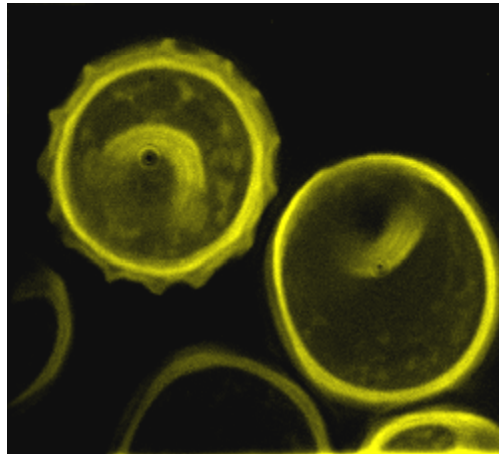
### 3. INCUBACIÓN:

- **patógenos:** *en la semilla* = hongos y bacteria
- **análisis:** Papel secante y congelamiento  
Cultivo en medio selectivo agarizado

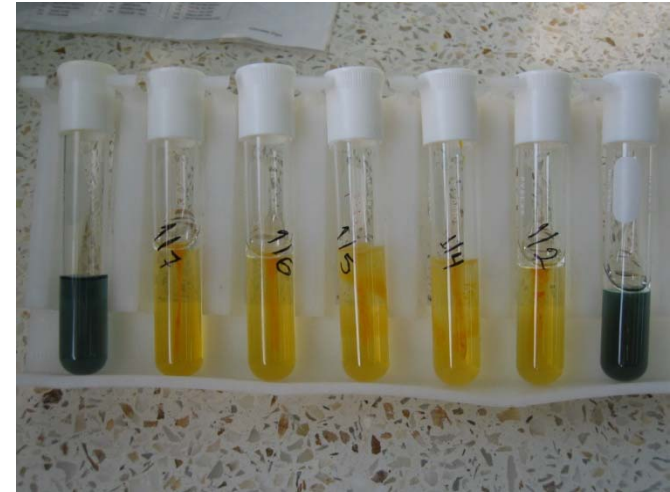
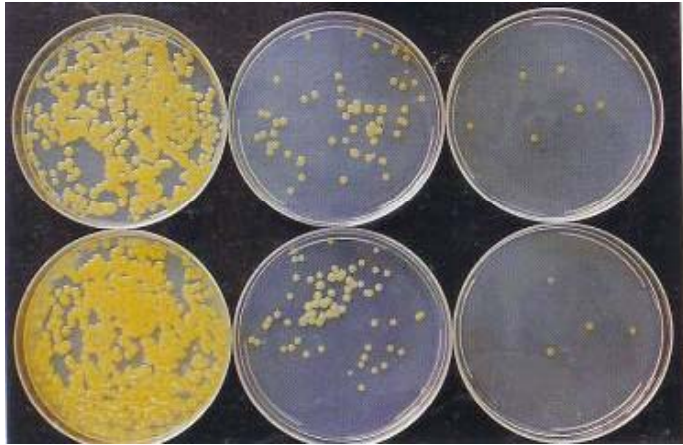


# A. Identificación por características morfológicas

## ➤ Estructuras microscópicas de hongos y nematodos

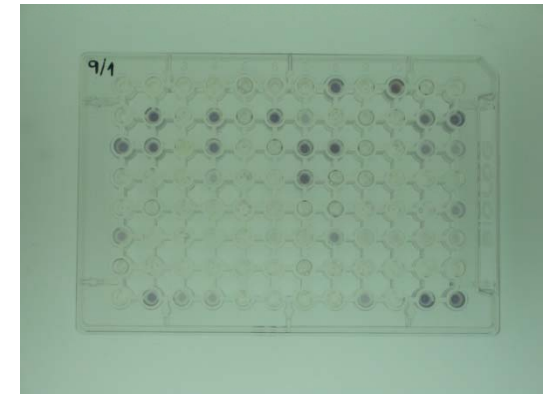


## B. Identificación por características bioquímicas



### Para la identificación de bacterias

- Tinción de Gram
- Morfología de colonias
- Crecimiento en medios selectivos
- Reacciones bioquímicas



## 4. SEROLÓGICO

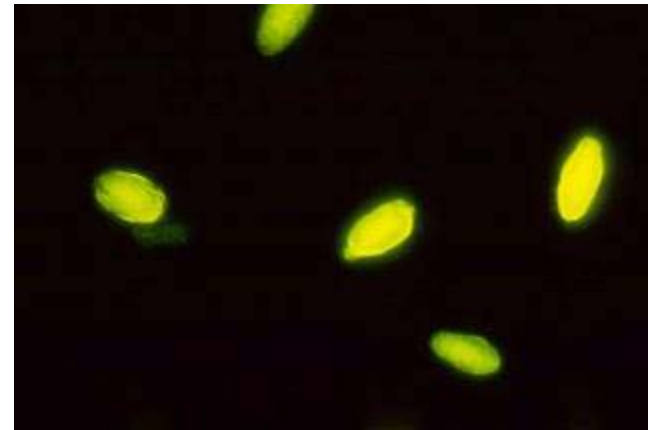
- **patógenos:** *en la semilla* = virus, bacteria, hongos

- **análisis:**

*Ensayo de inmunoabsorción de enzima ligada)*  
(ELISA)

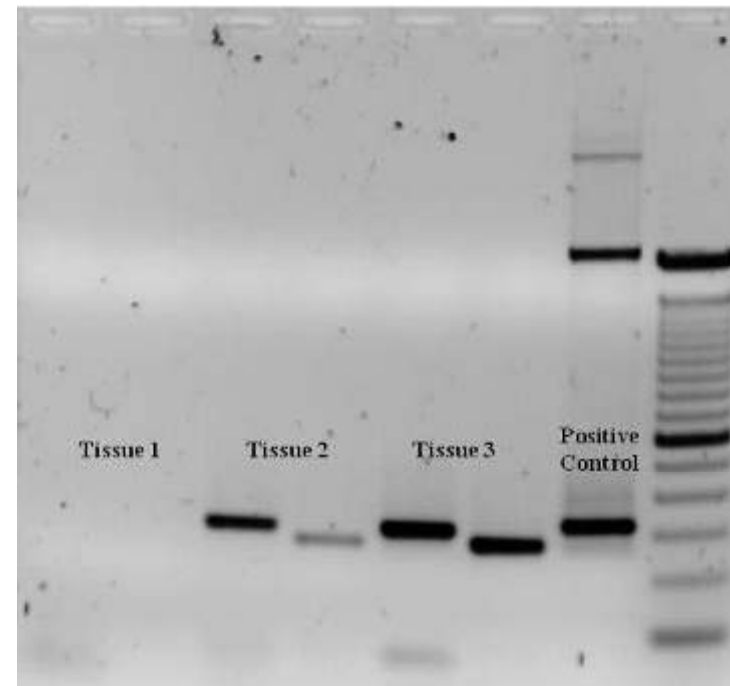
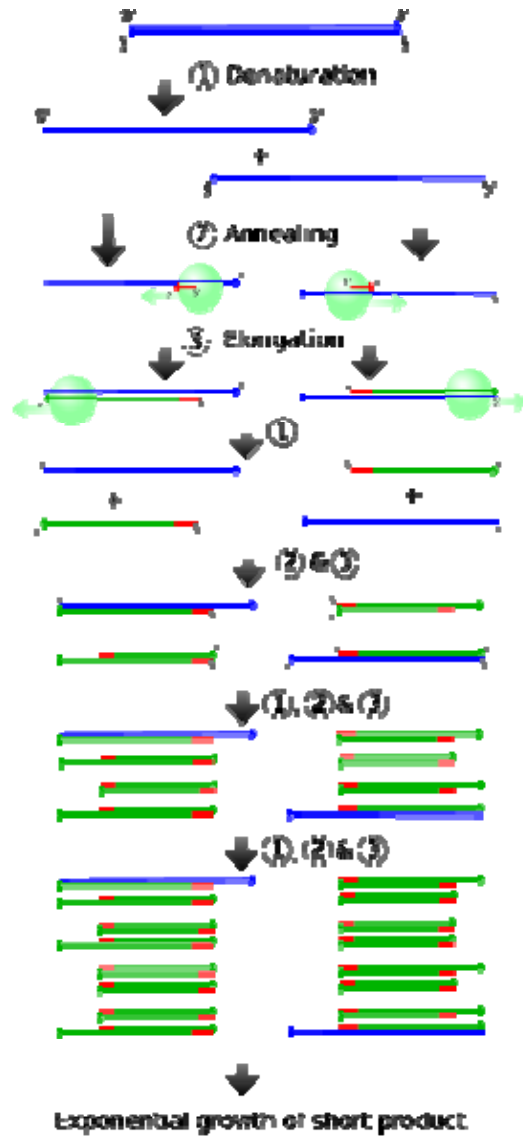
Inmunofluorescencia

Tiras de immunoimpresión



## 5. MOLECULAR

- **patógenos:** *en la semilla* = virus, bacteria, hongos
- **análisis:** PCR



**Detección de Teliosporas de *Tilletia indica*  
en granos de trigo**

*T. laevis*, *T. tritici* carbón común, apestoso





***Tilletia indica***  
carbón parcial



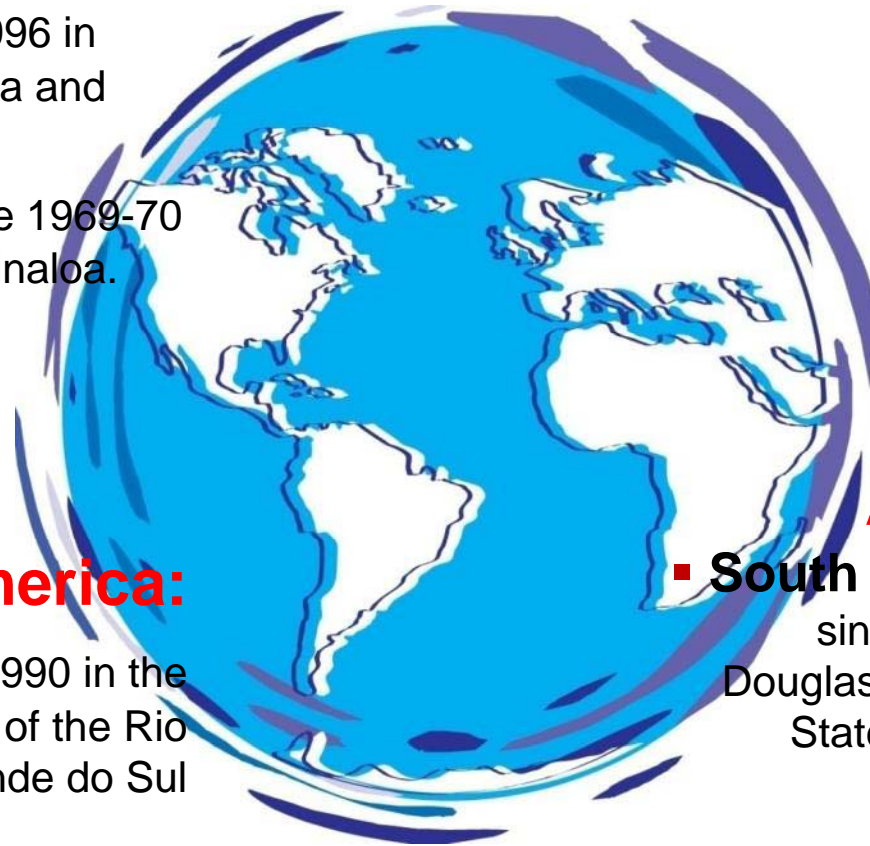
# Distribución del carbón parcial del trigo:

## North America:

- **USA** – since 1996 in Arizona, California and Texas
- **Mexico** – since 1969-70 in **Sonora** and Sinaloa.

## South America:

- **Brazil** – since 1990 in the southern part of the Rio Grande do Sul

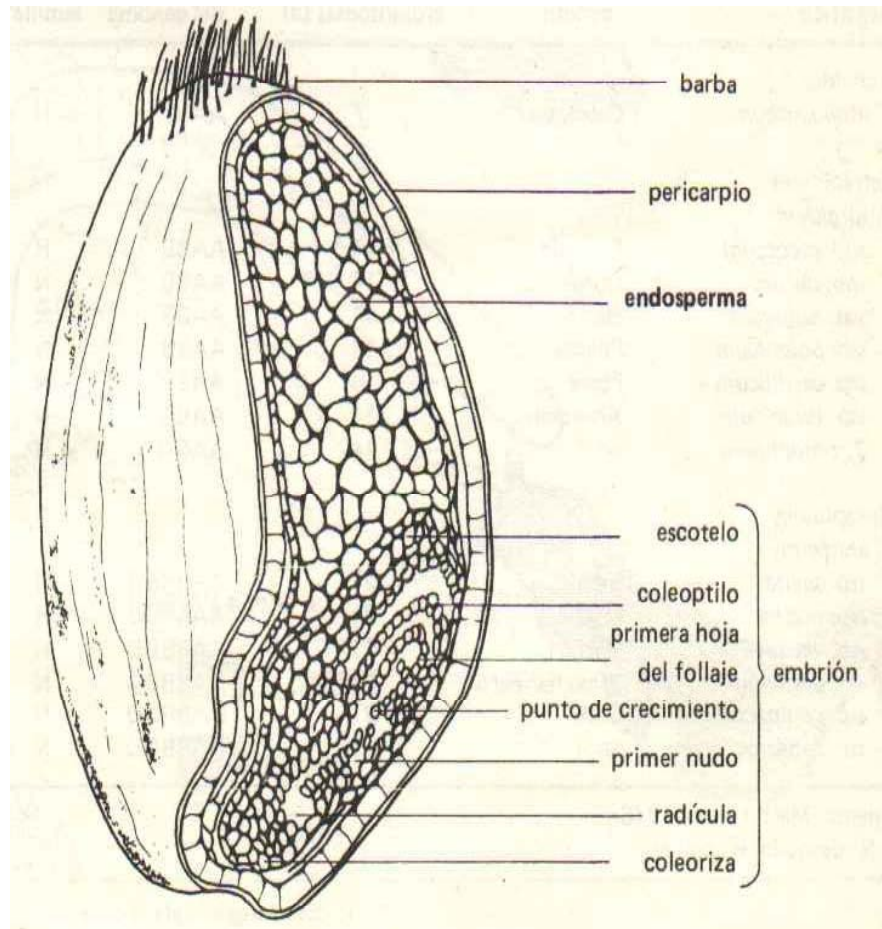


## Asia:

- **Afghanistan**
- **India**
- **Iran**
- **Iraq**
- **Nepal**
- **Pakistan**

## Africa:

- **South Africa** – since 2000 in Douglas, Northern State Province



➤ Las teliosporas que se encuentran abajo del pericarpio se liberan durante la cosecha y trilla, se depositan al suelo o en la superficie de los granos sanos

➤ Las teliosporas geminan al realizarse las condiciones necesarias durante la fase de floración de la planta de trigo

➤ La penetración del hongo se realiza a través de los estomas de las glumas, lemas y paleas

➤ La infección empieza cerca del embrión del grano extendiéndose por la sutura dejando el pericarpio parcialmente intacto; el crecimiento de las ifas es intercelular

➤ Alta humedad relativa, temperaturas moderadas y lluvia durante la floración favorecen el desarrollo de la enfermedad

## ***T. indica***: diferentes grados de infección



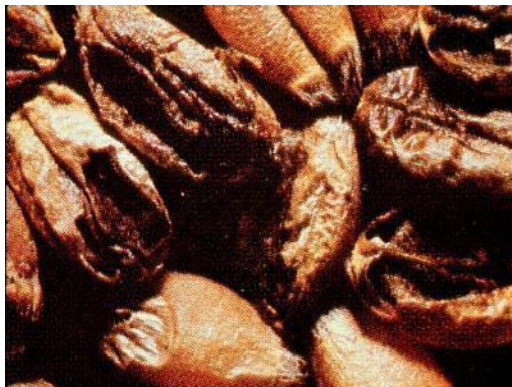
Punto de infección  
en el extremo del  
embrio



10% del grano infectado



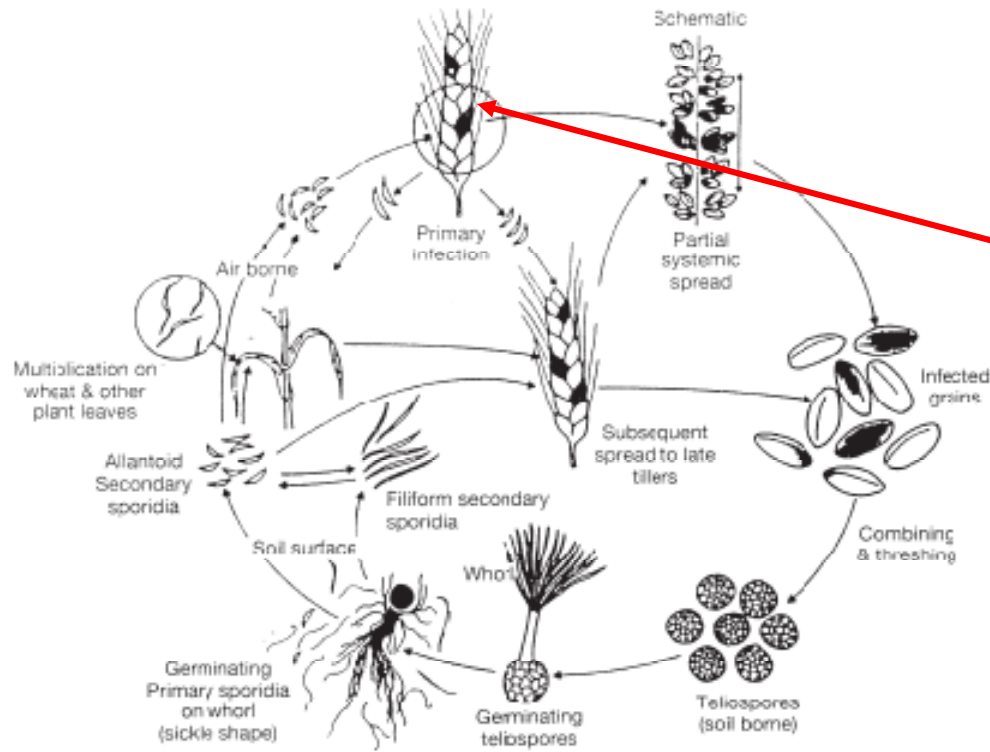
30% del grano infectado



50% del grano infectado



100% del grano infectado

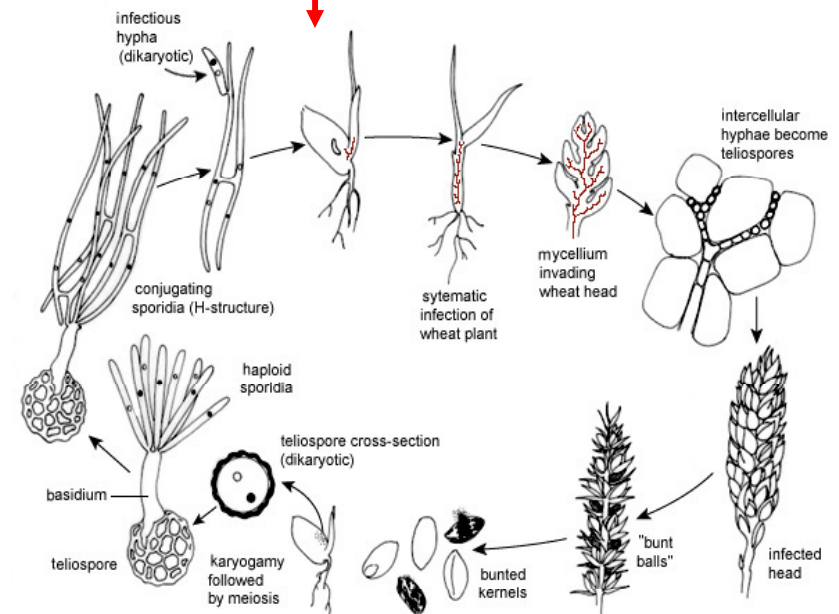


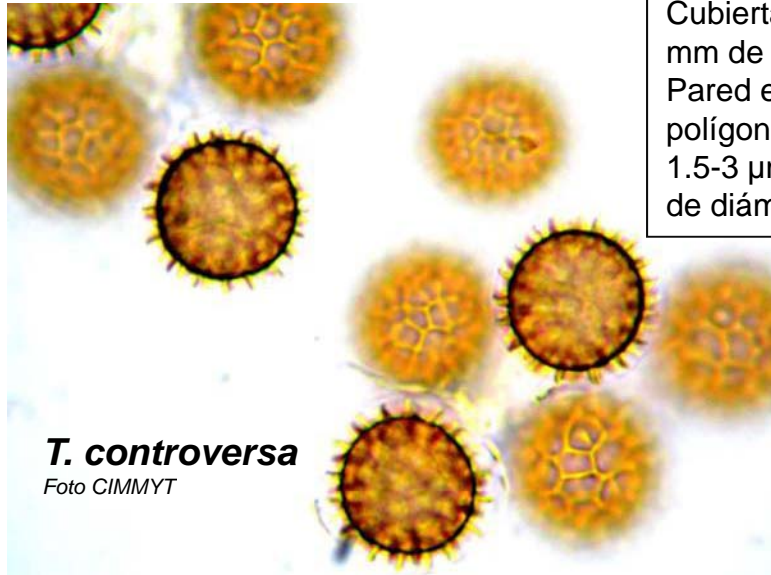
*T. Indica*: al momento de la floración

**PUNTO DE INFECCIÓN**

*T. caries*  
por debajo de la superficie del suelo

*T. controversa*  
a la superficie del suelo

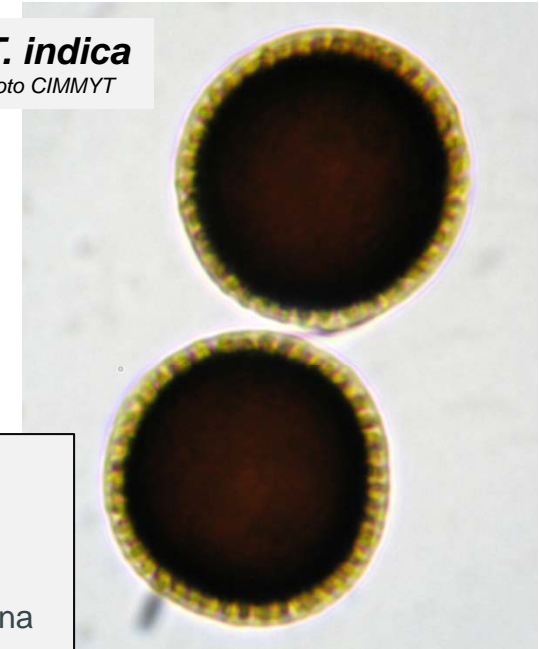




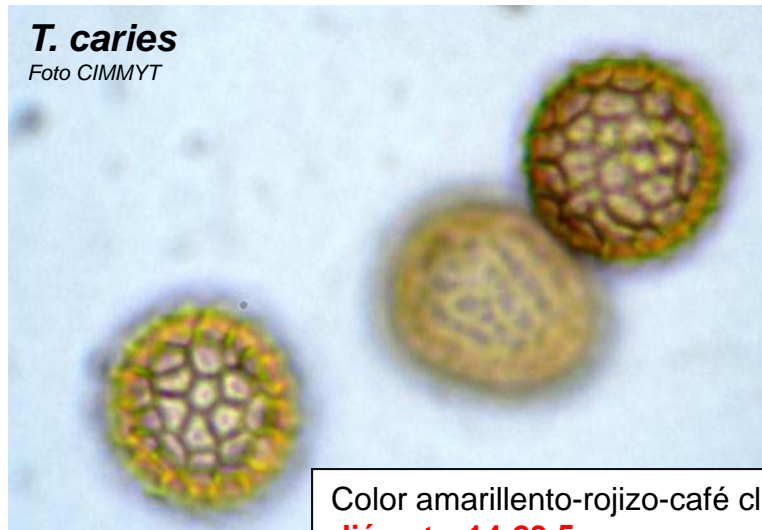
***T. controversa***  
Foto CIMMYT

Color amarillento-rojizo  
**diámetro 19-24  $\mu\text{m}$**   
Cubierta gelatinosa, 1-1.5 mm de espesor  
Pared es reticulada, polígonos regulares con 1.5-3  $\mu\text{m}$  de alto y 3.5  $\mu\text{m}$  de diámetro

***T. indica***  
Foto CIMMYT

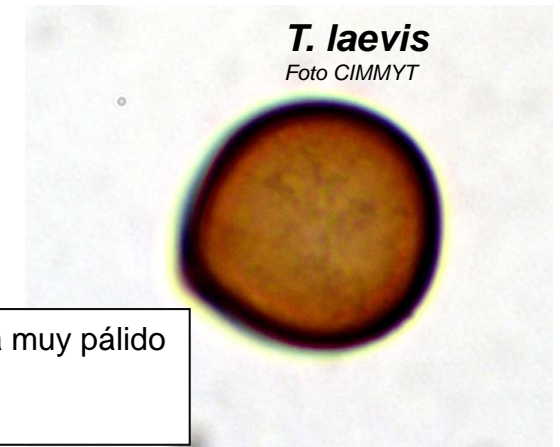


Color: café a café oscuro  
**diámetro 22-45  $\mu\text{m}$  hasta 55  $\mu\text{m}$**   
Pared en 3 capas con espinas y ornamentación en la pared más externa, cubiertas por una membrana hialina



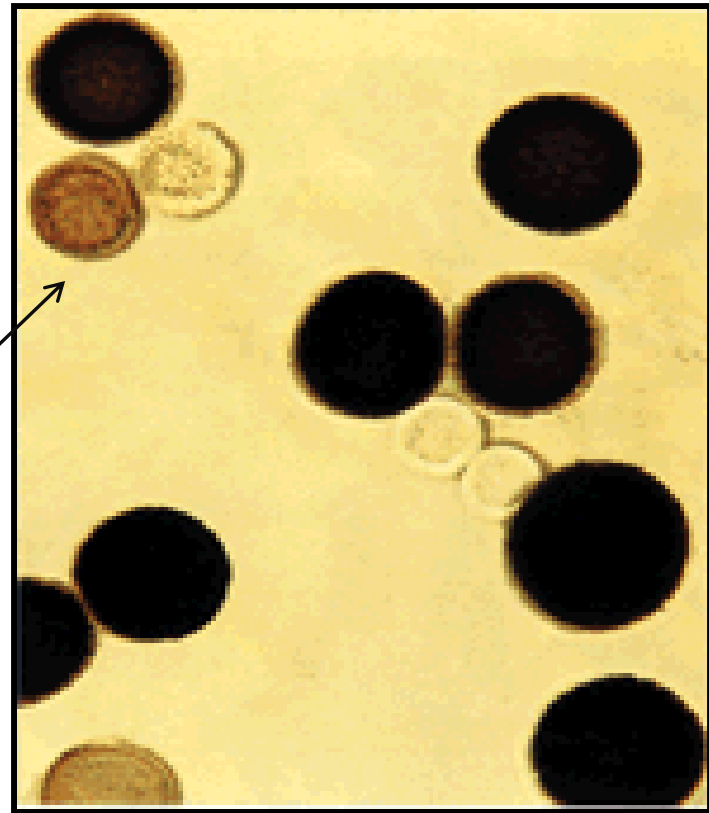
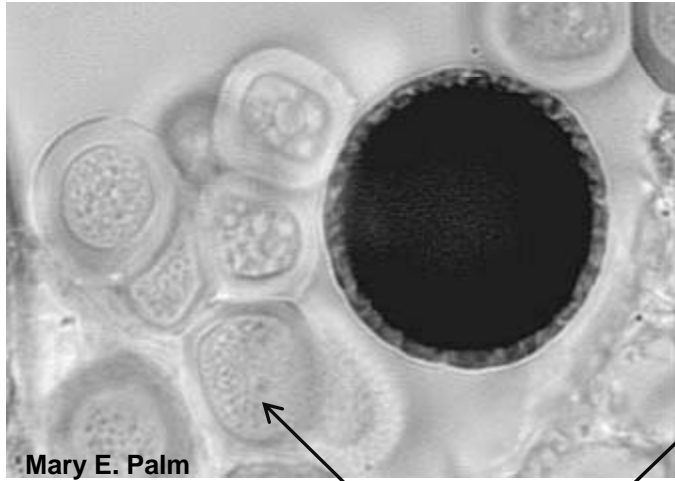
***T. caries***  
Foto CIMMYT

Color amarillento-rojizo-café claro  
**diámetro 14-23.5  $\mu\text{m}$**   
Pared con ornamentación



***T. laevis***  
Foto CIMMYT

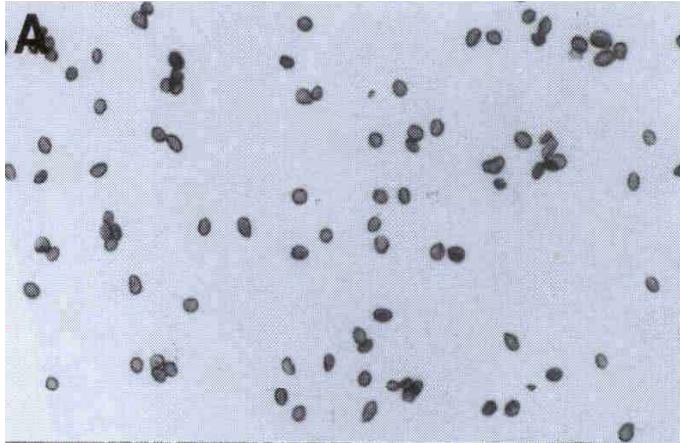
Color café claro hasta muy pálido  
**Diámetro 18-22  $\mu\text{m}$**   
Pared lisa



Esporas estériles de *T. indica* de color amarillento, esféricas y con pared lisa y muy espesa

## *Ustilago nuda*

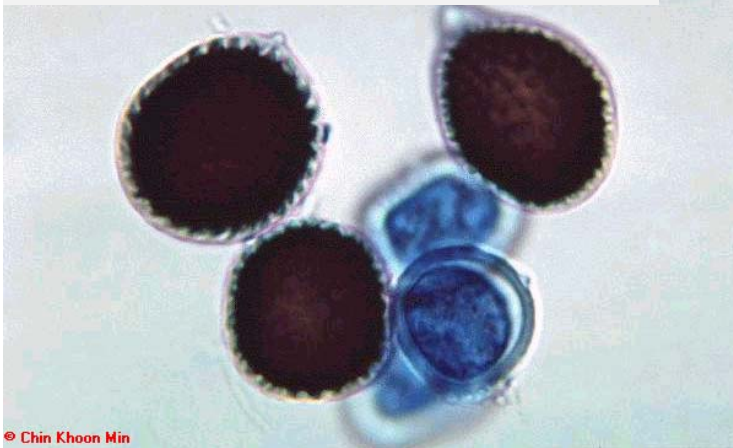
Esporas esféricas diámetro 5-9  $\mu\text{m}$   
Color amarillo pálido o café finamente reticuladas



200x

## *Tilletia barclayana*

Esporas color negro diámetro 18-23  $\mu\text{m}$   
Pared cubierta por espesas espinas

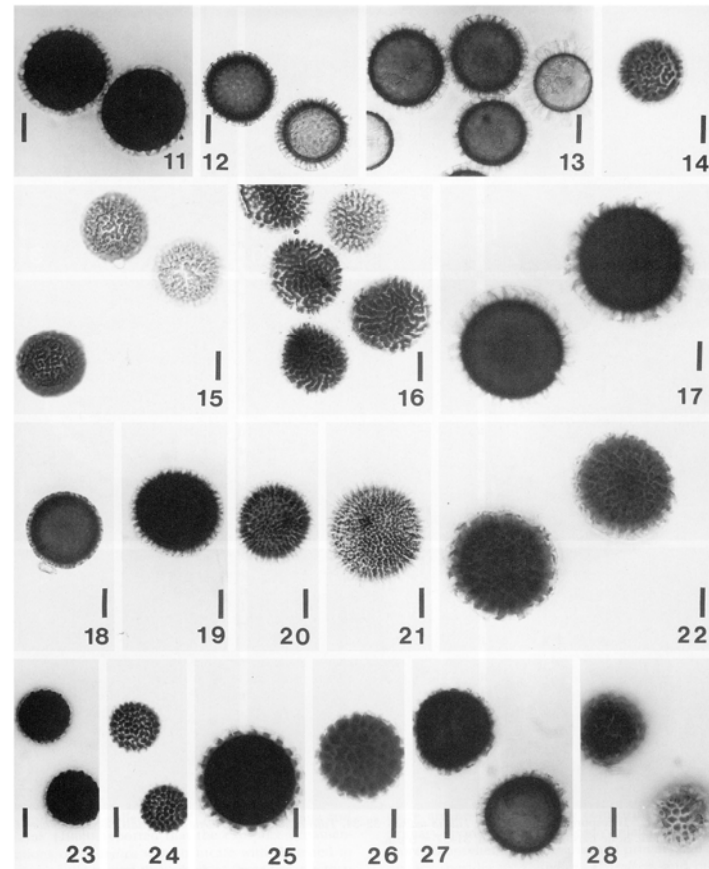


© Chin Khoon Min

## Genero *Tilletia*

CASTLEBURY AND GARRIS: *T. WALKERI* SP. NOV.

125



FIGS. 11-28. Teliospores (BF). 11-16. *Tilletia walkeri*. 17-22. *Tilletia indica*. 23, 24. *Tilletia horrida*. 25, 26. *Tilletia ergostidis*. 27, 28. *Tilletia inolems*. Scale bars: 12  $\mu\text{m}$ .



# Métodos disponibles:

- inspección visual
- lavado y filtración con inspección microscópica
- inmersión en NaOH



## **Lavado y filtración con inspección microscópica**

- Es el actual reconocido para la detección de carbones en trigo
- Puede ser un método cuantitativo
- Es útil para hongos que estén presente en la superficie de la semilla
- No da información sobre la viabilidad de las esporas

# Prueba de lavado de semilla y filtración



25 g de semillas  
100 ml agua  
3 gotas de tween 20



Agitación 30',  
250 rpm

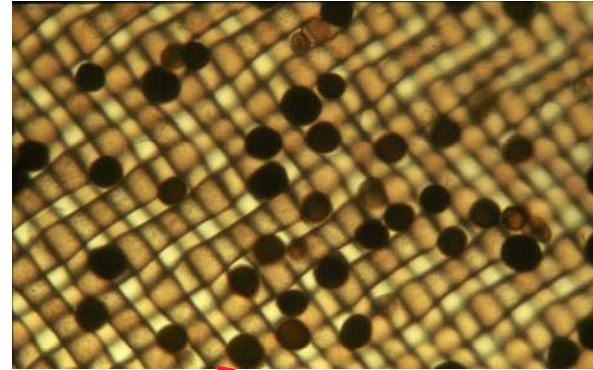
Filtración a través de una  
malla de poliéster  
53  $\mu\text{m}$



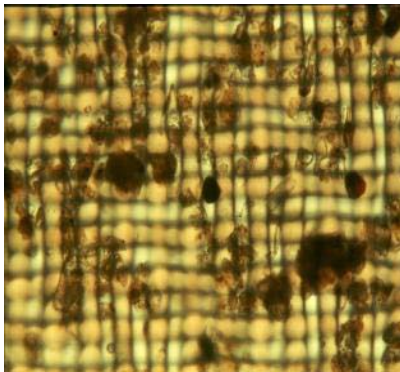


Filtración a través de una malla de poliéster  $15\ \mu\text{m}$  o papel filtro Whatman #1

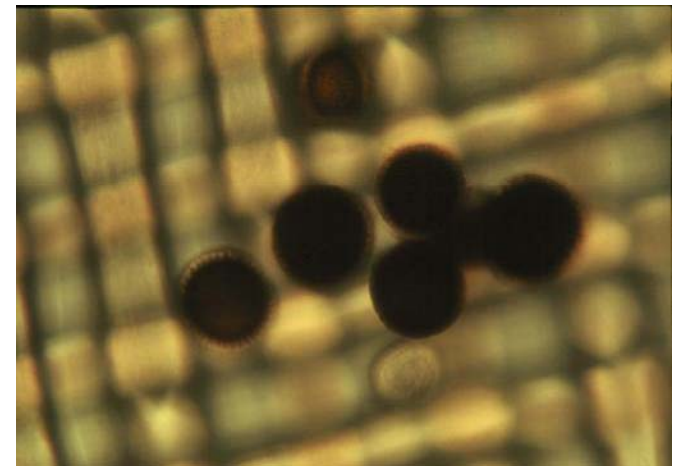




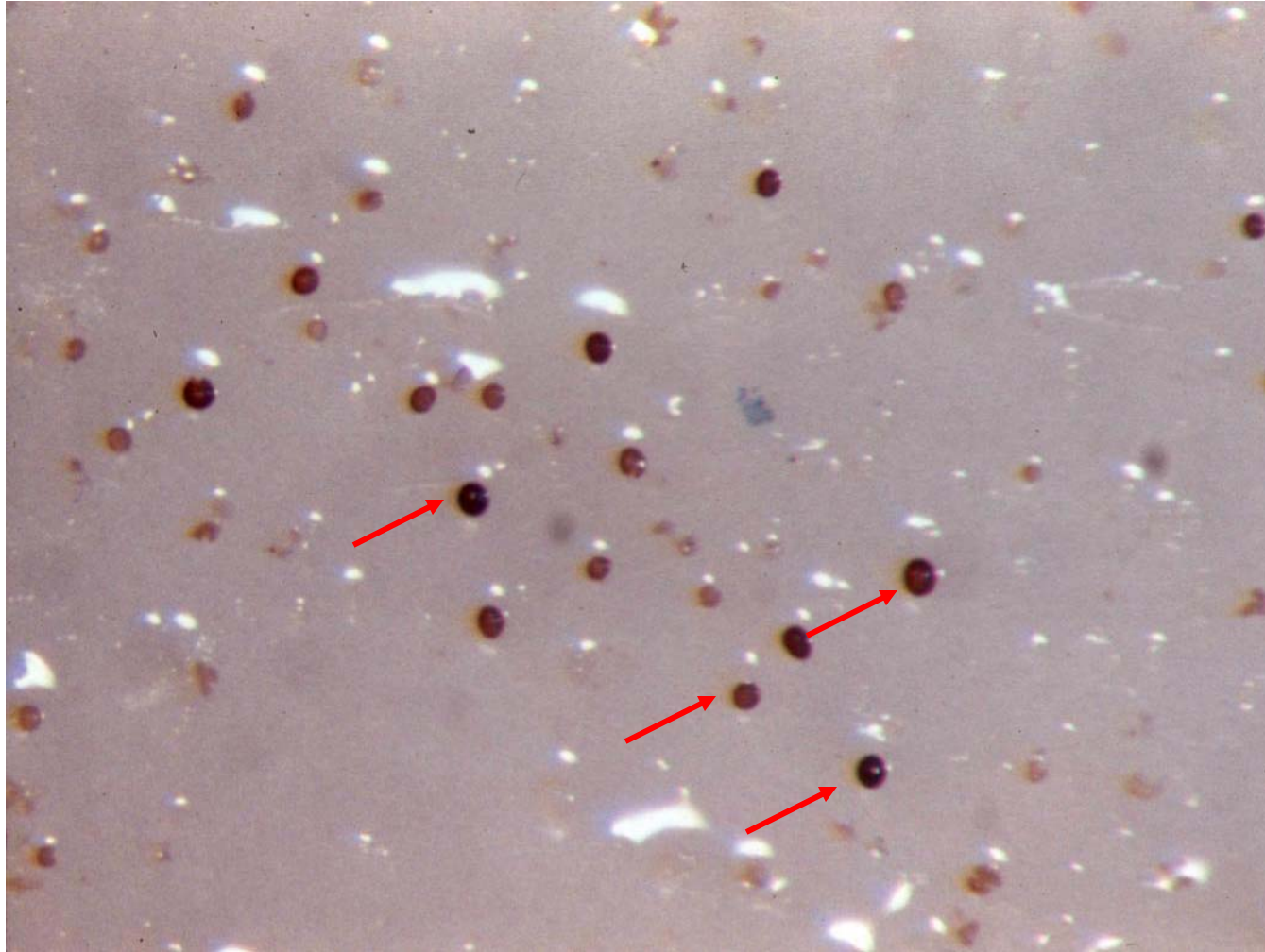
Esporas de carbón parcial en malla de poliéster



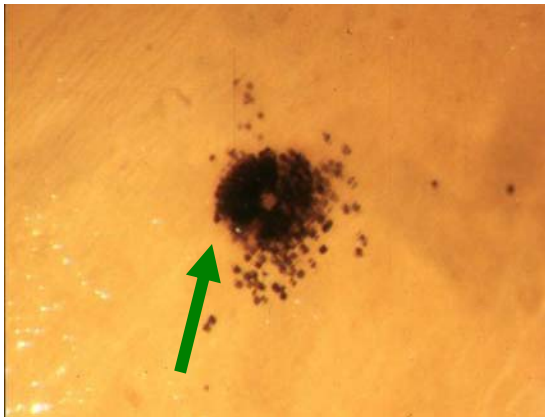
‘basura’



## Teliosporas de carbón parcial en filtro de papel



## Método de inmersión en NaOH al 0.2% x 24 horas



# **Prueba de germinación en papel y sustrato de suelo**



### Ventajas:

- Se observan síntomas en la plántulas en crecimiento
- Se obtiene información sobre viabilidad y vigor de la semilla
- Se obtiene información sobre riesgo de transmisión a la planta del patógeno

### Desventajas:

- No es muy sensible
- Requiere investigación sucesiva para identificar el patógeno

## Germinación en papel:

- Secante filtro o toallas
- Celulosa
- Sin contaminaciones
- Poroso, pero que no deje penetrar las raíces
- Robusto
- Buena capacidad de mantener la humedad
- pH neutro
- Bien conservado
- Estéril si es necesario



## Germinación en sustrato:

### A. Arena

- Uniforme entre 0.8-0.05 mm
- Buena capacidad de mantener la humedad
- pH neutro
- Lavada y estéril
- Se puede reusar previo lavado y esterilización

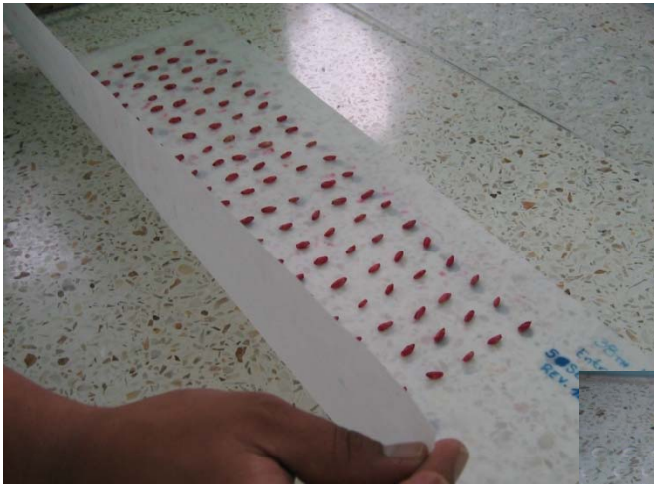
### B. Suelo

### C. Compost (peat-moss + vermiculita o perlita)

- Buena calidad
- Buena capacidad de mantener la humedad y aeración
- pH neutro
- Estéril
- No se aconseja re-usar



# Prueba de germinación en papel



Semilla ordenada en el papel húmedo



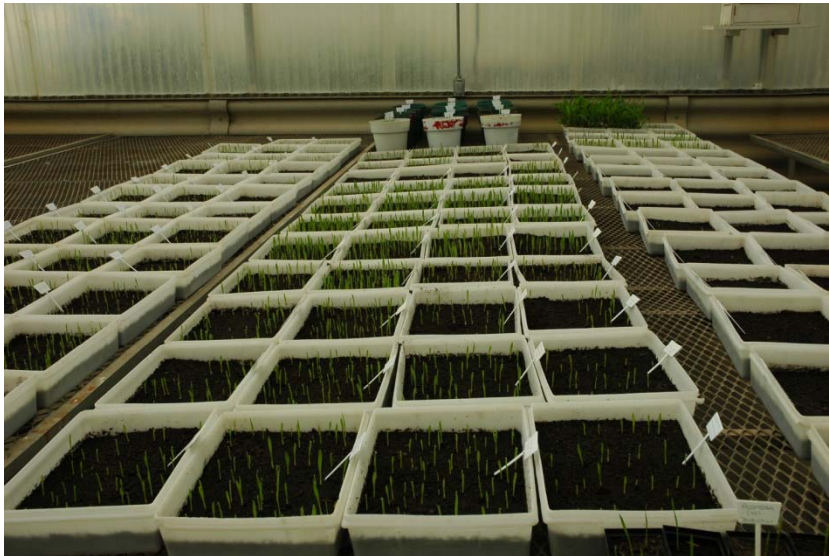
Formación del "rollo"



Plántulas listas para evaluación

# Prueba de germinación en sustrato de suelo

- Se puede realizar en invernadero o cámara de crecimiento



Plántulas en crecimiento

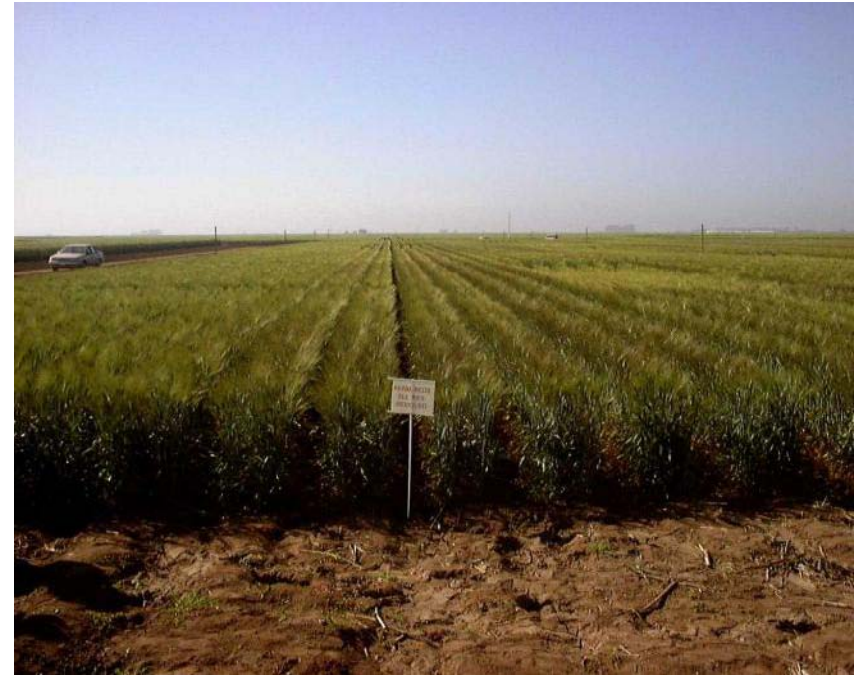


Plántulas listas para evaluación

# **Inspección en campo**

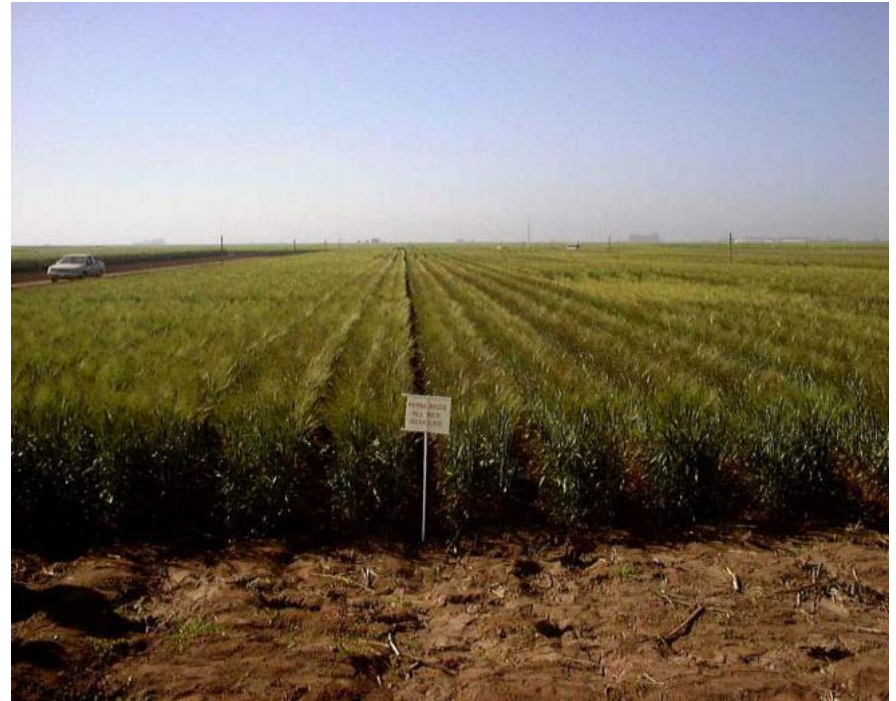
## ➤ **VENTAJAS:**

- Eliminación mezclas e impurezas
- Eliminación de plantas enfermas
- Muchas enfermedades se pueden detectar en un momento específico y eliminar
- Información sobre incidencia de patógenos antes de la cosecha
- Posibilidad de intervenir con un tratamiento químico



## ➤ **DESVENTAJAS:**

- No da información sobre patógenos que infecten después de la inspección
- Detección de patógenos presente en un momento particular
- Varios patógenos no se pueden detectar
- Patógenos que pueden ser presente pero no causan infección a la semilla



## **Efectuar la inspección en el momento oportuno:**

- Dependiendo de que patógenos se buscan
- Programar mas que una inspección

## **Llegando al campo:**

- Ubicarse en un punto con la mejor visual para identificar:
- ríos, canales de irrigación, presencia de áreas con malezas, arboles, áreas de sequia, edificios etc.



## **Establecer el diseño en campo del muestreo**

1. cinco de oros
2. En "X"
3. En pasajes equidistantes
4. Pasajes diseñados a propósitos para por ejemplo, muestra un cierto número de plantas

## **Actividades que se realizan en el campo:**

- Examen de los síntomas presentes en la planta y utilización de manuales para la identificación rápida si es posible
- Recolección de muestras para llevarlas al laboratorio

## Cinco de oros

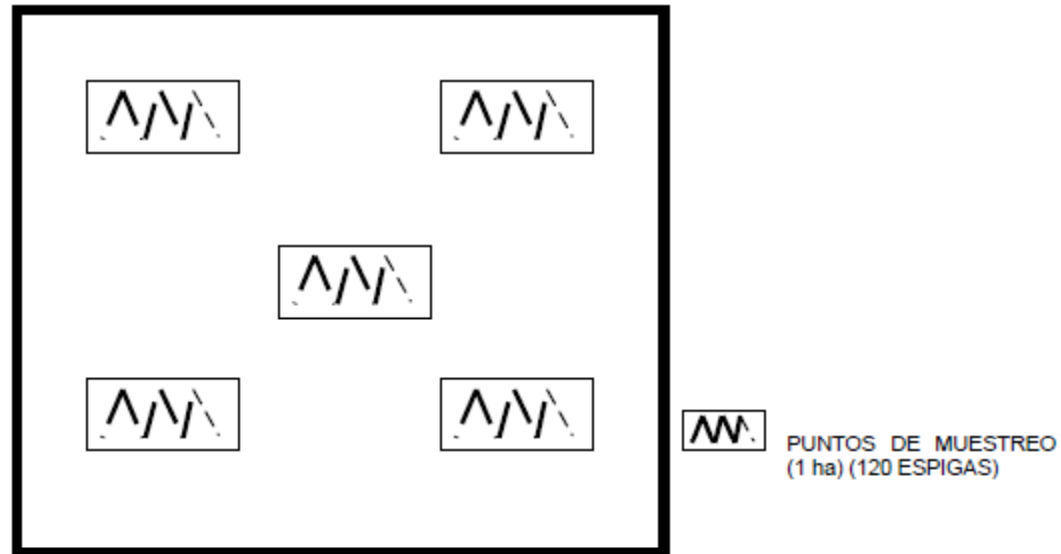


Figura 2. Procedimiento de muestreo por predio o lote de 25 ha.

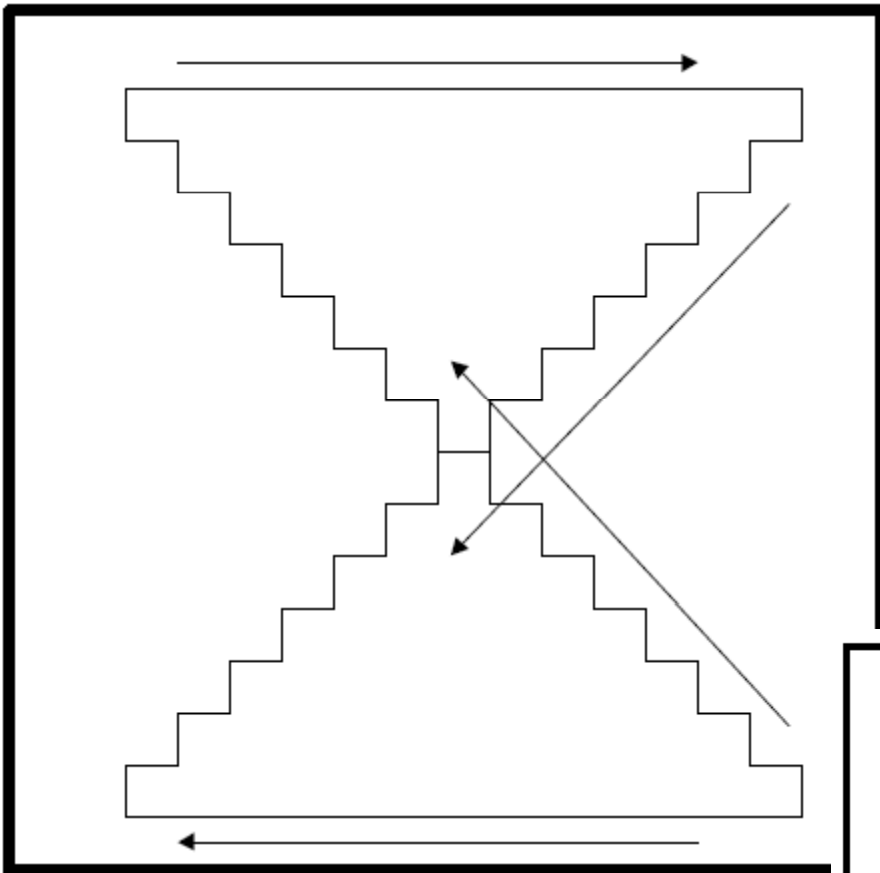


Figure 1 "X" Field Inspection Pattern

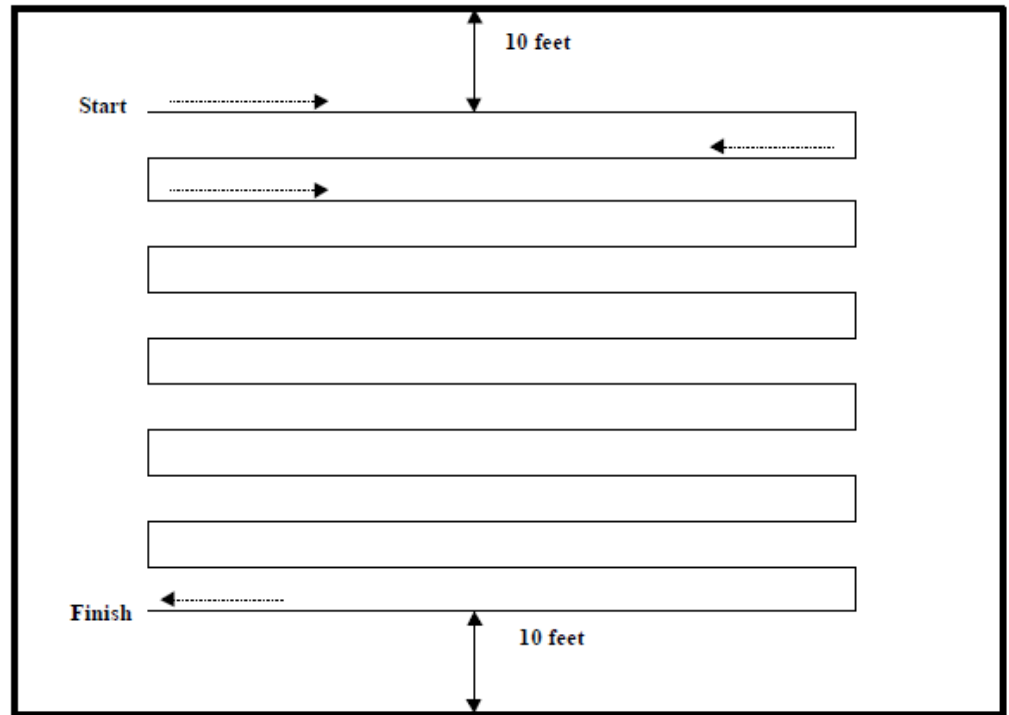
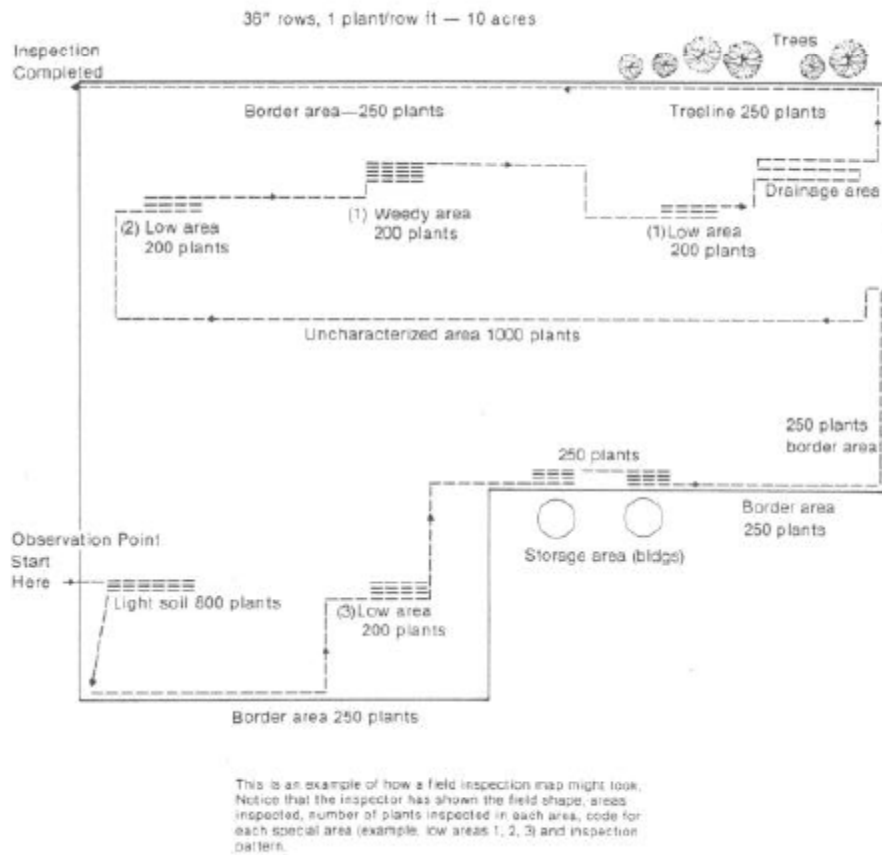


Figure 2 - Equidistant Pass Pattern



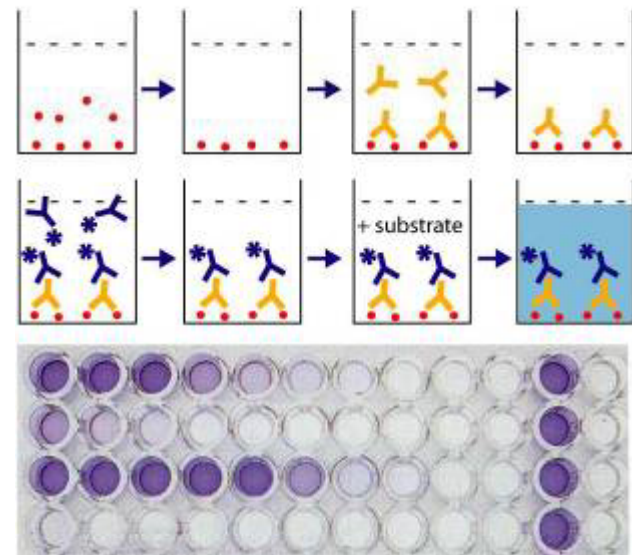
**Figure 3 - Example of field inspection by customized pattern**

# **Detección de bacteria y virus por técnica de Elisa**

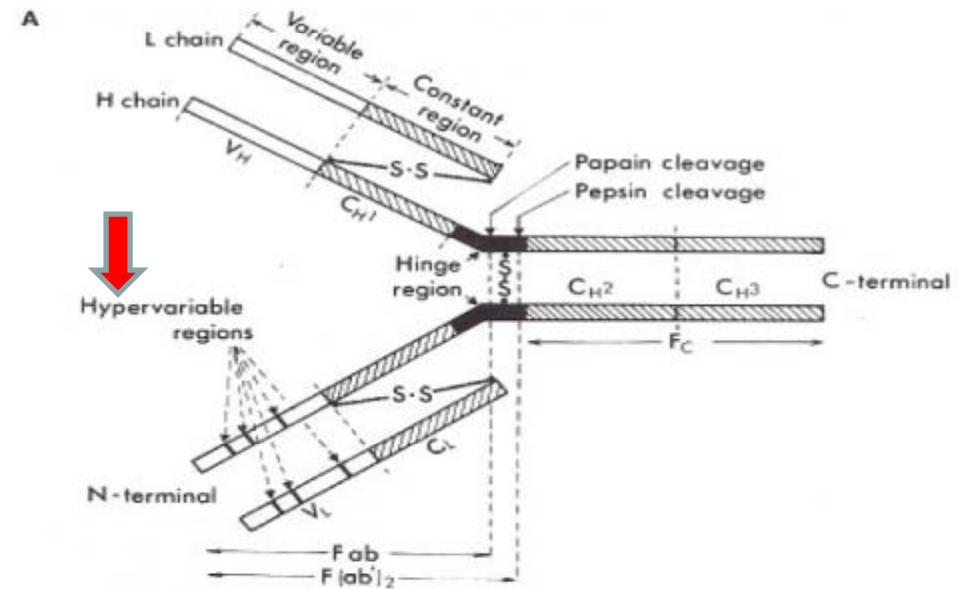
# Immunoserología

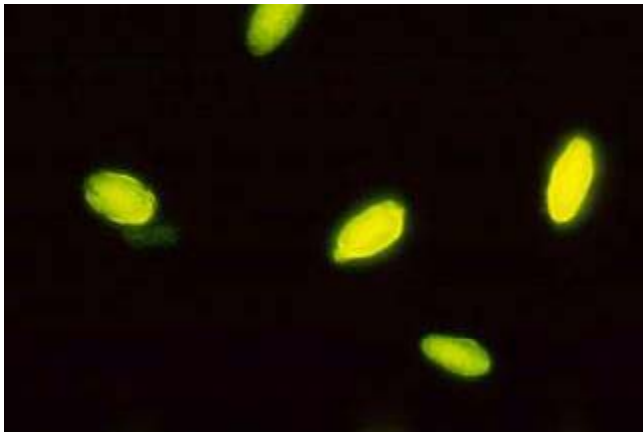
Análisis basados en reacciones anticuerpo-antígeno

- Los **anticuerpos** son glicoproteínas, **inmunoglobulinas**, del tipo gamma globulina
- Se encuentran en forma soluble en la sangre de los vertebrados
- Son empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños tales como bacterias, virus o parásitos
- Los anticuerpos son sintetizados por un tipo de leucocito denominado linfocito B.



- El anticuerpo típico está constituido por unidades estructurales básicas, cada una de ellas con dos grandes cadenas pesadas y dos cadenas ligeras de menor tamaño
- Aunque la estructura general de todos los anticuerpos es muy semejante, una pequeña región del ápice de la proteína es extremadamente variable, región hipervariable, lo cual permite la existencia de millones de anticuerpos, cada uno con un extremo ligeramente distinto.
- Cada una de estas variantes se puede unir a un antígeno diferente
- La única parte del antígeno reconocida por el anticuerpo se denomina epítipo
- El epítipo se une con su anticuerpo en una interacción altamente específica que se denomina adaptación inducida, única en medio de los millones de moléculas diferentes que componen un organismo.





➤ Immunofluorescencia



➤ Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)



➤ Tiras de inmunoimpresión





## Antisuero:

Suero que contiene uno o más anticuerpos. Se obtiene de un animal que ha sido sometido a la acción de un antígeno.

En fitopatología se utilizan 2 tipos de antisueros:

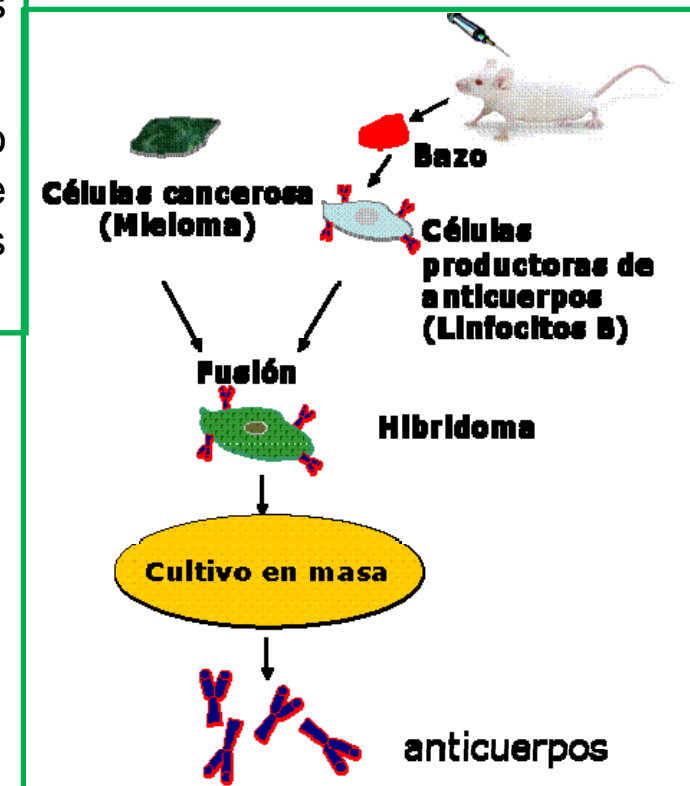
- Policlonal
- Monoclonal

1. Un antisuero es policlonal cuando las IgG se producen indistintamente por muchas células B, debido a que el antígeno tiene muchos “determinante antigénicos” que pueden estimular muchas células B.

2. Un antisuero monoclonal, es producido por una sola específica célula linfocito B.

Se obtiene:

- fusionando una célula linfocito B de un animal que haya sido expuesto al antígeno con una línea de células de mieloma de ratón obteniendo un hibridoma (ya que las células B no son cultivables en vitro);
- el hibridoma se inyecta en ratón o en conejo causando un tumor ascítico (liquido) del cual sale el antisuero que contiene los anticuerpos monoclonales

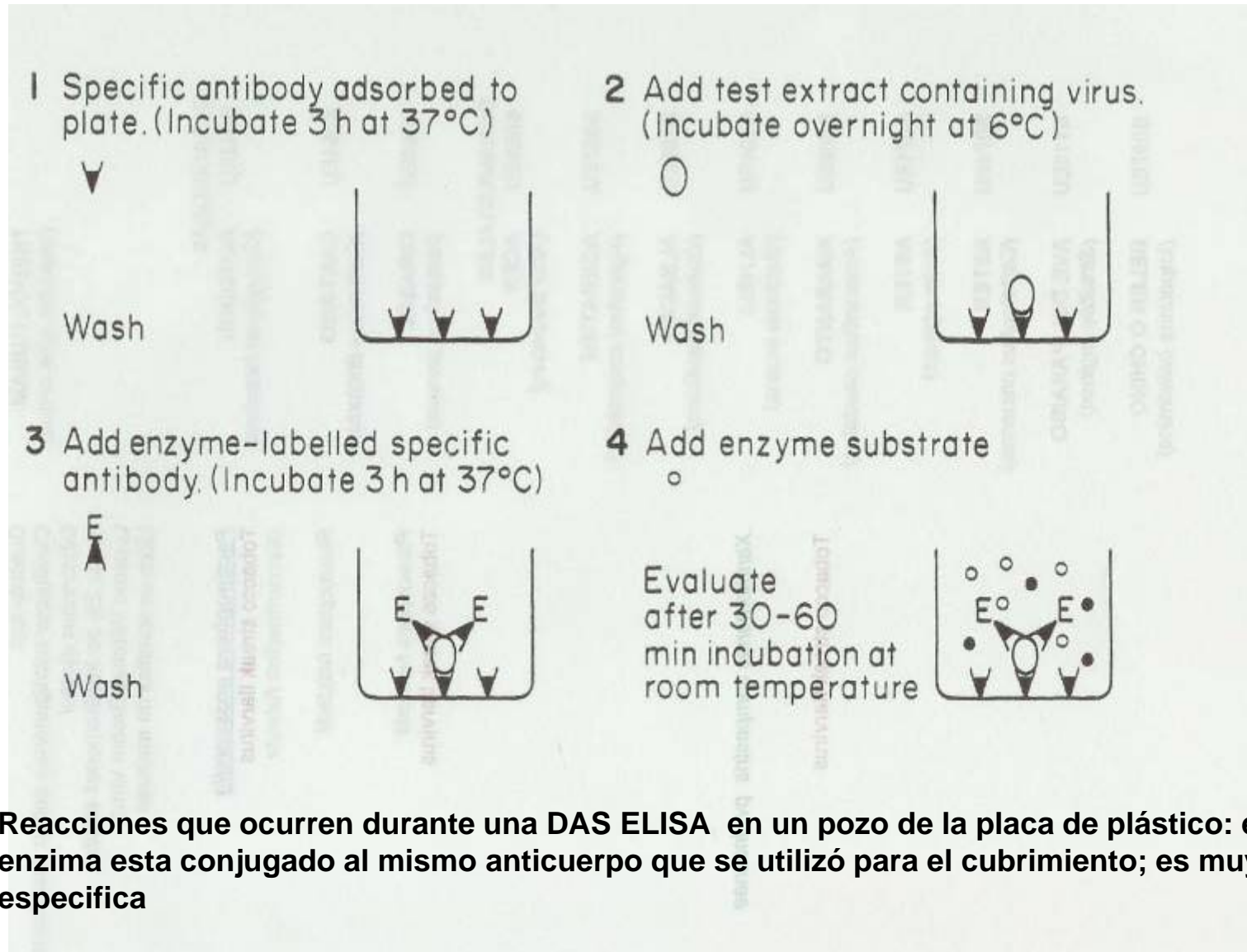




## Hay diferentes técnicas de ELISA, pero

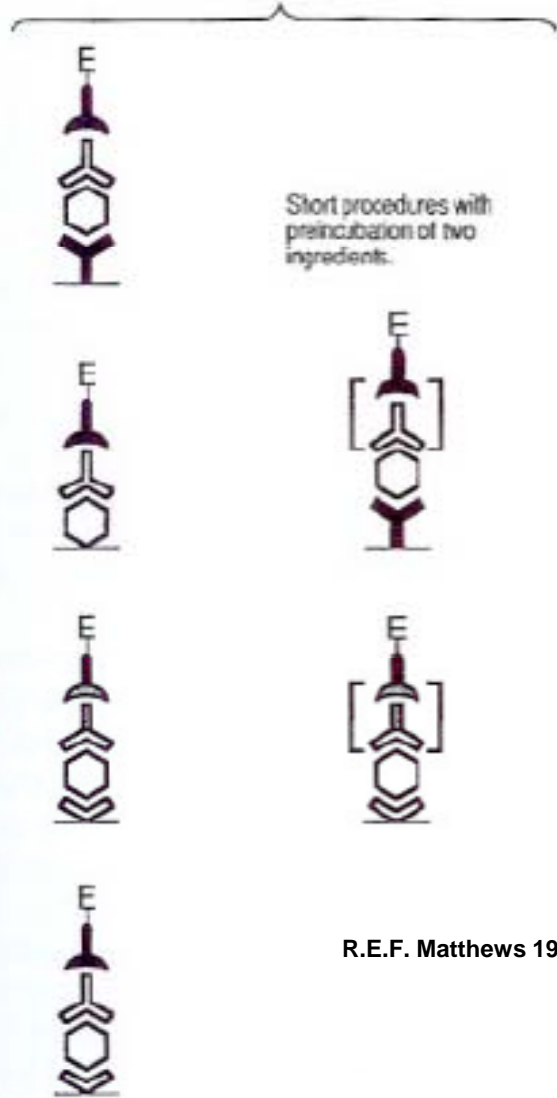
- Todas se basan en la utilización de anticuerpos que “atrapan” su antígeno específico en un medio plástico (placas con pozos).
- Esta propiedad física es propia de las proteínas, como son los anticuerpos
- Se utilizan anticuerpos monoclonales y anticuerpos policlonales

## Prueba de ELISA directa con anticuerpo doble sandwich



Reacciones que ocurren durante una DAS ELISA en un pozo de la placa de plástico: el enzima esta conjugado al mismo anticuerpo que se utilizó para el cubrimiento; es muy especifica

indirect procedures



R.E.F. Matthews 1991

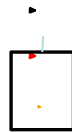
## Prueba de ELISA indirecta:

el anticuerpo conjugado con el enzima no es el específico para el antígeno sino un anti-animal (por ejemplo conejo) que se utilizó para la producción del antisuero para el antígeno, o sea:



Antígeno A

Anticuerpo producido en conejo con antígeno A

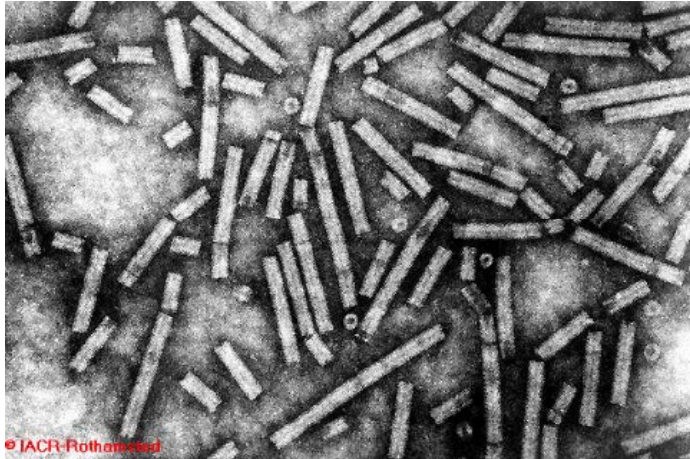


Anticuerpo producido en cabra inyectado con antígeno de conejo B y conjugado con enzima



1. Poner el antisuero de “coating” = cubrimiento, en ocasiones las placas ya vienen “cubiertas”
2. Incubar y lavar
3. Poner la muestra (antigeno)
4. Incubar y lavar
5. Poner el conjugado
6. Incubar y lavar
7. Poner el substrato (antisuero conjugado con el enzima)
8. Parar la reacción
9. Evaluar

## Barley Stripe Mosaic Virus Virus estriado de la cebada



No tiene vectores, depende de la semilla para su sobrevivencia y difusión

Sus huéspedes primarios pertenecen al grupo de *Gramineae*

También infecta *Chenopodiaceae*, *Solanaceae*, *Amaranthaceae*, *Primulaceae*

Posiblemente único virus a ser transmitido eficientemente por semilla

Distribuido en todo el mundo

RNA, partícula alargada, 22 nm,  
Miembro de los Hordeivirus  
Transmitido por:

Semilla  
Polen  
Óvulos  
Contacto





***Pantoea stewartii*** Regulado en Mexico NOM-018-FITO-1995

Transmitido por semilla a niveles bajos 0.05%

Transmito en naturaleza por un vector

*Chaetocnema pulicaria*



***Características morfológicas:***

Anaeróbico facultativo, Gram negativa, en YDC colonias convexas y amarillas

***Huespedes primarios:***

*Zea mays*, *Zea mexicana* (teosinte)

***Distribución:***

endémico de EU, pero reportado en muchos países esporádicamente

***Importancia económica:*** moderada

# **Prueba de papel secante y congelación**

## Características:

- Se utiliza para cualquier tipo de semilla
- La congelación
  - elimina efectos de resistencia del huésped
  - favorece la esporulación de ciertos hongos (ex. *Alternaria porri*)
- Detecta solo los hongos imperfectos
- Algunas especies son favorecidas en comparación a otras
- Algunas especies aunque presentes como micelio en la semilla no se desarrollan
- Si faltan condiciones ambientales de limpieza e higiene hay alto riesgo de contaminaciones por *Rhizopus* y *Mucor*

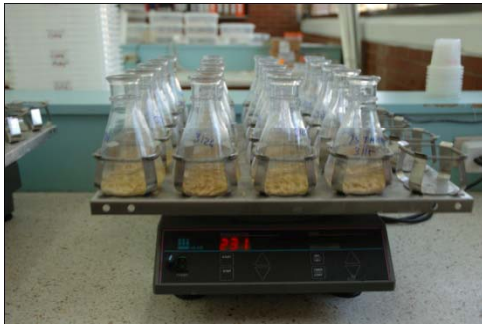
## Objetivos de métodos de detección por incubación:

- Determinación del tipo de inóculo
- Cantidad de inóculo
- Distribución del inóculo adentro de un lote de semilla
- Evaluación del vigor del inóculo al momento del análisis, que se mide evaluando:
  - Tasa de crecimiento de la colonia (incubación en agar)
  - Grado de esporulación (incubación en papel húmedo)
  - Reducción de la emergencia y procurar síntomas (germinación)
  - Capacidad de procurar síntomas en plantas indicadora (virus)

## Condiciones de incubación:

- Caja de plástico
- Espacio entre semillas: 1 por caja seria lo ideal pero no es practico
- Tipo de papel
- Tipo de medio de cultivo: nivel de selectividad
- Cantidad de medio de cultivo en la caja petri
- pH del medio de cultivo
- Temperatura
- Humedad
- Luz
- Tiempo de incubación

# REALIZACIÓN



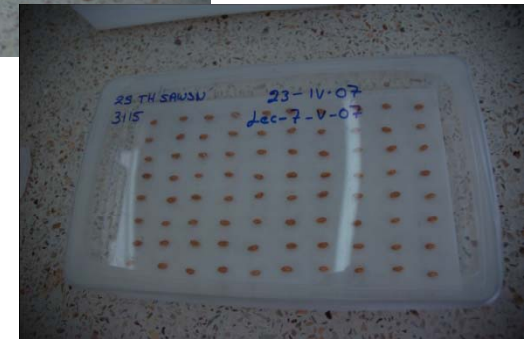
Desinfectar ,  
enjuagar, escurrir la  
semilla



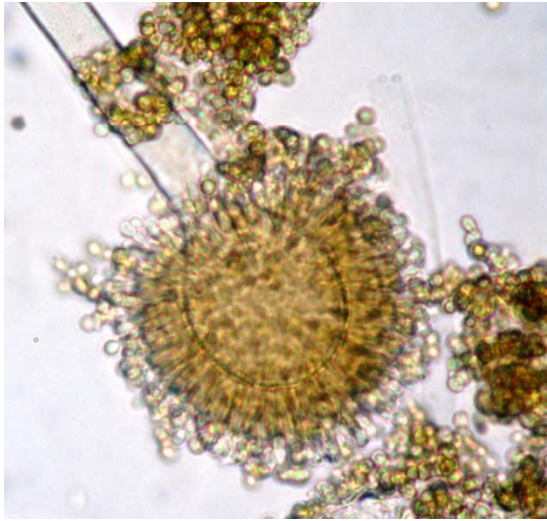
Acomodar sobre el papel y  
en la caja



Incubar



# EVALUACIÓN



- ✓ Se cuenta el numero de semilla con desarrollo fúngico
- ✓ Se identifica cada hongo con la ayuda de:
  - Experiencia
  - Claves taxonómicas
  - Fotografías
  - Pruebas de laboratorio



# **Prueba de lavado y dilución para la detección de bacterias en semilla**



## Métodos de Detección:

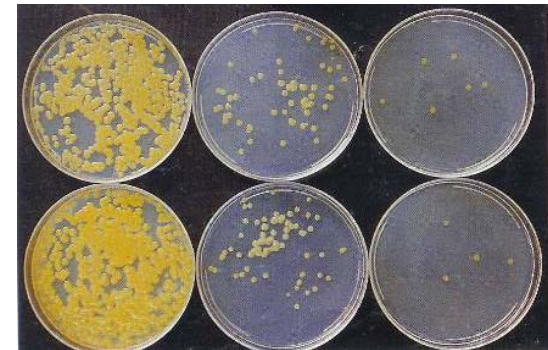
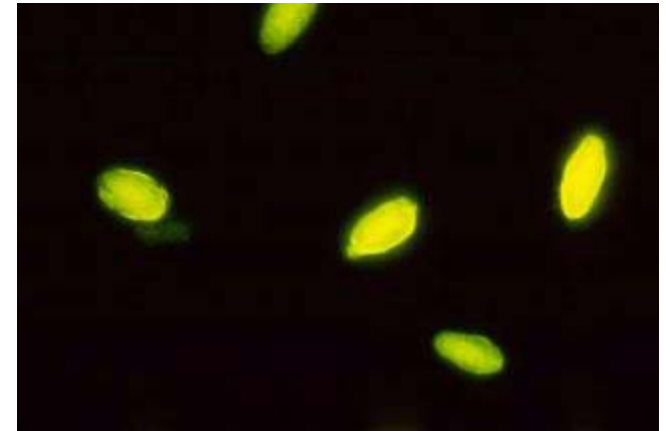
- Extracción de la bacteria de la semilla y aislamiento en medio selectivo
- Prueba de patogenicidad
- Inmunofluorescencia
- ELISA
- PCR

Cualquier método implica:

- Extracción
- Identificación
- Sensibilidad de acuerdo al nivel de tolerancia establecidos

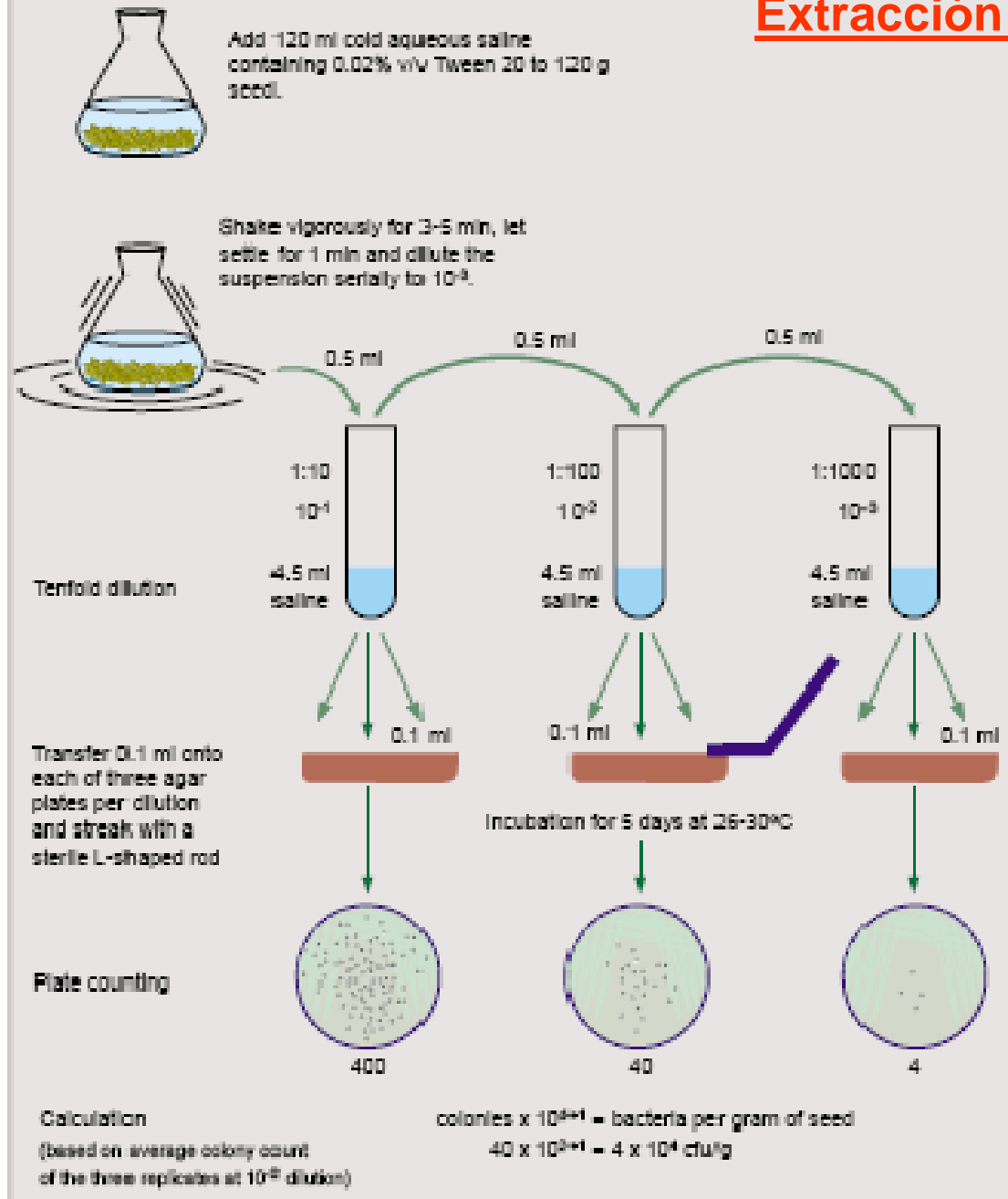
Establecer:

- cual bacteria se quiere detectar
- que grado de infección la semilla trae de su origen



# REALIZACIÓN

## Extracción de la bacteria de la semilla



# ***Xanthomonas translucens* pv. *undulosa***

*agente causal del  
rayado bacteriano y espiga negra*

## **Características morfológicas:**

bacteria aeróbica, Gram negativa, en forma de bastoncillo 0.5 x 1.0  $\mu\text{m}$ ; forma colonias de color amarillo pálido en YDC, y aún más clara en medio de cultivo selectivo, convexas, mucoides lisas con márgenes enteros.

**Huespedes primarios:** *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Secale cereale*, *Triticale*.

**Distribución:** en todo el mundo donde se cultive cebada y trigo en ambiente calientes y húmedos.

**Importancia económica:** puede causar pérdidas desde el 20 hasta el 50% en ambientes favorables y en genotipos susceptibles



## Síntomas:

### En las glumás

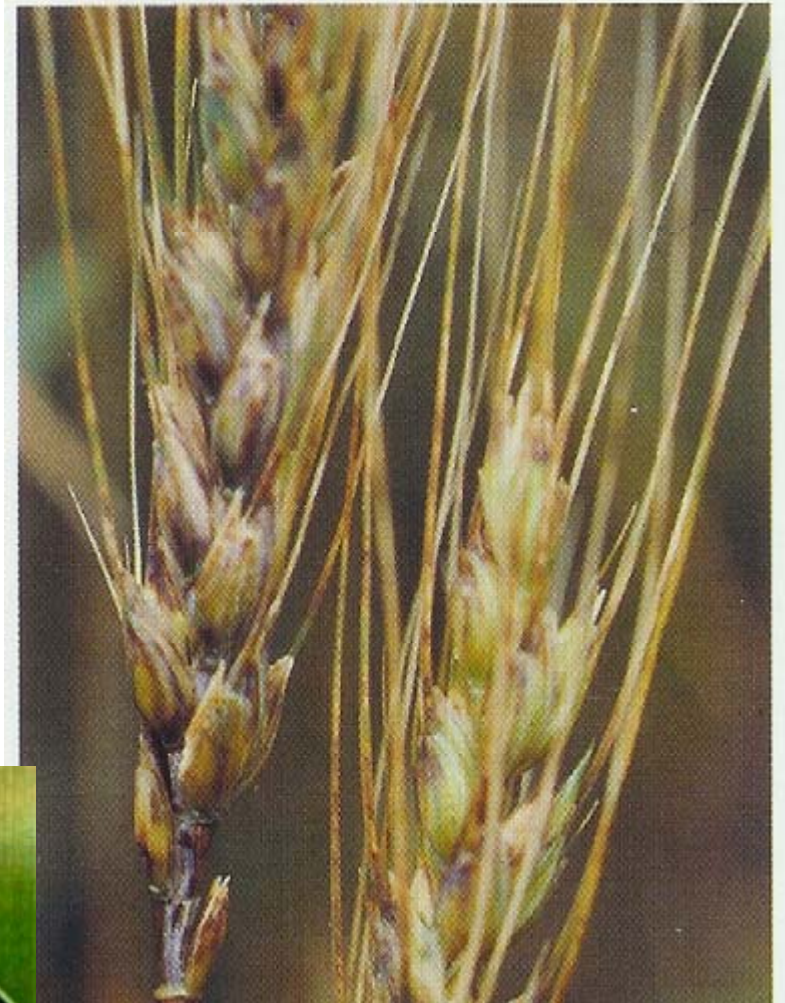
se observan estrías finas de color negro entre las venas que le dan a la espiga un color bruno oscuro, el daño puede llegar hasta el grano que puede volverse oscuro y chupado

Se observan exudados

### En las hojas

Las lesiones empiezan como estrías de color marrón claro y con aspecto de “water soaking” a lo largo de las venas; las lesiones se unen y pueden llegar a necrotizar toda la hoja

Se observan exudados en las horas tempranas del día y en condiciones de humedad



E. Duveiller

## ***Características ecológicas:***

En el campo se distribuye por la lluvia y por contacto.

Puede sobrevivir en residuos del cultivo pero la manera de transmisión más eficiente y sobre larga distancias es:

### **por semillas**

- El patógeno puede quedar viable en la semilla por muchos años
- se ubica internamente a la semilla
- Porcentaje de transmisión entre 4 y 25%
- La semilla infectada puede ser chupada y se registran pérdidas de producción hasta del 35%
- No hay tratamientos a la semilla que controlen la bacteria

## Aislamiento en medio selectivo de Wilbrink o WBC

Agar Bacteriológico	15 g
Agua destilada	850 ml
Bacto Peptona (peptona de gelatina)	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Fosfato de potasio)	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O (sulfato de magnesio heptahidrato)	0.25 g
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> (sulfito de sodio anhidro)	0.05 g
Sacarosa	10 g



### **Ingrediente para esterilizar separadamente:**

Ácido Bórico en solución acuosa: 0.75 g/150 ml H<sub>2</sub>O destilada

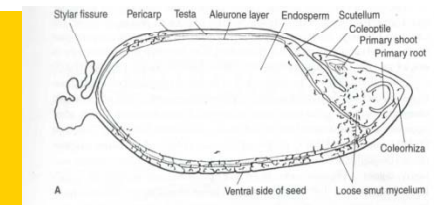
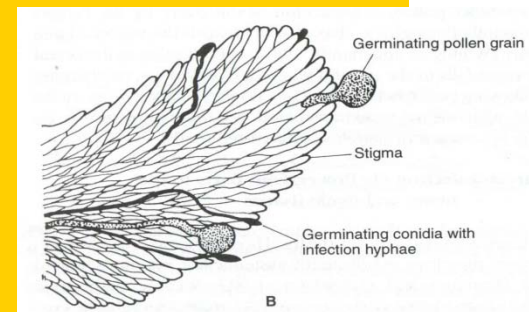
### **Ingredientes para adjuntarse después de la esterilización del medio:**

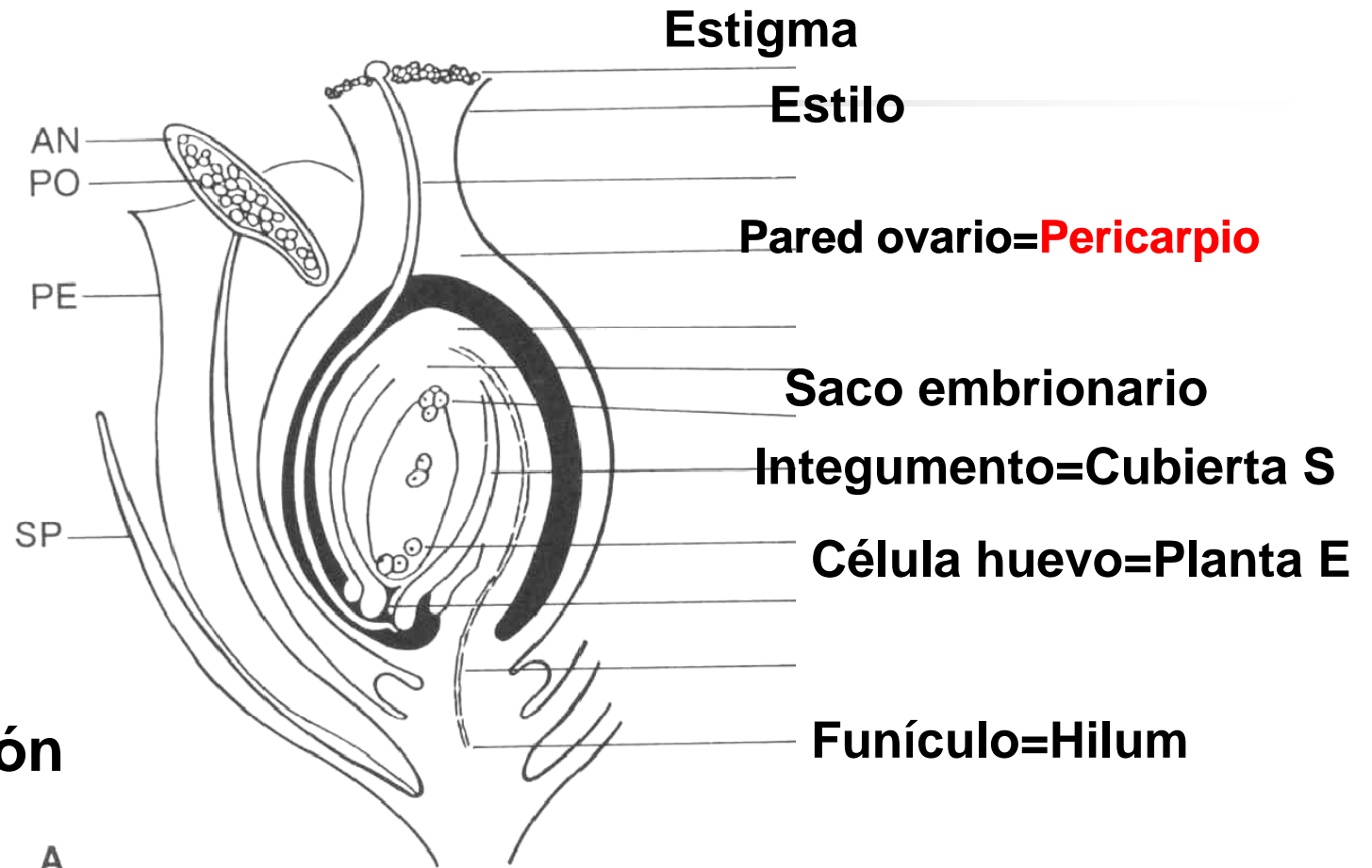
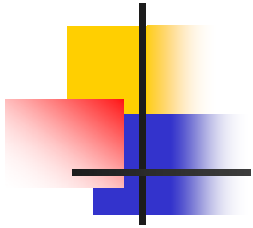
Cefalexina 1 ml de una solución en etanol al 75% con 10 mg/ml

Cicloheximida 2 ml de una solución en etanol al 75% con 75 mg/2 ml

# Mecanismo de Infección-Infestación de la semilla

Ana María Hernández Anguiano  
Profesor-Investigador  
Colegio de Postgraduados



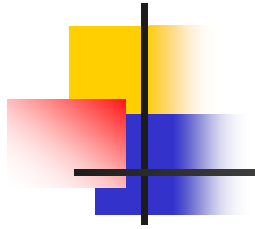


## Fertilización

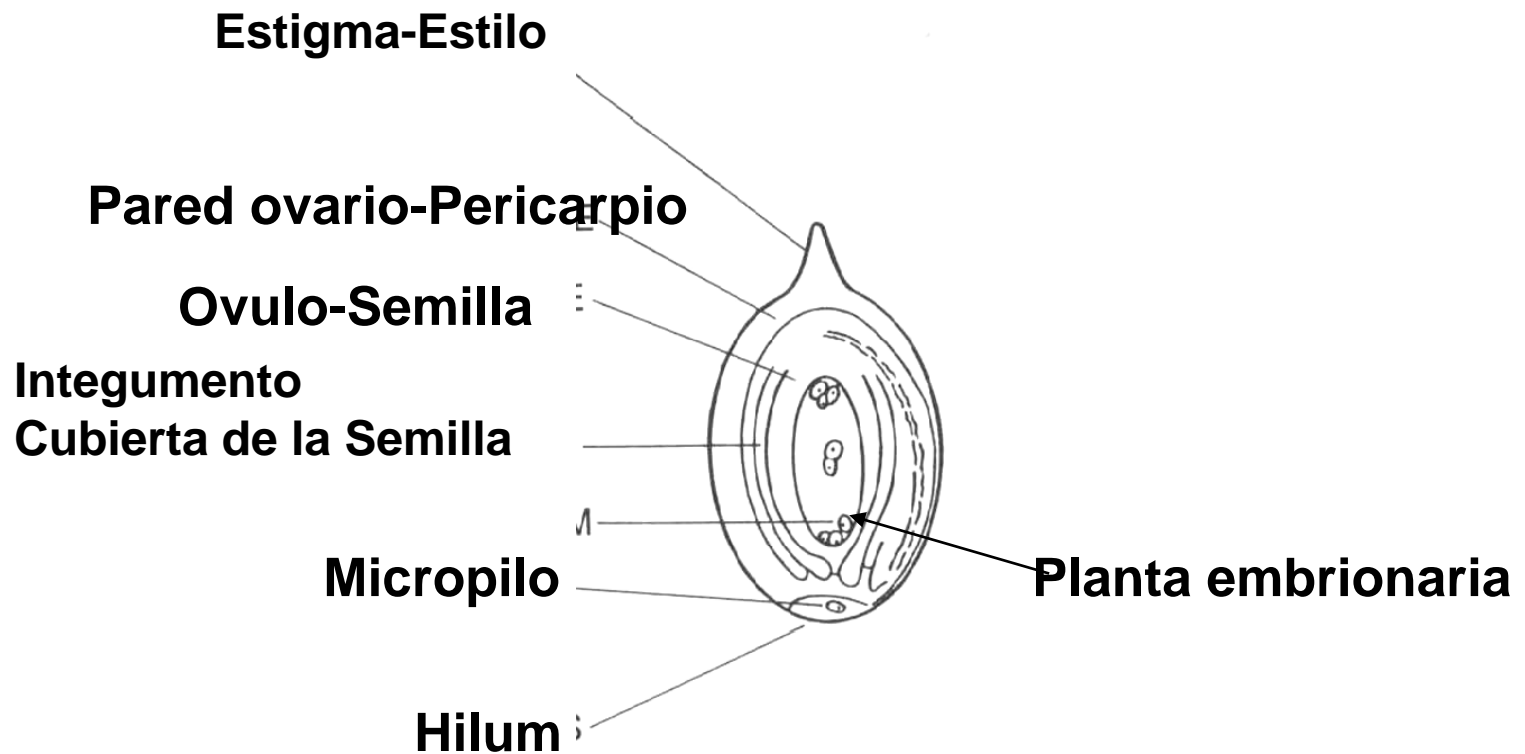
- Fruto
- Semilla

A





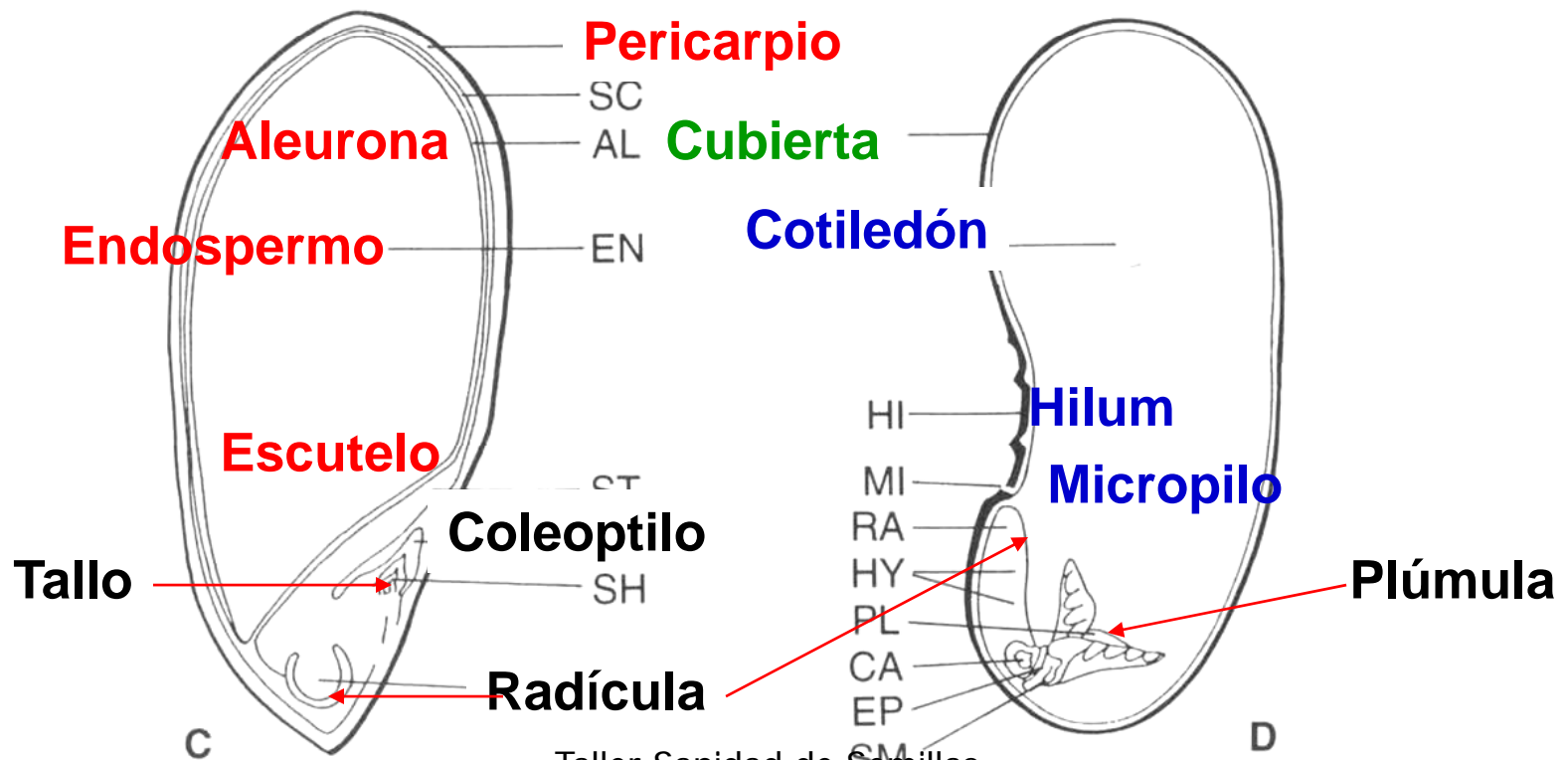
# Fruto



# Anatomía comparativa

**Cariópside**

**Semilla**



02/12/2010

Taller Sanidad de Semillas-  
CIMMYT

(Maude, 1996)

# Fruto-una semilla= Cariopside

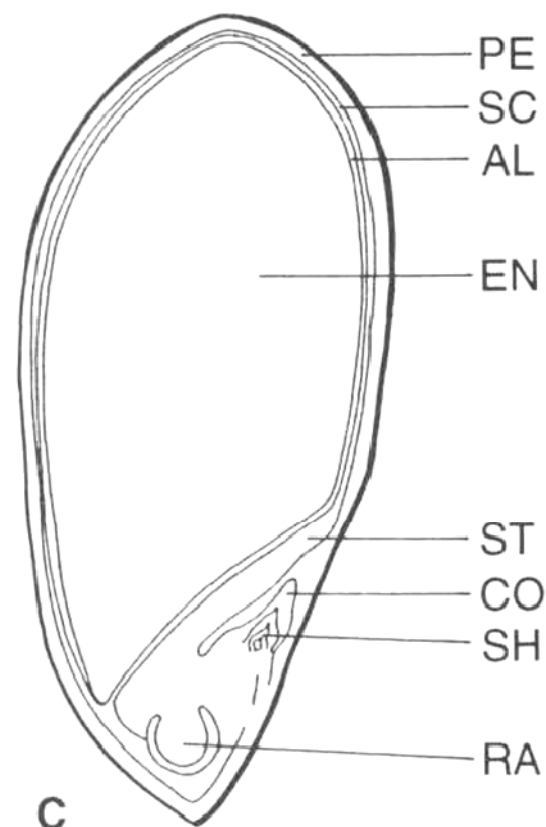
## Material de siembra:

### ➤ Cariopside

- Centeno
- Maíz
- Sorgo
- Trigo

### ➤ Cariopside + lema + palea

- Arroz
- Cebada
- Avena





# Infección / Infestación de la semilla

---

- Puede ocurrir durante el desarrollo de las plantas
- Bajo condiciones ambientales favorables
- Por agentes causales como microorganismos

La probabilidad de tener infecciones exitosas en la naturaleza es muy baja.



# Infección / Infestación de la semilla

---

- **Infección.**- Cuando el microorganismo penetra y establece una relación parasítica con la semilla.
- **Infestación** (contaminación).- Cuando el microorganismo establece una asociación pasiva con la semilla.
- **Importancia:** Permite establecer mecanismos de control



# Mecanismo de Infección / infestación

- **Infección**

- A. Sistémica:**

- ✓ Vía tejido planta-embrión

- B. Vía estigma-embrión**

- C. A través de pared del fruto, ovario, cubierta semilla**

- D. A través de aberturas naturales y heridas**

- **Infestación o contaminación**

- ✓ Adherencia a la superficie de la semilla

- ✓ Contaminación concomitante

# Infección sistémica

## ➤ Tejido de Planta – Embrión



Amaranto

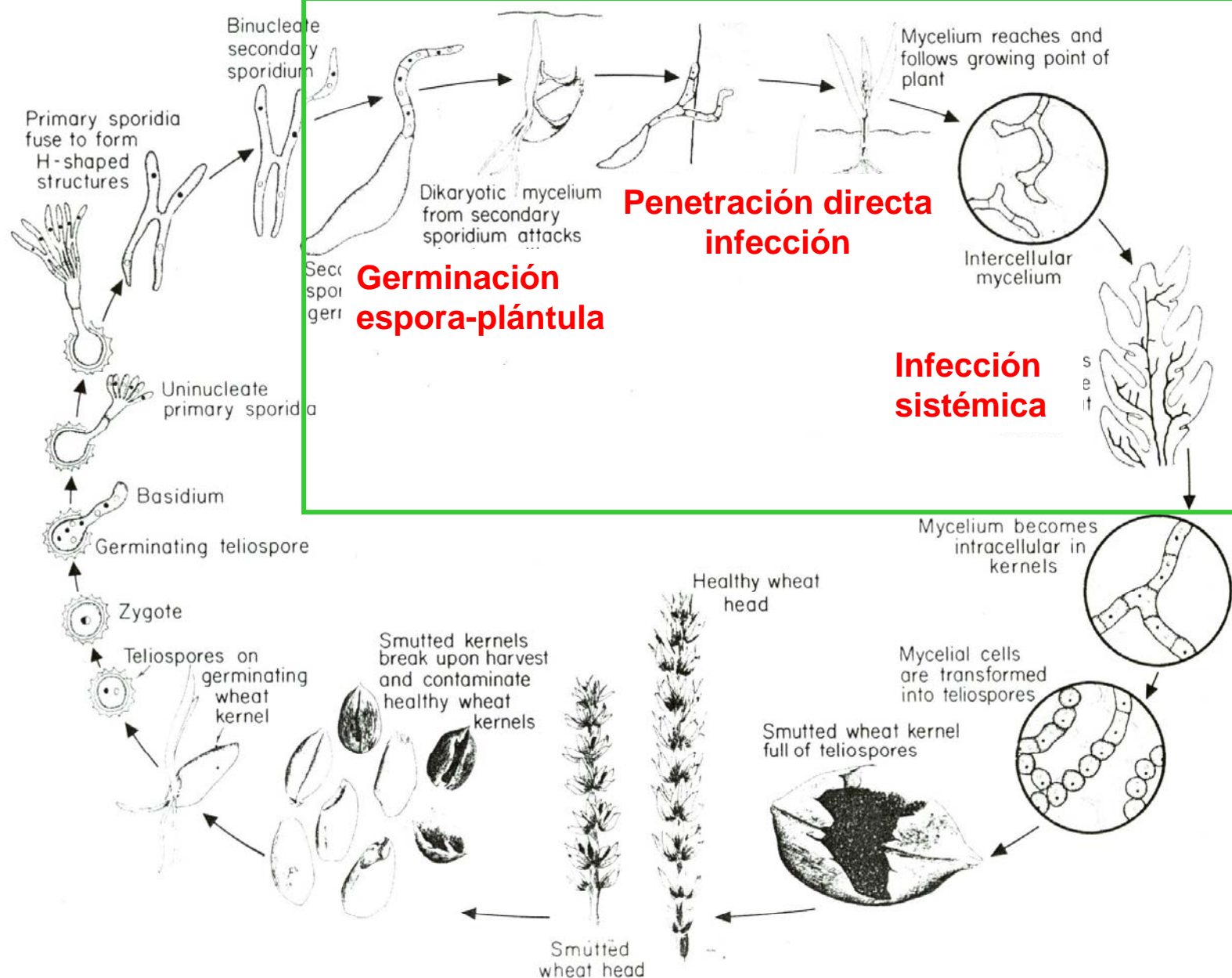
- **Sistema vascular (SV)**
- **Conexiones citoplasmáticas**
- **Etapas tempranas**
- **Virus:** Varios tienen esta capacidad pero una vez que la capa de calosa se ha formado, el movimiento de los virus se reduce.
- **Bacterias:** Pocas pueden invadir el SV
- **Nematodos:** Algunos permanecen cerca del hilum o se mueven a través del pedicelo y placenta y dentro de las paredes del ovario por el funículo

## Vía Tejido Planta – Embrión



- ✓ **Virus: Virus Mosaico Lechuga - *Lactuca sativa***  
**Virus Mosaico Alfalfa - *Medicago sativa***  
**Virus Mosaico Estriado de la Cebada- cebada**
- ✓ **Hongos: *F. o. f.sp. lycopersici* – Fusariosis cuello**  
***Tilletia tritici* – Carbón apestoso**
- ✓ **Bacterias: *X. c. pv. campestris* - Pudrición negra**  
***X. c. pv. phaseoli* -Tizón común**
- ✓ **Nematodos: *Ditylenchus dipsaci* - cebolla**





**Germinación  
espora-plántula**

**Penetración directa  
infección**

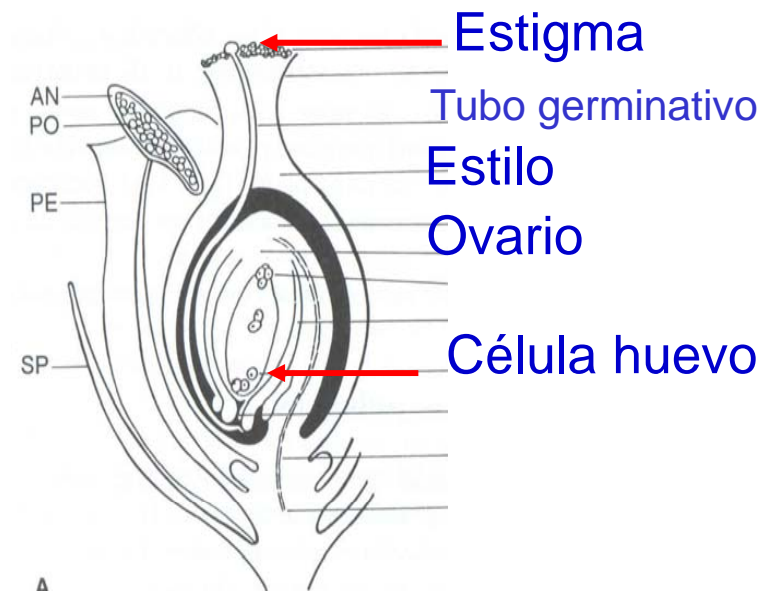
**Infección  
sistémica**

FIGURE 11-108 **Taller Sanidad de Semillas-** Disease cycle of covered smut or bunt of wheat caused by *Tilletia* sp.  
CIMMYT

02/12/2010

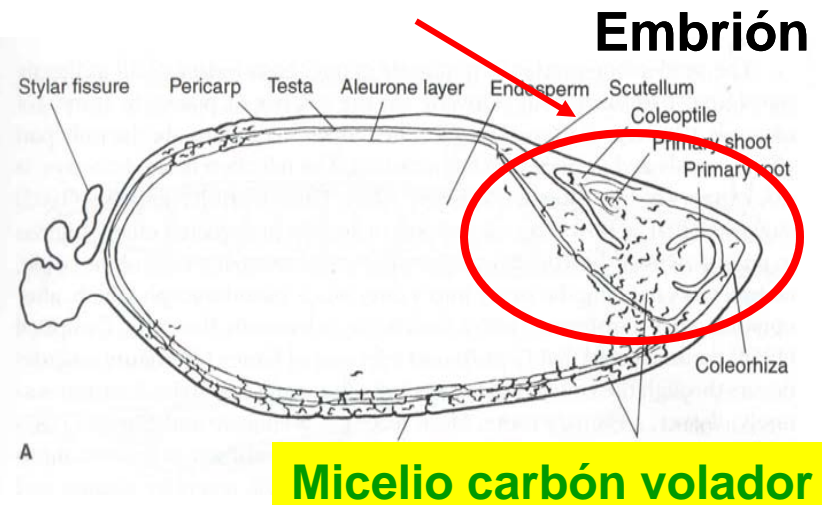
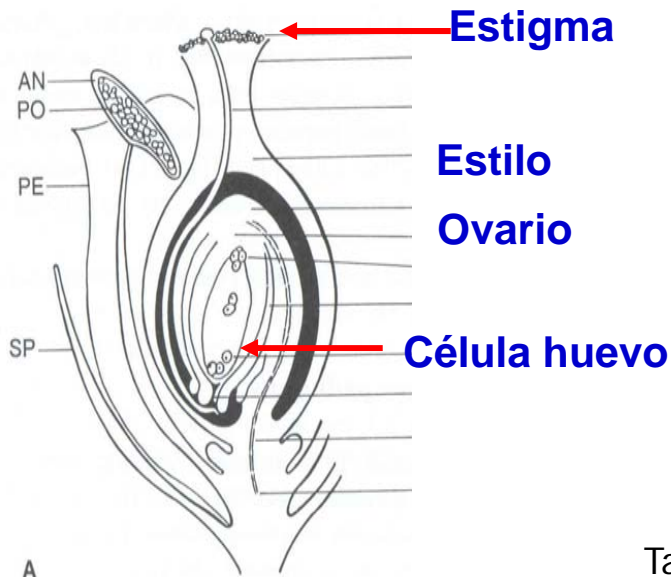
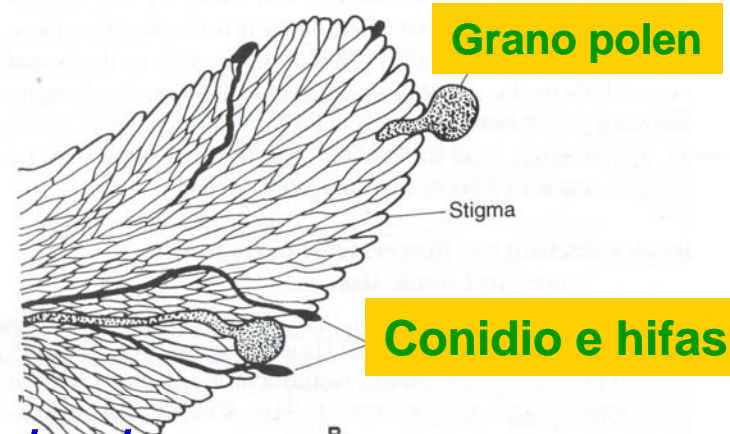
# Estigma – Embrión

- Estructuras infectivas de patógeno transportadas a estigma
- En estigma germinan y siguen ruta del polen
- Espora emite tubo germinativo el cual entra al estilo, infecta el ovario y se establece en semilla en desarrollo



## Estigma-embrión

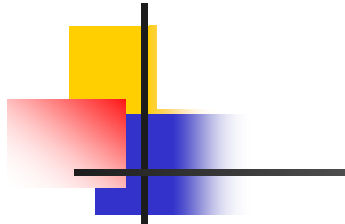
- *Carbón volador*
- *Virus Mosaico de la Alfalfa*
- *Virus Mosaico Estriado de la Cebada*



02/12/2010

Taller Sanidad de Semillas-  
CIMMYT

Maude, 1996



**Infección ovario  
vía estigma**

**Ascosporas  
Infección 1<sup>ra</sup>**

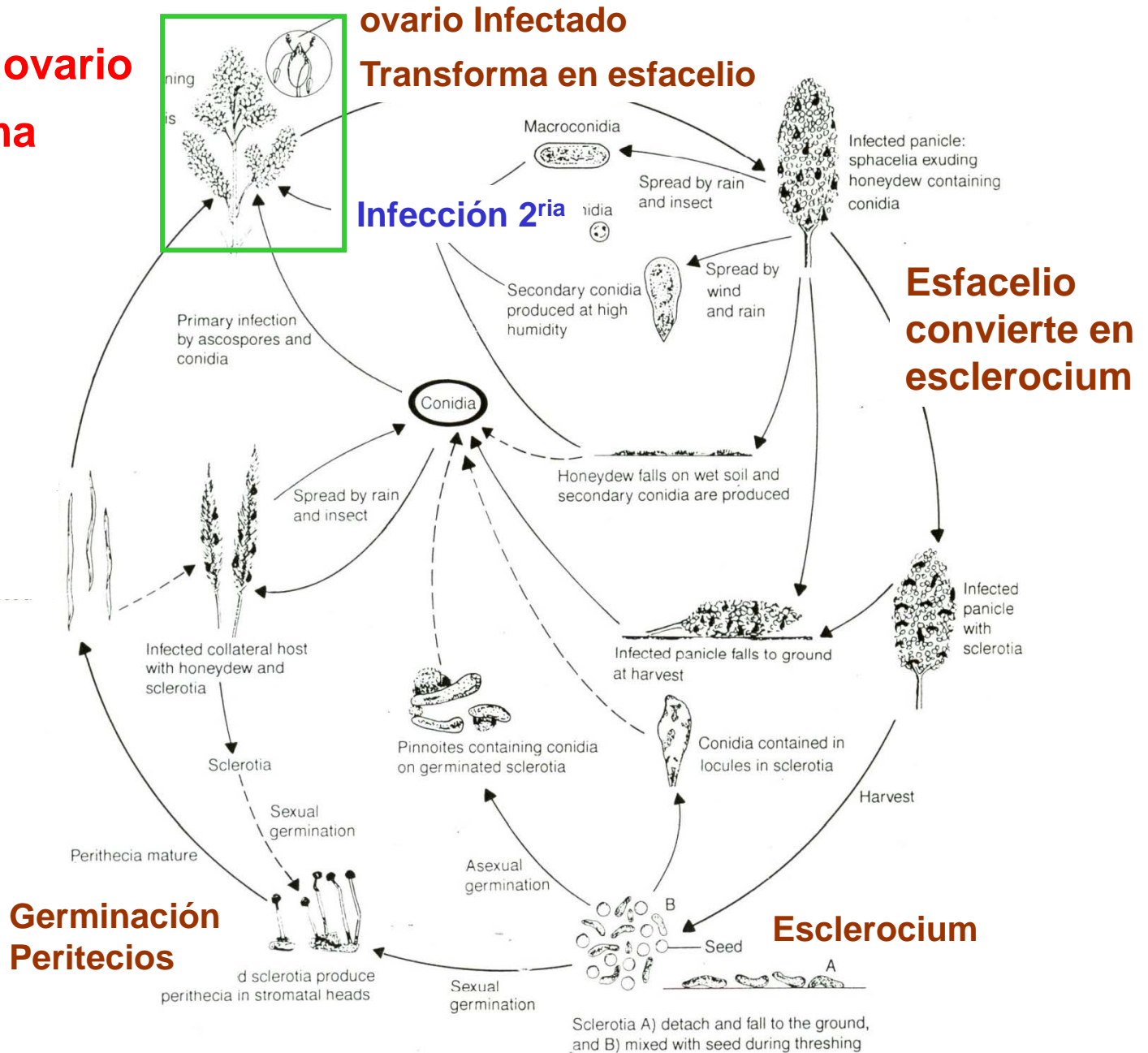


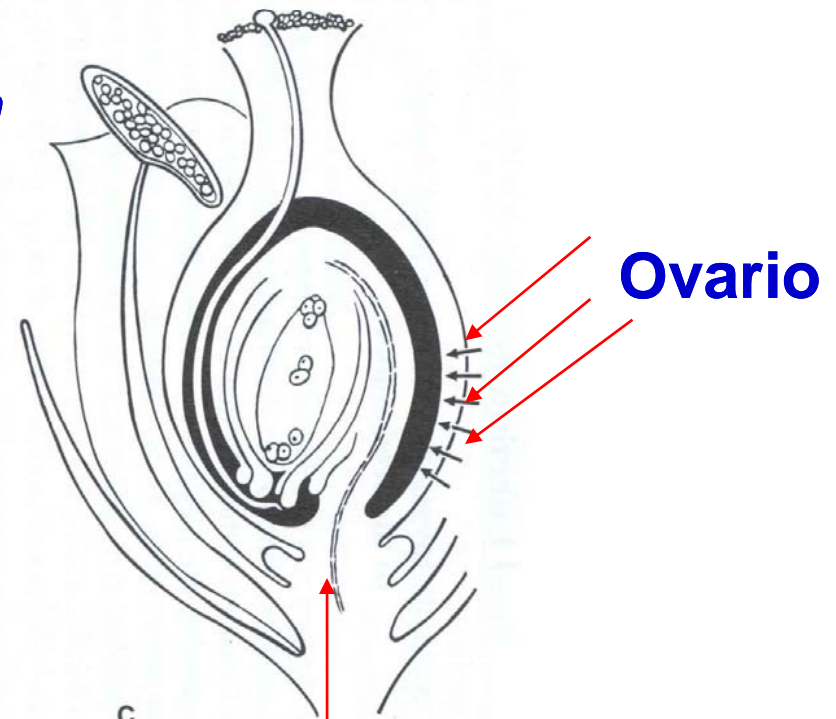
Fig. 12. Verified and unverified (distinguished by straight lines) phases of life cycle of sorghum ergot.

Taller Sanidad de Semillas

# Infección-Paredes

- Invasión directa estructuras florales
- Infectan semilla en desarrollo
- Penetran vía funículo u ovario
- Ejem: *Alternaria brassicicola*

## Pudrición cabeza



02/12/2010

Taller Sanidad de Semillas-  
CIMMYT

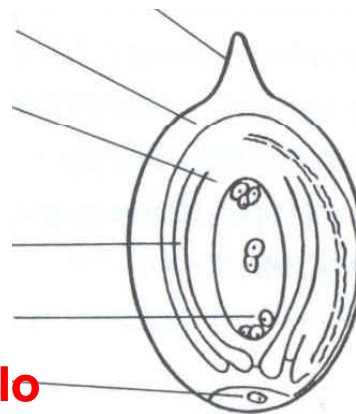
# Penetración a través



✓ **Cubierta de la Semilla grietas**

*C. kikuchi*, *C. sojina* – Frijol Soya

✓ **Aberturas naturales**



*P.s. lachrymans*  
**Pepino**

*X. c. pv. phaseoli*  
invade semilla a través de micropilo de vainas dañadas



**Micropilo**

Taller Sanidad de Semillas-

**Funículo** CIMMYT

02/12/2010



# Infestación o Contaminación

---

- **Infestación o Contaminación:**  
Asociación pasiva de un patógeno con la semilla
- **Estructuras de Patógeno:** adheridas o mezcladas con semilla
- **Ocurrencia:**  
Durante desarrollo de semilla, cosecha o postcosecha



# Infestación / Contaminación

---

- **Adherencia a la superficie:**

- ✓ Esporas
- ✓ Micelio
- ✓ Células bacteriales
- ✓ Partículas virales

- **Contaminación concomitante**

- ✓ Esclerocios
- ✓ Soros
- ✓ Agallas de nematodos
- ✓ Quistes de nematodos
- ✓ Restos de plantas infectadas
- ✓ Agregados de suelo infestados



## Adherencia Superficie Semilla



### ✓ Hongos

- T. controversa, T. indica* ----- Trigo  
*Tilletia barclayana* ----- Arroz  
*Alternaria brassicicola* ----- Crucíferas  
*F. o. f.sp. lycopersici* ----- Tomate

### ✓ Bacterias

- C. f. pv. flaccumfaciens* y *X. c. pv. phaseoli* ----- Frijol  
*P. s. pv. lachrymans* ----- Pepino  
*P. s. pv. tomate* y *X. c. pv. vesicatoria* ----- Tomate  
*X. c. pv. campestris* ----- Col

### ✓ Nemátodos

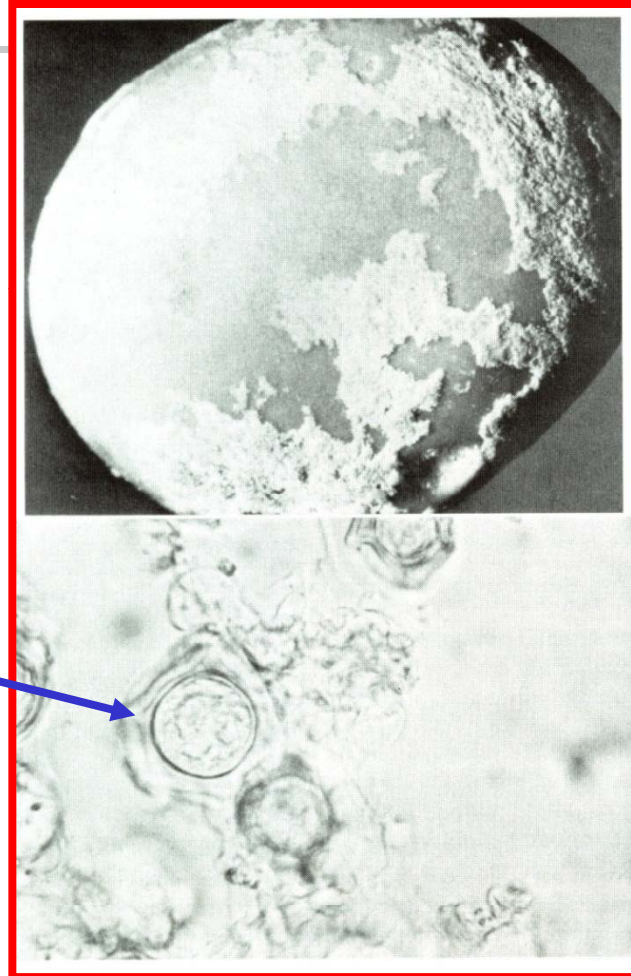
- Aphelenchoides besseyi* ----- Arroz  
*Ditylenchus dipsaci* ----- Cebolla, alfalfa

# Adherencia a superficie

## Downy mildew

- *Peronospora manshurica*  
Oosporas incrustadas en  
semilla de frijol soya

Oospora madura



# Estructuras sobre superficie



**Esporas o micelio**

02/12/2010

Taller Sanidad de Semillas-  
CIMMYT

# Contaminación Concomitante (CC)

## Mezcla de inóculo con la semilla

- **Estructuras Patógenicas:** trigo y pastos
  - ✓ Agallas: *A. tritici*, *A. agrostis*
  - ✓ Esclerocios: *C. purpurea*, *C. africana*
- **Restos de plantas infectadas:** Pedúnculo, restos tejido vascular: *C. michiganensis subsp. insidiosus* - alfalfa
- **Suelo:** Quistes de *Heterodera glycines* en agregados de suelo mezclados con semilla de soya, frijol común.

# Contaminación Concomitante

✓ **Claviceps purpurea**

✓ ***Anguina tritici***



**Agallas**



**Esclerocio**

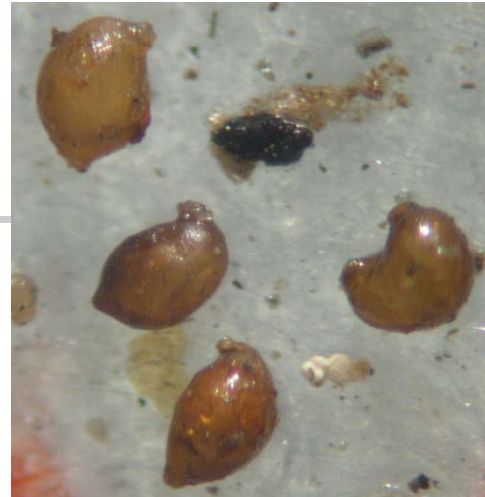
✓ ***A. agrostis***



Taller Sanidad de Semillas-  
CIMMYT



## Quistes – *Heterodera*



**Importancia Mecanismos de Infección**

**! Diseñar estrategias de control!**

---

## MECANISMOS DE INFECCION DE PATOGENOS TRANSMITIDOS POR SEMILLA

Ana María Hernández Anguiano-Profesor Investigador Titular  
Fitosanidad-Fitopatología  
Colegio de Postgraduados. Montecillo, México 56230  
(95) 5-20200 ext. 1610, 1083  
ahernandez@colpos.mx

Durante el desarrollo de las plantas estas pueden llegar a ser invadidas por diferentes microorganismos causantes de enfermedades a los que conocemos como fitopatógenos. Sin embargo, varios son los factores que determina el éxito de estos fitopatógenos para poder infectar la planta, y poder transmitirse de una generación de plantas a otra a través de la semilla. Entre estos factores se encuentran el ambiente, que debe ser favorable a la infección, el hospedero, que debe ser susceptible, el patógeno que debe ser virulento y el vector. La conjunción de estos cuatro factores, que conforman lo que conocemos como el tetrahedro de la enfermedad, es un evento raro en la naturaleza por lo que la probabilidad de tener infecciones exitosas en la naturaleza es muy baja.

### I. INFECCION DE LA SEMILLA

Por definición se dice que una semilla esta infectada cuando el patógenos se ha establecido dentro de cualquier parte de la semilla, ya sea interna o externamente. Los mecanismos que emplea el patógeno para infectar la semilla son diversos. Puede infectar sistémicamente, a través del sistema vascular y conexiones citoplasmáticas o directamente infectando flores, penetrando a través de la pared del ovario, cubierta de la semilla o de aberturas naturales.

A. Infección Sistémica vía tejido de la planta madre al embrión de la semilla

La gran mayoría de los virus, algunos hongos y pocas bacterias infectan a la semilla por este mecanismo. En el caso particular de los virus, la ruta es directa al gametofito femenino, afectando la célula madre de la megaspóra en etapas muy tempranas de su desarrollo. Conforme el óvulo se desarrolla, el paso posterior del virus se ve limitado por diferencias en la tasa de crecimiento del tejido endospermico y embrionario que lleva a la ruptura de las conexiones citoplasmáticas (plasmodesmos) de estos tejidos con la nucela. De los virus reportados a la fecha, aproximadamente 15 tienen la capacidad de infectar el embrión; entre estos tenemos a los virus Virus Mosaico de la lechuga en *Lactuca sativa* y Virus Mosaico de la Alfalfa en *Medicago sativa*.

Se cree que la infección por *Plasmopara halstedii* causante del mildiu del capítulo y semilla de girasol ocurre sistémicamente. El carbón apestoso (*Tilletia tritici*) del trigo, cebada y algunas especies de pastos invade los coleóptilos jóvenes produciendo un micelio que se desarrolla dentro del tejido de la plántula, avanza a medida que se desarrolla la planta y eventualmente invade las partes florales, reemplaza el tejido del ovario con teliosporas, las cuales permanecen cubiertas por el pericarpio intacto. Las masas de carbón son de forma similar a la de los granos normales, aunque usualmente más esféricas; cuando se aplastan, se liberan las teliosporas, contaminando el grano y el suelo. Cuando las teliosporas germinan, forman un promicelio con 8 a

16 basidiosporas, las cuales se fusionan en pares formando estructuras en forma de H y eventualmente desarrollan esporidias secundarias infecciosas las cuales inician de nuevo el ciclo de la enfermedad.

Son pocos los ejemplos de bacterias que pueden invadir el sistema vascular de las plantas, causar infección sistémica, y continuar por esta ruta hasta el tejido de la semilla sin la producción de síntomas externos de la enfermedad. Entre estos tenemos a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* y a *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* causantes del tizón común y pudrición negra, respectivamente.

#### B. Infección Sistémica Vía Estigma-Embrión de la Semilla

Este tipo de infección ocurre básicamente de la siguiente manera. Las estructuras infectivas de algunos patógenos, provenientes de plantas enfermas, son transportadas por el viento, la lluvia o insectos a las flores de plantas sanas. Una vez sobre los estigmas de las flores, estas estructuras germinan, penetran a través del tejido estilar, infectan el ovario y se establecen en la semilla en desarrollo. La infección por los hongos *Sclerospora graminicola* o *Claviceps fusiformis* en mijo perla (*Penisetum americanum*), *Botrytis antophila* en trébol rojo, *Ustilago nuda* y *U. tritici*, en trigo y cebada, respectivamente, ocurre principalmente a través de estigmas. Similarmente, en el caso de los virus y viroides que se transmiten por polen, la infección de la semilla ocurre cuando uno de los gametos masculinos infectados con partículas virales se fusiona con la célula huevo o con el núcleo polar. Algunos virus pueden alterar el desarrollo, la morfología o el vigor de los granos de polen, de tal forma que la infección de la semilla por el virus no tiene éxito. Como ejemplos de virus que se transmiten por polen están el Virus Mosaico Común del Fríjol,

Virus Mosaico estriado de la Cebada, y el Virus Mosaico de la Alfalfa, entre un número considerable de virus que se han reportado en la literatura.

#### C. Penetración a Través de las Paredes del fruto, Ovario y Cubierta de la Semilla

En este caso, el patógeno tiene la capacidad de penetrar directamente a través de los tejidos para infectar la semilla, ya sea que destruya el tejido conforme va invadiendo o que penetre posteriormente a través de aberturas naturales. Algunos patógenos como *Ascochyta pisi*, agente causal de la mancha de la hoja y vaina en chícharo, y *Alternaria brassicicola*, agente causal de la mancha negra de la hoja en crucíferas, invaden las estructuras florales directamente e infectan las semillas en desarrollo penetrando directamente vía funículo. Similarmente, *Rhizoctonia solani* puede invadir la semilla de pimiento y zinnia a través del funículo. Sin embargo una vez que se ha endurecido y sellado, el funículo deja de ser una avenida de entrada accesible para este tipo de patógenos.

Se tienen evidencias que la infección del embrión por los carbones en cebada y trigo ocurre por penetración directa de la pared del ovario. Por ejemplo, *Ustilago nuda* germina en la superficie del estigma u ovario, penetra la pared del ovario, atraviesa el parénquima pasando a través de los integumentos de la semilla hasta llegar al escutelo desde donde coloniza la mayor parte del embrión.

Algunas Bacterias como *Pseudomonas syringae* pv. *psidi* y *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* invaden vía la sutura dorsal de la vaina al funículo (hilum) y en algunas ocasiones vía el micrópilo de las semillas en chícharo y fríjol, respectivamente.

En el caso de frutos frescos como frutillas (Solanaceas) la ruta de invasión puede ser vía el cáliz



a la placenta y de la placenta vía el funículo a la semilla. El hongo *Phoma lycopersici*, estado asexual de *Didymella lycopersici*, y la bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infectan a través de esta ruta.

Hongos como *Botrytis allii* en cebolla, *Colletotrichum capsici* en pimiento y *C. dematium* f. sp. *spinaciae* en remolacha penetran directamente a través del tejido de la cubierta de la semilla y en ocasiones cuando las infecciones son tempranas y severas el patógeno llega a colonizar los tejidos internos incluyendo los cotiledones.

#### D. Penetración a Través de Aberturas Naturales y Heridas

Varias son las especies de hongos y bacterias que toman ventaja de la presencia de aberturas naturales y heridas para infectar la semilla. Por ejemplo, *Cercospora sojina*, penetra a través de poros y grietas en la semilla de soya; *Alternaria sesamicola*, penetra a través del hilum de semillas de ajonjolí; *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* invade a través del micrópilo de semillas de frijol; *Erwinia hervicola* invade a través de estomas las semillas de arroz; similarmente, *Pseudomonas syringae* pv. *japónica* invade las semillas de trigo y cebada vía estoma-funículo.

## II. INFESTACIÓN DE LA SEMILLA O CONTAMINACIÓN

Los términos infestación y contaminación se refieren a la asociación pasiva de un patógeno con la semilla. La infestación o contaminación por estructuras del patógeno puede ocurrir durante el desarrollo de la semilla, durante la cosecha, o después de la cosecha. Entre las estructuras del patógeno que pueden infestar o contaminar las semillas se encuentran esporas fungales, como, clamidosporas,

oosporas, teliosporas, urediosporas; células bacteriales; y, partículas virales. La infestación o contaminación de la semilla puede ser en una de las siguientes formas.

#### A. Adherencia de los Patógenos a la Superficie de la Semilla

Estructuras como esporas de hongos, células bacteriales y partículas virales se adhieren a la superficie de la semilla durante su desarrollo o durante la cosecha, el acondicionamiento o el almacenamiento. La lista de patógenos contaminantes de la cubierta de las semillas es muy grande. Como ejemplo de patógenos contaminantes, de importancia cuarentenaria tenemos a los hongos *Tilletia controversa* y *T. indica*, en semillas de trigo, *T. barclayana* en arroz, *Alternaria brassicicola* en semillas de crucíferas, *Sclerophthora macrospora* en mijo y *Urocystis agropyri* en semilla de trigo. Algunas bacterias como *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* en frijol, *P. s.* pv. *lachrymans* en pepino, *P. s.* pv. *tomato* en tomate, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* en col y *X. c.* pv. *vesicatoria* en tomate y *X. c.* pv. *phaseoli* en fríjol también se han reportado como contaminantes de la semilla. Similarmente se han encontrado como contaminantes a los nematodos *Aphelenchoides besseyi* en arroz, y *Ditylenchus dipsaci* en cebolla y alfalfa.

#### B. Contaminación Concomitante de la Semilla

El término contaminación concomitante se utiliza para referirse a la mezcla de inoculo del patógeno con la semilla. El inoculo es en forma de propágulos como esclerocios, agallas de nematodos, restos de plantas infectadas, grumos o partículas de suelo infestado.

### 1. Estructuras patogénicas

Las agallas de *Anguina tritici* y *Anguina agrostis* pueden estar mezcladas con las semillas de trigo o pasto respectivamente. Los esclerocios de *Claviceps purpúrea* pueden estar mezclados con las semillas de trigo

### 2. Restos de plantas infectadas

El pedúnculo y el tejido vascular de frutos y semillas de tomate pueden estar infectados con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Este patógeno puede ser acarreado sobre la cubierta de la semilla, embebido en residuos de la pulpa adherida a la superficie de la semilla o bien en restos de la misma planta mezclados con la semilla. También las semillas de alfalfa pueden venir mezcladas con restos de plantas de alfalfa, los cuales pueden estar contaminados con *Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus*.

### 3. Suelo

Quistes de *Heterodera glycines* pueden estar embebidos en grumos de suelo los cuales se forman durante la cosecha; estos grumos, pueden venir mezclados con semilla sana de soya.

## Referencias

Agarwal, V. K. and J. B. Sinclair. 1997. Principles of Seed Pathology. Second edition. CRC LEWIS. 539 p.

Neergaard, P. 1979. Seed Pathology. The Macmillan Press LTD. Vol. I, II.

Maude, R. B. 1996. Seedborne Diseases and Their Control: Principles and Practice. CAB International. 280 p.

NORMA Oficial Mexicana NOM-013-FITO-1995, Por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del arroz.

NORMA Oficial Mexicana NOM-017-FITO-1995, Por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del trigo Y TRITICALE.

NORMA Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995, Por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas del maíz.

PROYECTO DE NORMA Oficial Mexicana PROY-NOM-029-FITO-2001. Requisitos y especificaciones fitosanitarios para semillas para siembra, de importación. Ver4-2002

Zillinsky, F. J. 1984. Enfermedades comunes de los cereales de grano pequeño: Una guía para su identificación. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT, El Batán, México. 140 p.

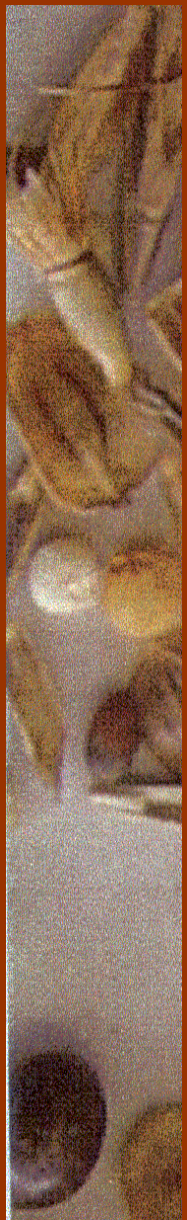


# Transmisión de Patógenos por Semilla

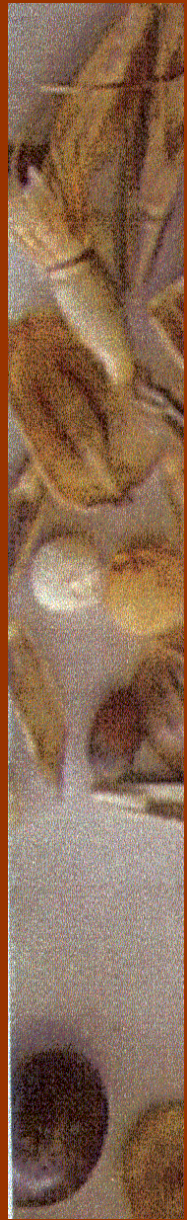
Ana María Hernández Anguiano  
Profesor Investigador  
Colegio de Postgraduados



*C. africana*



**Las semillas representan un medio propicio e importante para la transmisión de enfermedades ocasionadas por microorganismos.**



- **Cerca del 90% de los cultivos se propagan por semilla.**
- **Pérdidas considerables por patógenos con origen en la semilla.**
- **Perdidas directas: reducción de la producción o calidad del cultivo**
- **Pérdidas indirectas: costos para establecimiento de medidas de control.**

- **Transmisión por semilla.**- Paso de inóculo de una semilla infectada/infestada a la planta.
- **Patógeno Transmitido por Semilla** (seed-transmitted pathogen).- Patógeno que esta infectando/infestando a la semilla y se transmite a la plántula/planta.
- **Patógeno no Transmitido por Semilla** (nonseed-transmitted pathogen).- Patógeno que esta infectando/infestando a la semilla pero no se transmite a la plántula/planta.

- **Transmisión sistémica.** Cuando la semilla infectada o infestada germina da origen a una planta que esta infectada sistémicamente y desarrolla síntomas en algún estado de su desarrollo.
- **Transmisión no sistémica.-** Es muy común y resulta de la infección o infestación superficial. Cuando la semilla germina origina una planta infectada localmente.
- **Necrotrófico:** organismo que se alimenta de tejido orgánico no vivo.
- **Biotrófico:** organismo que puede vivir y multiplicarse solamente en otro organismo vivo.



# Localización patógeno

Patógeno	Estatus	Localización
Virus	Biotrófico	Eje embrionario (mayoría spp), ocasionalmente testa y endospermo
Hongos	Biotróficos	Eje embrionario (mayoría carbones)
	Necrotróficos	Superficiales: testa/pericarpio (mayoría spp); eje embrionario
Bacterias	Necrotróficos	Similar a H necro casi ninguna en eje embrionario



- **Biotróficos: Infección sistémica**
- ✓ **Semilla contaminada: *T. tritici* , *T. controversa***
- ✓ **Pericarpio o cubiertas infectadas:**  
Tobacco mosaic tobamovirus
- ✓ **Eje embrionario infectado: BSMV, *T. tritici***
- ✓ **Eje embrionario o cubierta de la semilla**
- ***X. campestris* pv. *campestris* en repollo- Estomas cotiledonares**
- ***X. campestris* pv. *vesicatoria* en pimiento**
- ***X. campestris* pv. *phaseoli* en frijol.**

Durante la germinación, la bacteria entra a través de grietas en la cutícula del cotiledón, se mueve intercelularmente, y entra en el sistema vascular invadiendo sistémicamente la plántula.

- **Necrotróficos:** Infección sistémica ó local.
- ✓ **Semilla contaminada. La transmisión es por contacto**
  - Alternaria brassicicola* - repollo. Contacto de cotiledones con cubierta de la semilla.
  - Aphelenchoides besseyi*- arroz. Larvas inmaduras, preadultas se localizan debajo de la cascarilla.
- ✓ **Semilla infectada:**
  - Pericarpio: *A. brassicicola* - repollo
  - Cubiertas: *X. c. pv. phaseoli* (debajo de la testa) – frijol
  - Cercospora kikuchi* - soya
  - C. sojina*- soya
  - Endospermo: *Pantoea stewartii* – maíz
  - Semilla de cebolla – *D. dipsaci*. Sobrevive en la semilla como preadulto o cuarto estadio larvario (IV St. I.) En condiciones favorables, las larvas se activan e infectan la plántula a través de la radícula en donde se transforman en adultos. El IV St. I. de la siguiente generación se congrega en los puntos de crecimiento, invade la inflorescencia, y se establece dentro de la semilla.

- Organismos acompañantes. Infección local. Estructuras de resistencia como agallas y esclerocios se encuentran mezclados con la semilla. Generalmente, la **transmisión es indirecta.**
- ✓ **Esclerocio**  
*Claviceps purpurea*, - Los esclerocios en el suelo germinan después de recibir un estímulo de frío, producen ascocarpos de los cuales se liberan ascosporas que infectan a la planta.
- ✓ **Agallas**  
*Anguina tritici* – trigo  
*A. agrostis* - pastos



## **Alfalfa Mosaic Virus en semilla de alfalfa:**

**Semillas infectada - 24 %**

**Plántulas infectadas– 16% ?????**

**> incidencia en cubierta**

- **Tasa depende de:**

**a) Tipo de inóculo en semilla :**

- ✓ **Micelio, Conidios**
- ✓ **Esporangios, Oosporas**

**Ejemplo-Downy mildew:**

**Oosporas resisten desecación durante maduración de semilla y almacenamiento.**

**Micelio, conidios y esporangios pueden no tolerar la deshidratación y almacenamiento prolongado.**

- Tasa depende de:

**b) Tejido infectado:**

- ✓ Testa, Endospermo, Embrión

**Ejem.- Barley Stripe Mosaic Virus en Cebada**

**Transmisión solo cuando virus esta infectando embrión.**

**d) Genotipo del cultivo:**

**e) Patógeno**

**f) Factores ambientales:**

**T°, Humedad, pH, luz etc.**

**g) Microflora presente en superficie de semilla o suelo**



**Bandeado necrótico**



# Implicaciones Biológicas y Adaptativas

- **La semilla permanece viable más tiempo que los propágulos vegetativos.**
- **La semilla provee la máxima oportunidad para la infección de la progenie.**
- **Facilita la dispersión de un patógeno a grandes distancias.**



## Implicaciones ...Continuación

- **La semilla introduce al patógeno al azar en un campo y provee numerosos focos de infección primaria.**
- **Ejemplo: si en 250,000 semillas por hectárea (25 semillas/m<sup>2</sup>) el 0.1% se encontrara infectada esto resultaría en 250 plantas/ha infectadas.**
- **Las plantas infectadas quedan distribuidas al azar y se convierten en fuentes potenciales de inóculo.**



## Criterios transmisión por Semilla

- No hay otras fuentes alternativas del patógeno
- No hay vectores presentes
- Utilizar suelo natural, no esterilizado o tratado, Semillas “sanas”



- **Importancia:**

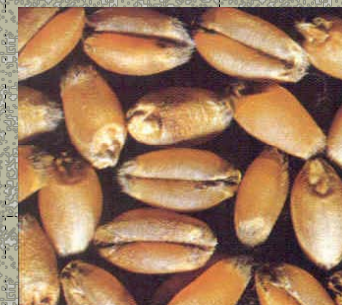
- ✓ A nivel comercial, permite establecer medidas regulatorias. Ejem., *P. stewartii*



- ✓ En manejo, permite establecer acertadas estrategias de control. Ejemplo, *A. agrostis*



- ✓ Uso, determinar el destino final de la semilla. Ejemplo, *T. indica*



## TRANSMISIÓN DE PATÓGENOS POR SEMILLA

Ana María Hernández Anguiano-Profesor Investigador Titular  
Fitosanidad-Fitopatología  
Colegio de Postgraduados. Montecillo, México 56230  
(95) 5-20200 ext. 1610, 1083  
**ahernandez@colpos.mx**

### I. Introducción

Las semillas representan un medio propicio e importante para la transmisión de enfermedades ocasionadas por microorganismos. La transmisión por semilla es un proceso complejo, pero se puede resumir como “el paso de inóculo de una semilla infectada o infestada a la plántula y a la planta”.

Los mecanismos de transmisión por semilla varían de acuerdo con el hospedante y el patógeno y están gobernados por la asociación específica huésped-patógeno. Diversos factores afectan la transmisión exitosa por semilla y el establecimiento de la infección en el cultivo. El conocer los mecanismos de transmisión de un patógeno nos permite establecer acertadas estrategias de control de enfermedades en las plantas.

### II. Terminología

**Transmisión por Semilla.**- Paso de un patógeno que se encuentra infectando o infestando a la semilla a la plántula y a la planta.

**Patógeno Transmitido por Semilla** (seed-transmitted pathogen).- Patógeno que es transmitido por semilla y causa enfermedad en la plántula o planta.

**Patógeno no Transmitido por Semilla** (nonseed-transmitted pathogen).- Patógeno que está infectando o infestando a la semilla pero que no se transmite a la plántula y no causa enfermedad en la planta.

**Transmisión sistémica.** Cuando la semilla infectada o infestada germina da origen a una planta que está infectada sistémicamente y desarrolla síntomas en algún estado de su desarrollo.

**Transmisión no sistémica.**- Es muy común. Cuando la semilla infectada o infestada, o cuando se encuentra mezclada con propágulos del patógeno (contaminación concomitante), germina da origen a una planta que está infectada localmente y desarrolla síntomas en algún estado de su desarrollo.

### IV. Significado de la Transmisión por Semilla

#### 1. *Implicaciones biológicas y adaptativas*

- a) Las semillas permanecen viables más tiempo que los propágulos vegetativos. Para la gran mayoría de las bacterias fitopatógenas la semilla es la principal o más importante vía de sobrevivencia y transmisión.
- b) La íntima asociación del hospedero y el patógeno en la semilla en el espacio y el tiempo provee la máxima oportunidad para la infección de la progenie.

- c) Por las razones a) y b) la dispersión de un patógeno a grandes distancias se facilita mas que con la asociación patógeno-propágulo vegetativo.
- d) Una raza de patógeno con marcada virulencia para una variedad de hospedante es preferencialmente seleccionada en el campo de producción de semilla.
- e) La transmisión por semilla introduce un patógeno al azar en un campo y provee numerosos focos de infección primaria.

## 2. Significado de la transmisión por semilla en una área de plantación

El efecto del ambiente o la importancia económica del cultivo no se toman aquí en consideración.

- a) El patógeno está presente en el área y no se encuentra infestando el suelo.
- b) El patógeno está presente en el área y es capaz de infestar el suelo por periodos cortos; ejemplo, *X. campestris* en repollo, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* en fríjol.
- c) El patógeno está presente en el área y se encuentra infestando el suelo o se ha establecido en hospederos persistentes (malezas) mas o menos permanentemente.
- d) El patógeno es nuevo en el área y no se encuentra infestando el suelo.
- e) El patógeno es nuevo en el área y es capaz de infestar el suelo por periodos cortos o hasta que el hospedante se descomponga.
- f) El patógeno es nuevo en el área y es capaz de infestar el suelo o llegar a establecerse en hospederos persistentes. ESTE ES EL MAS PELIGROSO

## V. Frecuencia de la Transmisión por Semilla y Niveles de Tolerancia

Es importante conocer la frecuencia de la transmisión de patógenos por semilla para determinar los niveles de inóculo permitidos o tolerados en un lote de semillas y poder establecer medidas de control. Los niveles de inóculo son más estrictos en semilla registrada en comparación con los niveles establecidos en semilla certificada. Los niveles de tolerancia permitidos, de semilla infectada o infestada, en un lote dado de semilla varían ampliamente y dependen de la importancia del cultivo y la prevalencia del patógeno en un país dado.

Los niveles de inóculo tolerados se determinan basándose en:

- a. Las características del patógeno
- b. La relación de la semilla con el patógeno
- c. La relación entre la población del patógeno en el cultivo y la incidencia de la enfermedad que se puede desarrollar en campo.

En el caso del tizón de halo del fríjol, la vena negra de las crucíferas y la marchites del tomate, que son enfermedades extremadamente peligrosas, los niveles de tolerancia son tan estrictos que solo se permite una semilla infectada en un lote de 10,000 semillas. Para que estas enfermedades puedan ser controladas efectivamente se requiere cero tolerancia. *P. phaseolicola* causa severas epidemias en campos de fríjol en Wisconsin cuando se siembran 12 semillas infectadas por acre (4047 m<sup>2</sup>). Se ha encontrado también que una semilla infectada en un lote de 10,000 semillas puede ser suficiente para que *X. phaseoli* provoque una epifitía en fríjol

Entre más grande es la tasa potencial de dispersión de un patógeno, más importante se hace la transmisión por semilla.

Un pequeño número de plantas enfermas puede ser difícil de detectar y no tener importancia económica en campos de producción de semilla; sin embargo, debido a la alta tasa de incremento o dispersión (i.e. tiempo de generación, y calidad de inóculo producido) de un patógeno que se encuentra infestando o infectando semillas, aleatoriamente distribuidas en el campo de cultivo, pueden producir pérdidas económicas significativas.

Generalmente en semillas comerciales bien acondicionadas menos del 5% están infectadas por un patógeno dado, pero ocasionalmente la infección puede ser más mayor. Por ejemplo, *Corynebacterium michiganense* puede estar presente en menos del 1% en semilla de tomate y *X. carotae*, en 4.3% en semilla de zanahoria.

En la actualidad existen algunas pruebas rápidas para determinar si un patógeno se transmite por semilla; por ejemplo, para determinar si un lote de semilla de leguminosas está infectado con bacterias patógenas se recomienda la siguiente prueba:

Prueba de inoculación:

1. Tomar una muestra de 200 semillas
2. Desinfectar superficialmente con 2.5% de hipoclorito de Sodio (NaOCl) por 10 min.
3. Sumergir la semilla desinfectada en 1 o 2 L de agua destilada esterilizada e incubar a 20°- 22°C por 36 h.
4. Inocular sobrenadante en nudos de hojas primarias de fríjol de 10 días de edad.
5. Registrar síntomas de la enfermedad durante las 2 primeras semanas después de la inoculación.

## **VI. Criterios para demostrar la Transmisión por Semilla**

Para demostrar que un patógeno se transmite por semilla se deben establecer pruebas experimentales. Estas deben establecerse en suelo natural, libre del patógeno, con semilla limpia y sin fuentes alternativas del patógeno, ni vectores presentes. Cuando hay vectores implicados, las pruebas de transmisión se deben realizar en su ausencia.

## **VII. Producción de Semilla o de Cultivo**

La importancia de la transmisión de patógenos por semilla también depende del uso posterior del lote de semilla; por ejemplo, de si el lote va a ser utilizado para producción de semilla o para cultivo ( i.e. lote cuyo producto comercial es diferente a la semilla). Las pérdidas ocasionadas por una enfermedad transmitida por semilla pueden

ser severas en campos de producción de semillas pero desconocidas o de poca importancia en campos de producción de cultivos.

Independientemente de que los lotes de semillas sea destinados para producción de semilla o de cultivos, la transmisión de patógenos de la semilla a la planta es de suma importancia y las practicas de control enfocadas a su prevención o eliminación se deben de considerar, por ejemplo, el uso de semilla libre de patógenos viables obtenidas a través de procedimientos de certificación, (inspección de la semilla en el campo, indexación de la semilla), separación, tratamiento químico o tratamiento con ácidos (*C. michiganense* en tomate).

### **VIII. Anatomía de la Semilla con relación a la Transmisión de Patógenos**

Como resultado de la relación íntima de la estructura y ontogenia de la semilla con la infección y transmisión de fitopatógenos, la patología de semillas necesariamente involucra la anatomía de semillas.

Aunque hay una gran variación en los detalles anatómicos entre las semillas, existe un gran número de características generalizadas en la transmisión de patógenos por semilla.

**El óvulo** (el cual posteriormente se va a transformar en la semilla) se diferencia de la placenta del ovario a la cual esta unido por el funículo.

**Los integumentos.-** Son las capas más exteriores del óvulo que encierran a la nucela y al tejido meristemático central el cual da origen a la megaspora.

Las cubiertas de las semillas pueden contener conexiones vasculares y estas pueden ser extensivas en algunas semillas. Ejemplos, semillas de frijol, lechuga, algodón. lino, frijol castor, apio, tomate, y cucurbitáceas.

Las semillas formadas de óvulos anátropos o hemitropos tienen mucho tejido vascular lo que las hace poseer sitios particularmente favorables para la transmisión interna de patógenos vasculares.

Las semillas formadas de **óvulos atropos o campilotropos** contienen menos tejido vascular interno debido a que la mayor parte de el esta confinado al funículo.

Existen varias aberturas a través de las cuales los microorganismos pueden penetrar dentro de la semilla.

1. Hillum o punto de abscisión.- Altamente absorbente de agua y provee un punto favorable para la entrada de bacterias, o un sitio protector para la transmisión de ellas.
2. Micropilo.- Normalmente durante el crecimiento del tejido se encuentra cerrado, y rara vez es un punto favorable de infección.
3. Cuarteaduras en la cubierta de la semilla.- Provocadas durante el acondicionamiento o por exceso de agua provee un sitio ideal para las bacterias.

Las semillas formadas dentro de frutos se desarrollan en una atmósfera saturada de humedad hasta la maduración por lo que cualquier microorganismo que gane acceso a tales cámaras se puede dispersar rápidamente, y causar pudrición o infección de todas las semillas contenidas en ella; por ejemplo, *P. s. pv. phaseolicola* en vainas de frijol.

**Conexiones vasculares** entre planta madre y óvulo o semilla. En general a mayor cantidad de conexiones vasculares mayor probabilidad de infección del embrión. Esto es particularmente cierto para enfermedades ocasionadas por bacterias las cuales atacan más frecuentemente a las leguminosas y gramíneas. Las bacterias deben infectar a la planta

madre antes de que ocurra la fertilización ya que después de esto las conexiones vasculares no funcionan.

### **IX. Factores que Afectan la Transmisión de Patógenos por Semilla**

Entre estos se encuentran el periodo en el cual ocurrió la infección de la semilla, las condiciones del almacenamiento de la semilla, las características innatas de cada patógeno y la relación que han establecido con su hospedante

También afectan el ambiente (temperatura, humedad, lluvia, luz, viento), las características del hospedero (susceptibilidad, resistencia) y del patógeno (patogenicidad i.e capacidad de infectar; agresividad, capacidad de multiplicarse, densidad de inóculo, estado de desarrollo, capacidad de dispersión) entre otras.

### **XI. Literatura consultada**

Rangarajan M. and Charavarti, B. P. 1970. Bacterial stalk rot of maize in Rajasthan, effect on seed germination and varietal susceptibility. Indian Phytopatol. 23:470

Bain, D. C. 1951. Observations on resistance to black rot in cabbage. Plant Dis. Rep.35:200

Dos Marques, A. S., Parent, P. M., Machado, F. O.C., and Santana, C. R. 1994. Screening of inoculation methods to produce bean seeds contaminated with *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* for experimental purposes. Fitopatol. Brasileria. 19:178

**Intercambio seguro de semilla alrededor  
del mundo con atención a la presencia  
involuntaria de los OGM**

## MAÍZ

2 ciclos de mejoramiento en invierno

3 ciclos de mejoramiento en verano

## TRIGO

1 ciclo de mejoramiento en invierno

2 ciclos de mejoramiento en verano





**CANTIDAD de SEMILLA PREPARADA  
ANUALMENTE:**

MAÍZ ~ 4 t

TRIGO ~ 8 t

**DISTRIBUIDA**  
**con fines experimentales**  
**sin fines de lucro**  
**aceptando las directrices del**

*Tratado Internacional sobre los  
Recursos Fitogenéticos para la  
Alimentación y la Agricultura (FAO)*



## **RIESGOS INVOLUCRADOS CON EL INTERCAMBIO DE SEMILLA**

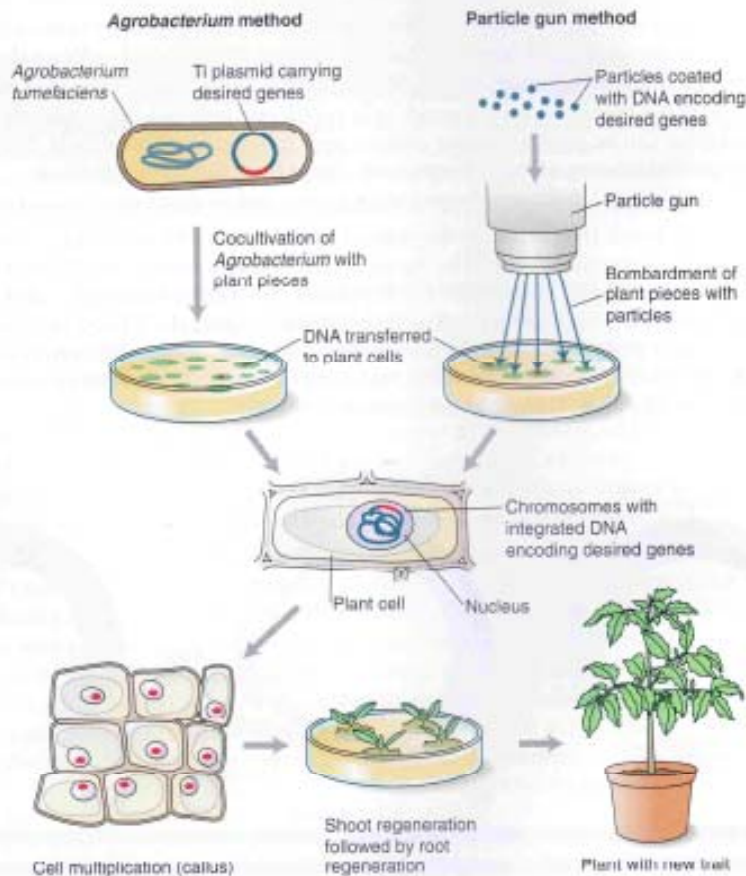
1. Distribución de semilla que lleve patógenos de importancia cuarentenaria (regulados)
2. Distribución de semilla que lleve patógenos sin importancia cuarentenaria (no regulados)
3. Introducción de semilla que lleve patógenos de importancia cuarentenaria (regulados)
4. **Introducción involuntaria de transgenes**

LEY DE BIOSEGURIDAD DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS  
DOF 18-03-2005

Artículo 3:

**XXI. Organismo genéticamente modificado:**

Cualquier organismo vivo, con excepción de los seres humanos, que ha adquirido una combinación genética novedosa, generada a través del uso específico de técnicas de la biotecnología moderna que se define en esta Ley, siempre que se utilicen técnicas que se establezcan en esta Ley o en las normas oficiales mexicanas que deriven de la misma.



**Figure 6.17 Schematic representation of two different ways to create transgenic plants.** In the *Agrobacterium* method (left), the biologist inserts DNA carrying the desired genes into the tumor-inducing (Ti) plasmid of the bacterium, and when the bacterium infects a wounded tissue, it transfers this DNA to a cell nucleus and integrates it into the chromosome. In the particle gun method, metal particles coated with DNA become integrated into the plant chromosome. When a new plant regenerates from a single transformed cell, all the cells in the plant carry the new genes. Source: Adapted from "Transgenic Crops" by C. S. Gasser and R. T. Fraley, *Scientific American*, June 1992. Copyright 1992 by Scientific American, Inc. All rights reserved.

## OGM de maíz

- 1<sup>era</sup> generación:
  - resistencia a enfermedades, insectos, productos químicos
- 2<sup>nda</sup> generación:
  - características de tipo nutricional
- 3<sup>era</sup> generación:
  - uso farmacéutico e industrial

## REGULACIONES NACIONALES

- ▶ LEY de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, 18 de marzo 2005
- ▶ REGLAMENTO a Ley de Bioseguridad, 18 de marzo 2008
- ▶ DECRETO por el que se reforman, adicionan y derogan diversas disposiciones del Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, 6 de marzo 2009
- ▶ LEY Federal de Sanidad Vegetal, 5 de enero 1994, reformada 26 de julio 2007
- ▶ Norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 (=ISO/IEC 17025:2005) *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración*

## LINEAMIENTOS y PROCEDIMIENTOS del CIMMYT

- ▶ Lineamientos y procedimientos para el manejo seguro en los laboratorios
- ▶ Comité de Bioseguridad y Bioética en operación desde 1996
- ▶ Conforme con las regulaciones nacionales

# Preguntas críticas

- ▶ ¿De qué cultivo se trata y como se propaga?
- ▶ ¿Porque existe rechazo?
- ▶ ¿Cuáles genes detectar?
- ▶ ¿Cuál es el nivel de detección que se requiere?
- ▶ ¿Probabilidad estadística de detección?
- ▶ ¿Tamaño de la muestra a escoger?
- ▶ ¿Qué técnica utilizar?
- ▶ ¿Quién debería realizar la detección?

## **Lineamientos y procedimientos internos supervisados por el Comité de Bioseguridad**

- ▶ Evaluación de riesgos y beneficios
- ▶ Evaluación de los proyectos en biotecnología
- ▶ Manejo seguro de las actividades en los laboratorios de fitopatología, fisiología, biología molecular e ingeniería genética
- ▶ Manejo seguro de las actividades en los invernaderos de bioseguridad
- ▶ Aplicación de la regulaciones nacionales e internacionales en bioseguridad
- ▶ Operación en las estructuras de bioseguridad
- ▶ Desarrollo de actividades de entrenamiento en temas de bioseguridad del personal del CIMMYT

## **Hechos que llevaron el CIMMYT a establecer lineamientos de Bioseguridad**

- ▶ Desde 2001 hasta la fecha publicación de varios informes de presencia de transgénicos en los maíces sembrados en ciertas zonas de México.
- ▶ Desde 2002 algunos países empezaron a requerir una declaración de libre de transgénicos que acompañara la semilla procedente de CIMMYT, México (a la fecha 20 países exigen dicha declaración).
- ▶ Desde octubre de 2009 presencia autorizada de maíz transgénico en los campos de México



# ***Lineamientos del CIMMYT para la detección de la presencia no intencional de trasgenes***

**2003** Primera versión

**2008** Versión actual publicada en la pagina de la red

<http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/>

**Crop Genebank Knowledge Base – Sistem-wide Genetic Resources Program – Consultative Group for International Agriculture Group**

## **Desde 2004 aplicación de los lineamientos de control y detección a**

- Todas las introducciones de maíz de países donde se utilizan transgénicos en campo
- Monitoreo de las estaciones experimentales mediante la siembra de parcelas trampa
- Monitoreo de los lotes de regeneración de las accesiones del banco de germoplasma

<b>Germplasma</b>	<b>Protocolo</b>	<b>Método de detección realizado por laboratorio externo</b>	<b>Acción en caso de resultado positivo</b>
“ <b>CAJAS NEGRAS</b> ”: Semilla almacenada para conservación	No sale al campo	Ninguno	
<b>Accesiones</b> almacenadas antes de 1996 y después	Parcelas trampas en las estaciones y en los lotes de regeneración	PCR	Dependiendo del material: <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Destrucción de toda la semilla procedente de los lotes regeneración</li> <li>➤ Análisis de todas las accesiones del lote de regeneración antes de almacenar</li> </ul>
<b>Líneas</b> en proceso de mejoramiento	Parcelas trampas en las estaciones	PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Análisis de semilla de cada lote de mejoramiento</li> <li>➤ Ninguna material se incluye en ensayos para distribución</li> <li>➤ Ninguna línea entra al banco</li> </ul>
<b>Introducciones</b>	Muestreo individual de cada planta sembrada antes de floración (muestreo tipo <i>censo</i> )	PCR	Destrucción de todas la plantas que constituyen la introducción

## RESULTADOS

- Hasta la fecha no se ha detectado la presencia de transgenes en los materiales del CIMMYT
- No se ha detectado ninguna introducción de semilla positiva a la presencia de transgenes
- Costo anual de la aplicación de los lineamientos: USD 100,000



**GRACIAS!**



For further information: [m.mezzalama@cjar.org](mailto:m.mezzalama@cjar.org)