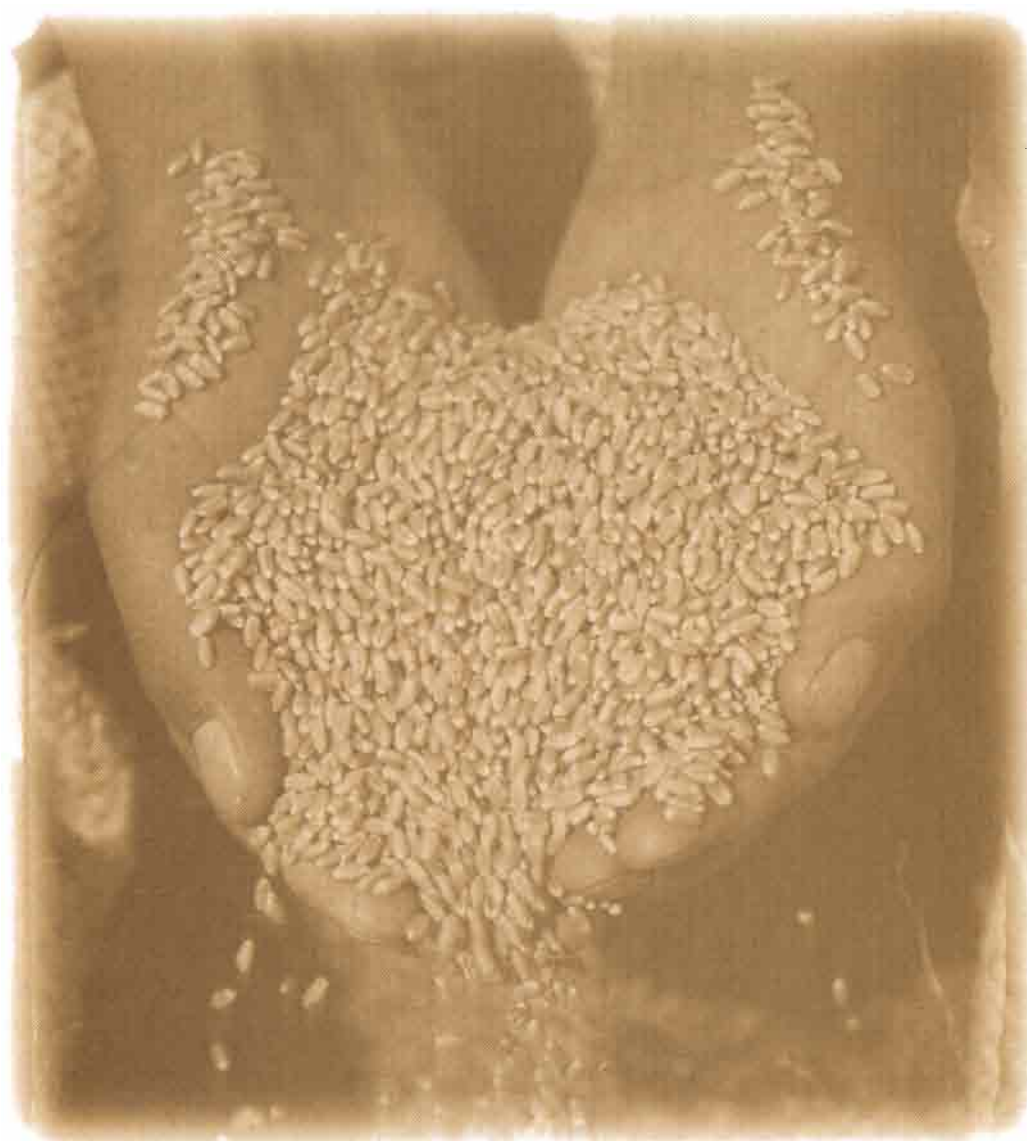


# SANIDAD DE SEMILLAS:

## REGLAS Y NORMAS PARA EL DESPLAZAMIENTO SEGURO DE GERMOPLASMA

M. Mezzalama, L. Gilchrist y A. McNab

Unidad de Sanidad de Semillas



 **CIMMYT**<sup>®</sup>

CENTRO INTERNACIONAL DE MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO

**Sanidad de semillas:  
Reglas y normas para el desplazamiento seguro  
de germoplasma**

**M. Mezzalama, L. Gilchrist y A. McNab**

Unidad de Sanidad de Semillas

# Normas fitosanitarias para semilla que llega a México

## Documentación requerida

Las autoridades mexicanas en materia de sanidad vegetal disponen que se otorgue un permiso a toda parte (empresa pública o privada u organismo internacional) que pretenda importar semilla o material vegetal a México, con cualquier propósito.

## Permisos normales para semilla que ingresa a México

El 18 de julio de 1989, el gobierno mexicano reconoció al CIMMYT como un centro internacional con privilegios diplomáticos. No obstante lo anterior, el CIMMYT no está exento de la aplicación de las leyes fitosanitarias relativas a la importación de semilla.

La autoridad fitosanitaria de México, la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), decretó el 4 de diciembre de 1997 que el CIMMYT deberá solicitar un permiso para importar a México semilla de trigo, triticale, cebada o maíz. La solicitud del permiso de importación deberá acompañarse de referencias bibliográficas que sustenten la presencia de todos los patógenos transmitidos por semilla en el país de origen de la semilla.

Por lo general, obtener un permiso de importación normal tarda de 2 a 3 semanas, y después de su emisión tiene una vigencia de seis meses. Una vez que se obtenga el permiso de importación, el CIMMYT enviará una copia al cooperador que exportará la semilla. Es muy importante que se sigan estrictamente las instrucciones de los procedimientos de importación correspondientes para asegurar que la operación se realice sin contratiempos. En caso de que falte algún documento, se destruirá toda la remesa sin devolución de los impuestos y derechos por dicho trámite.

Los siguientes documentos deberán acompañar la semilla que se importará a México (cf. Apéndice):

- ◆ Copia del permiso de importación otorgado por el gobierno mexicano expresamente para el país de origen. El original se conservará en la sede del CIMMYT;
- ◆ Original del certificado de origen;
- ◆ Original de la carta de valor comercial;
- ◆ Original del certificado fitosanitario otorgado por las autoridades del país de origen, incluyendo una descripción del fungicida usado para tratar la semilla.

Se deberán incluir copias de estos documentos en las cajas que contienen la semilla. Los documentos originales deberán enviarse por separado, pero al mismo tiempo que el embarque de semilla. Es muy importante que los documentos originales se envíen por separado, pues las cajas son con frecuencia abiertas antes de llegar a México y los documentos retirados y extraviados. Si los documentos originales de importación se extravían antes de que la remesa llegue a México, las autoridades mexicanas no liberarán la semilla.

Todos los embarques de semilla y el sobre con los documentos originales deberán enviarse a la siguiente dirección:

CIMMYT Int.  
A la atención de: Sr. Humberto Chávez Maldonado/COSACE  
Oriente 180 núm. 407  
CP 15500 México, D.F.  
Tel/Fax (01) 55718787  
MÉXICO

El nombre del consignatario deberá ir **en el interior** de la caja. Es importante que los remitentes anoten en todos los documentos su domicilio completo, incluyendo el **CÓDIGO POSTAL**. Este último se ha vuelto esencial en los trámites aduanales debido a una nueva disposición.

### **Permiso especial para importar semilla a México**

Se requiere un permiso de importación especial cuando se trata de:

- ◆ Semilla sin tratar, para usarse en análisis de laboratorio o invernadero
- ◆ Tejidos vegetales
- ◆ Aislamientos de especies de hongos

Las solicitudes de permiso para importar este tipo de materiales se deben justificar plena y cuidadosamente, indicando el lugar y país de origen, las características del material (variedad, peso y cualquier otro dato útil), el propósito de la importación especial sustentada por una descripción breve de la investigación en la que se utilizará y el destino final dentro del país.

Los trámites para la obtención de permisos especiales tardan tres semanas, siempre y cuando la información que se entregue a la DGSV resulte totalmente satisfactoria. En caso contrario, el CIMMYT tendrá que proporcionar información adicional para que se inicie un nuevo trámite. Este tipo de permisos es válido **SOLO** para el material especificado. Si algún embarque difiere en contenido o cantidad (siquiera por un solo gramo de semilla o una hoja) de lo especificado en el permiso, será confiscado.

## **Diagnóstico de semillas**

### **Función del laboratorio de la Unidad de Sanidad de Semilla del CIMMYT (SHU)**

Existen en México varios laboratorios de diagnóstico públicos y particulares reconocidos por la DGSV, y toda la semilla importada deberá ser inspeccionada por uno de esos laboratorios, a precio considerable (aproximadamente 50 dólares por prueba).

La SHU del CIMMYT tiene autorización de la DGSV para realizar inspecciones sanitarias y todas las pruebas fitosanitarias a la semilla que ingresa a México con destino al CIMMYT. Con objeto de facilitar la cuidadosa y oportuna inspección e importación de semilla, se designa un inspector de la DGSV exclusivamente al CIMMYT.

Dada esta función acreditada de la SHU, la importación de semilla a México con propósitos experimentales se simplifica de la siguiente manera:

- ◆ Se evitan el muestreo y la inspección de semilla en el punto de entrada (por ejemplo, el Aeropuerto Internacional de la ciudad de México), ya que el inspector interno los efectuará en el CIMMYT. Esto garantiza que la caja llegará al CIMMYT cerrada, en su empaque original.
- ◆ Se agiliza la inspección y liberación de la semilla.
- ◆ Se aplican todos los procedimientos fitosanitarios.

### **Procedimientos en el laboratorio de diagnóstico**

Toda la semilla que llegue al CIMMYT, sin excepción, deberá pasar por la Unidad de Sanidad de Semilla. En caso de que la remesa se entregue directamente en algún programa, los paquetes deberán llevarse de inmediato al laboratorio SIN ABRIR.

El inspector revisará la documentación fitosanitaria, abrirá las cajas y revisará a simple vista que la semilla no contenga soros de carbón, agallas de nematodos, esclerocios de cornezuelos, semillas de malezas o daños por insectos. Dependiendo de los resultados de la inspección y de la cantidad de semilla, el inspector determinará el tamaño de la muestra y las pruebas de laboratorio que se realizarán.

Se enviará a los consignatarios un correo electrónico informándoles sobre la recepción de la semilla en la SHU y una descripción del envío (fecha de llegada, destinatario, origen, lista de entradas, número de entradas, peso, propósito, fecha esperada de liberación y número de registro de la SHU). Los datos y resultados de las introducciones de semilla se guardan en una carpeta pública de la página web del CIMMYT: [www.cimmyt.org](http://www.cimmyt.org).

Los patógenos del trigo considerados de interés cuarentenario en México se incluyen en la Norma Oficial Mexicana NOM-017-1995, y los patógenos del maíz, en la Norma NOM-018-1996, ambas establecidas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural de México.

Sin embargo, el CIMMYT también tiene la gran responsabilidad de impedir la importación de cualquier organismo que la SHU considere potencialmente peligroso para el maíz y el trigo (Cuadros 3 y 4 en el Apéndice). Además, en virtud de que algunas especies de malezas fueron declaradas de importancia cuarentenaria recientemente en la NOM-043-FITO1999, la SHU también se asegura de que los embarques no contengan semillas de malezas.

En los Cuadros 1 y 2 se describen las pruebas que el personal de la SHU efectúa a la semilla de trigo y de maíz, respectivamente.

*Prueba de lavado de semillas y filtrado del agua de lavado.* Esta prueba revela la presencia de esporas de carbones (*Tilletia indica*, *Tilletia controversa*, plagas cuarentenarias según la NOM-017-FITO-1996), carbones (*Urocystis agropyri*, *U. occulta* var. *tritici*, *Ustilago avenae*, *U. hordei*, *U. nuda*, *U. tritici*, *U. maydis*), esclerocios (*Claviceps purpurea*), oosporas (*Peronosclerospora* y *Sclerophthora* spp.), nematodos (*Anguina tritici*, NOM-017-FITO-1996, y *Heterodera zaeae*, plaga cuarentenaria del maíz, NOM-018-FITO-1995). Esta prueba toma desde unas cuantas horas hasta algunos días, dependiendo del tamaño de la muestra.

**Prueba en papel secante.** Esta prueba revela la presencia de hongos imperfectos en la semilla y se requieren dos semanas para realizarla. Se emplea para detectar tizón del grano (*Alternaria triticina*), plaga cuarentenaria del trigo según la NOM-017-FITO-1996 y *Acremonium (Cephalosporium) maydis*, plaga del maíz referida en la NOM-018-FITO-1995.

**Prueba de germinación en el invernadero.** El propósito de esta prueba es obtener la expresión de patógenos bacterianos o virales transmitidos por la semilla y verificar la viabilidad de la misma; se realiza en tres semanas. En la Norma Oficial Mexicana se estipula que *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (NOM-017-FITO-1996) y *Burkholderia (Pseudomonas) andropogonis*, *Clavibacter michiganensis* pv. *nebraskensis* y *Pantoea stewartii* (NOM-018-FITO-1995) son plagas cuarentenarias. Se ha informado de la presencia de estas dos últimas en México (Allende-Molar, 1996; Avila et al., 1999) y están clasificadas como plagas cuarentenarias A2, a pesar de que la NOM-018 aún no ha sido actualizada. El virus del mosaico estriado del trigo se considera también plaga cuarentenaria, de acuerdo con la NOM-018-FITO-1995.

Si las plántulas presentan síntomas, deberán someterse a la prueba ELISA para detectar la presencia de *P. stewartii* y/o a una prueba de patogenicidad para identificar al agente patógeno.

**Detección de mildiú veloso en la semilla de maíz proveniente del Este y Sudeste de Asia.** Mediante esta prueba se detecta la presencia de patógenos causantes del mildiú veloso, como *Sclerospora maydis*, *Sclerospora (Peronosclerospora) philippinensis*, *Peronosclerospora sacchari* y *Sclerophthora rayssiae* var. *zeae* (NOM-018-FITO-1995).

## Resultados

Con base en los datos de la SHU, el inspector autorizado por la DGSV juzgará si una remesa deberá ser: **Aprobada y liberada, dado que:**

- ♦ La semilla había sido desinfectada cuando se recibió y no contiene patógenos.
- ♦ La semilla no fue totalmente desinfectada en el lugar de origen, pero tampoco contiene patógenos sujetos a cuarentena en México. En este caso, la SHU recomendará al programa el tratamiento apropiado.

En ambos casos la SHU enviará una notificación de liberación al consignatario.

**Rechazada, dado que:**

- ♦ La semilla contiene algún(os) patógeno(s) sujeto(s) a cuarentena por Sanidad Vegetal. Si se considera que el material es muy valioso o raro, se le mantendrá bajo estricto control de la SHU; se sembrará en condiciones restringidas y se monitoreará continuamente para eliminar el patógeno, evitando que se disperse. Después de esto, se podrá autorizar la liberación de la semilla. Sin embargo, cuando no sea posible eliminar el riesgo, la semilla se incinerará o se devolverá al remitente.

Cada mes, el inspector autorizado envía un informe a la DGSV sobre el total de introducciones de semilla que llegan al CIMMYT, así como las que se han liberado.

## Bloques de introducción

La semilla que cumpla con los requisitos antes mencionados podrá ser retirada, una vez liberada, solo por un asistente asignado por el programa solicitante, y se sembrará **exclusivamente y sin excepción en bloques de introducción**. Esta medida tiene como propósito monitorear, detectar y destruir cualquier patógeno que no haya sido detectado durante las pruebas de laboratorio.

Las introducciones de trigo se sembrarán en las parcelas de cuarentena del Bloque 710 en Ciudad Obregón, en los Bloques A<sub>2</sub> y A<sub>3</sub> en Toluca y en los Bloques E<sub>9</sub> y F<sub>9</sub> en El Batán. Las introducciones de maíz se sembrarán en Tlaltizapán, en un bloque que podrá cambiar de un año a otro, y en el Bloque E10 en El Batán.

Todos los bloques de introducción se siembran en aislamiento total y no se permite el cultivo intercalado de otros materiales. El personal de la SHU y el inspector de la DGSV monitorean la semilla sembrada en los bloques de introducción durante el ciclo de crecimiento.

Antes de cada ciclo y en cada localidad, los programas proporcionarán listas de todos los materiales que tengan que sembrarse en parcelas de cuarentena; también deberán indicar si planean hacer evaluaciones de enfermedades.

Para facilitar la inspección, los materiales deberán etiquetarse tan pronto como sea posible. Las etiquetas contendrán el número de introducción de la SHU, el número de entradas y el país de origen.

Cualquier decisión relativa a la fumigación con químicos la tomarán conjuntamente los científicos de los programas y el personal de la SHU. Las plantas de los bloques de introducción que presenten síntomas de enfermedades poco comunes serán retiradas, se tomarán muestras para que la SHU las examine y se destruirá el tejido restante.

# Reglas fitosanitarias para semilla que sale de México

## Documentación requerida

Todo el germoplasma de maíz, trigo, cebada y triticale que el CIMMYT exporte deberá acompañarse de los siguientes documentos:

- ◆ Certificado fitosanitario internacional expedido por el gobierno mexicano;
- ◆ Certificado fitosanitario del CIMMYT, en inglés o español, expedido por la SHU;
- ◆ Declaración de valor.

La DGSV expide certificados sanitarios internacionales después de revisar los paquetes de semilla al azar. La certificación por parte del CIMMYT se basa en una revisión general de la semilla y la prueba del lavado, las pruebas de invernadero, la incubación y las pruebas serológicas que lleva a cabo la SHU.

La semilla de maíz, cebada, triticale y trigo del CIMMYT se despacha tan limpia como sea posible, para evitar que se propaguen las enfermedades transmitidas por la semilla, o el riesgo de que el embarque sea rechazado al llegar al país de destino. Hay países con leyes de importación muy estrictas en los que se requiere una muestra de semilla sin tratar. En este caso, ésta se manda por separado para que se analice en forma previa al embarque.

Las leyes de cuarentena en todo el mundo clasifican las plagas como A1 o A2. Las A1 son plagas cuarentenarias no presentes en una zona dada; las A2 son plagas cuarentenarias presentes en esa zona pero no ampliamente distribuidas y, por tanto, sujetas a control oficial. Toda la semilla de maíz, cebada, triticale y trigo del CIMMYT que se exporta deberá estar libre de plagas A1 y A2.

En los Cuadros 1 y 2 aparecen las pruebas de laboratorio que realiza la SHU para detectar posibles patógenos transmitidos por la semilla. A solicitud del interesado se efectúan otro tipo de pruebas, en caso de que existan requerimientos especiales en el país de destino.

## Trigo

### Multiplicación de semilla en Mexicali, Baja California, México

Por decreto oficial, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 15 de diciembre de 1997, se declaró al Valle de Mexicali, en el noroeste de México, como zona libre del carbón parcial del trigo, en cumplimiento con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-FITO-1995. La Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO) y la Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas (EPPO) reconocen también a Mexicali como zona libre de carbón parcial.

El Programa de Trigo del CIMMYT utiliza los campos en esta zona certificada para multiplicar semilla destinada a la exportación.



**Cuadro 1. Pruebas realizadas en trigo, triticale y cebada.**

Nombre del vivero	Prueba realizada	Patógeno detectado	Duración de la prueba	
<b>Salida de semilla</b> Viveros Internacionales de Trigo Viveros Internacionales de Triticale Viveros Internacionales de Cebada Misceláneos trigo, triticale y cebada	Filtro ELISA Papel secante Germinación en el invernadero	<i>Tilletia</i> spp. Virus estriado de la cebada Hongos Bacterias, virus Viabilidad de la semilla	3 hr 24 hr 3 semanas 3 semanas	
Viveros Internacionales de Trigo	Inmunofluorescencia	<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i>	algunas horas	
	Pruebas adicionales según requerimientos del país de destino			
				<b>Plagas cuarentenarias (A1) * en México</b>
<b>Introducción de semilla</b>	Papel secante Germinación en el invernadero  Filtro	Hongos Bacterias, virus  <i>Tilletia</i> spp. Nematodos <i>Ustilago</i> spp. <i>Urocystis</i> spp.	3 semanas 3 semanas  algunas horas	<i>Alternaria triticina</i> <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i>  <i>Tilletia indica</i> , <i>T. controversa</i> <i>Anguina tritici</i>

\*Establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-017-FITO-1996. Plaga A1 = plaga cuarentenaria no presente en esa área. Plaga A2 = plaga cuarentenaria presente en esa zona pero no ampliamente distribuida y sujeta a control oficial.

**Cuadro 2. Pruebas realizadas en maíz.**

Nombre del vivero	Prueba realizada	Patógeno detectado	Duración de la prueba	
<b>Salida de semilla</b> Viveros Internacionales de Maíz Certificación	ELISA	<i>Pantoea stewartii</i> Mosaico del enanismo del maíz (se realiza en función de los resultados en el invernadero)	24 hr 24 hr	
Viveros misceláneos de maíz	Papel secante Germinación en el invernadero	Hongos Bacterias, virus	2 semanas 3 semanas	
	Pruebas adicionales según requerimientos del país de destino			
				<b>Plagas cuarentenarias (A1) * en México</b>
<b>Introducción de semilla</b>	Papel secante Germinación en el invernadero  Filtro  Detección de mildiú veloso en germoplasma proveniente del sur y sudeste de Asia	Hongos Bacterias  Virus  Nematodos Oosporas  Carbón	2 semanas 3 semanas  3 hr  24 hr	<i>Cephalosporium maydis</i> <i>Pantoea stewartii</i> (A2**) <i>Pseudomonas andropogonis</i> <i>Clavibacter michiganensis</i> pv. <i>nebraskensis</i> Virus del mosaico estriado del trigo <i>Heterodera zae</i> <i>Peronosclerospora</i> spp. <i>Sclerophthora</i> spp.  <i>Sclerospora maydis</i> <i>Sclerospora (Peronosclerospora) philippinensis</i> <i>Peronosclerospora sacchari</i> <i>Sclerophthora rayssae</i> f.sp. <i>zae</i>

\* Establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995. Plaga A1 = plaga cuarentenaria no presente en esa área. Plaga A2 = plaga cuarentenaria presente en esa zona pero no ampliamente distribuida y sujeta a control oficial.

## Procedimientos de siembra en Mexicali

Los materiales de trigo, cebada y triticale para los viveros internacionales deberán sembrarse en parcelas destinadas a ese propósito en la estación experimental El Batán, zona libre de *Tilletia indica*, agente patógeno del carbón parcial.

Durante el ciclo de cultivo, desde la emergencia de la espiga hasta el final del llenado de granó, las parcelas se rocían cada 10 días con el fungicida sistémico propiconazol (TILT), para protegerlas de infecciones aéreas de *T. indica*.

Después de la cosecha, la semilla se lava con una solución de hipoclorito de sodio al 1.2% para destruir las teliosporas de la superficie. La SHU toma muestras de semillas de las líneas y los filtros del lavado se someten a un examen microscópico (véase Apéndice). Si no se detectan contaminantes, se aplica a la semilla un tratamiento con una mezcla de carboxina + captán (Vitavax 300, 3 g/kg) y clorotalonil (Daconil 2787, 2 g/kg). Después de esto, se envía a Mexicali para que se siembre y se multiplique.

Durante el ciclo de cultivo en Mexicali, el germoplasma se monitorea en forma constante para asegurar la producción de semilla de alta calidad. Se asperja 2 o 3 veces con propiconazol, aplicando los procedimientos antes descritos. Toda la maquinaria de siembra y cosecha en Mexicali permanece ahí, es decir, nunca se traslada a zonas no certificadas donde podría estar presente la enfermedad. Los visitantes a los campos de multiplicación de semilla del CIMMYT en Mexicali deberán traer ropa y calzado limpios y lavar sus vehículos antes de llegar.

Antes de que concluya el ciclo, se hace una inspección al germoplasma, cerca de la cosecha. Se recolectan espigas muestreadas al azar, se desgranar por separado y se examinan visualmente. Posteriormente se efectúan pruebas aplicando los procedimientos descritos en el Apéndice. Si los resultados de las pruebas del filtro son negativos, las líneas se cosechan en forma individual.

La semilla se deposita en bolsas nuevas debidamente etiquetadas. Las bolsas y etiquetas que se emplean en la cosecha deberán enviarse por avión de las zonas libres de carbón parcial a Mexicali. Se empaca bien la semilla y se transporta a la sede del CIMMYT, en El Batán, Estado de México, en un camión sellado que no debe transitar por zonas infectadas de carbón parcial.

Para evitar que la semilla se contamine, se lava y aspira el camión antes de cargarlo. Asimismo, antes de llegar a El Batán, se vuelve a lavar y aspirar el exterior del vehículo para eliminar patógenos, tierra o residuos. El camión se estaciona en una zona restringida, reservada exclusivamente para la semilla de los viveros internacionales.

El interior de la sección de almacenamiento en El Batán se lava con una solución de hipoclorito de sodio al 1.2% y se toma una muestra del agua del lavado para confirmar que esa sección esté libre de contaminantes. En todas las secciones y todos los procedimientos se mantienen condiciones de cero tolerancia al carbón parcial.

De las líneas que se reciban en la sección de Viveros Internacionales, el jefe del programa podrá seleccionar aquellas que formarán parte de los ensayos internacionales. Las líneas seleccionadas se pasan por un filtro que elimina semillas de malezas y residuos grandes. Las líneas de los viveros se lavan y luego se toman muestras para la prueba del filtro, usando el siguiente procedimiento:

El peso total de las líneas (si es de más de 1 kg) se divide en cantidades de 800 o 1000 g y la semilla se deposita en bandejas metálicas perforadas, las cuales:

- ♦ Se colocan bajo un chorro de agua a alta presión + 10 ml de Tween 20 durante seis minutos a 50-60 libras /pulg<sup>2</sup>;

- ◆ Se sumergen durante tres minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5%; y
- ◆ Se enjuagan durante dos minutos bajo un chorro de agua a alta presión.

Después del lavado se toma una muestra (aproximadamente 50 g) de semilla de cada bandeja y se envía a la SHU. De acuerdo con la cantidad de semilla de la línea, de la muestra se separa una submuestra y se realizan una o más pruebas de filtro para detectar la presencia de teliosporas de *T. indica* y *Tilletia* spp., siguiendo los procedimientos descritos en el Apéndice.

Mientras se realizan las pruebas, la semilla restante, después del lavado, se trata con una mezcla de clorotalonil (Daconil 2787, 2 g/kg) y carboxina+captán (Vitavax 300, 3 g/kg), más un adhesivo (Pellistac). La semilla se seca en el horno a 30°C. Si los resultados de las pruebas del filtro revelaran la presencia de teliosporas de *T. indica*, la línea se descartaría, aunque ya hubiera sido tratada.

Una vez lavada, tratada y seca, la semilla se pone en sobres y se prepara el vivero para enviarlo a los cooperadores del CIMMYT. La semilla que seleccionan los visitantes durante el ciclo en Obregón (véase la siguiente sección “Envíos misceláneos”) deberá someterse a este mismo procedimiento.

## Envíos misceláneos

Los viveros esporádicos o “misceláneos” o los viveros “especiales” que no han sido multiplicados en Mexicali forman parte también de los Viveros Internacionales. Toda semilla que no haya sido multiplicada en Mexicali merece especial cuidado por varias razones:

- ◆ La semilla generada en El Batán o Toluca es de menor calidad, principalmente por las condiciones ambientales (zonas de alta precipitación pluvial) y una mayor incidencia de enfermedades.
- ◆ El cultivo no siempre se asperja con fungicidas durante el ciclo, como sucede en Mexicali.
- ◆ Si bien El Batán y Toluca son zonas libres de carbón parcial, no han sido oficialmente reconocidas como tales.

Se inspecciona visualmente la semilla de cada una de las líneas para determinar sus condiciones generales. Cuando la calidad es deficiente (5-10% tiene manchas u otras malformaciones), se le solicita al mejorador que seleccione la semilla antes de entregarla a la SHU y enviarla a los cooperadores.

Se requieren pruebas de laboratorio confiables para detectar el carbón parcial y otras enfermedades de importancia cuarentenaria. Por tanto, deberán enviarse todas las líneas al laboratorio para su inspección y para la prueba del lavado de filtro. El personal de la SHU tomará la decisión de examinar todas las líneas por separado o tomar una muestra compuesta para las pruebas. La semilla deberá lavarse y tratarse químicamente (como se describió anteriormente) antes de enviarla, igual que para los viveros internacionales.

## Detección de otros patógenos de trigo transmitidos por la semilla

En el Cuadro 1 se enumeran las pruebas que la SHU realiza en trigo, triticale y cebada.

## Maíz

La mayor parte de la semilla de maíz para distribución internacional se produce en la estación experimental del CIMMYT en Tlaltizapán (estado de Morelos), un lugar con incidencia muy baja de enfermedades. Durante el ciclo de cultivo, los viveros se inspeccionan en forma periódica en el campo y se descartan las plantas que muestran síntomas de enfermedades. Toda la semilla se revisa cuidadosamente para detectar la presencia de patógenos transmitidos por la semilla de interés cuarentenario en los países de destino.

El Programa de Maíz manda a la SHU tres grupos de germoplasma para que se examinen: viveros internacionales, viveros misceláneos y materiales para certificación. En el Cuadro 2 se mencionan las pruebas que realiza la SHU en semilla de maíz. Antes de distribuirse, la semilla es tratada con una mezcla de acefato (insecticida organofosfórico), captán y un adherente.

## Pruebas de laboratorio en maíz, trigo, triticale y cebada

### Prueba de germinación en el invernadero

La germinación en el invernadero es una prueba importante para evaluar la viabilidad de la semilla y detectar la presencia o ausencia de patógenos transmitidos por la semilla. Se realiza en una muestra de 50 semillas de cada línea del vivero. En caso de que se presenten síntomas en las plántulas, se hacen pruebas más exhaustivas.

### Prueba de lavado de semilla

Esta prueba se aplica principalmente para detectar teliosporas de *Tilletia indica* y *Tilletia* spp., oosporas de mildiú y esporas de carbón, aplicando el procedimiento descrito en el Apéndice. Se puede realizar ya sea con muestras compuestas de semilla o línea por línea.

### Prueba en papel secante

Esta prueba se aplica para detectar hongos imperfectos en una muestra de 40-50 semillas de cada una de las entradas de cada vivero.

## ELISA

Esta prueba se aplica para detectar 1) el virus del mosaico estriado de la cebada, que aparece en la lista de plagas cuarentenarias A2 de la EPPO (2001); 2) *Pantoea stewartii*, que aparece en la lista de plagas cuarentenarias A2 de la EPPO (2001), es considerada plaga A1 en más de 100 países (Block et al., 1998) y plaga A2 en Argentina, Brasil, Perú, Kenia, Nigeria, Zimbabwe, Bangladesh y las Filipinas; 3) el mosaico del enanismo del maíz, plaga A2 en Zimbabwe. Para las pruebas se toman muestras compuestas de cada 10 líneas de cada vivero. Si el resultado es positivo, se revisan las 10 líneas en forma individual y se descartan las que dan positivo.

### Inmunofluorescencia

Se trata de un examen serodiagnóstico para la detección en semilla de trigo de *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*, plaga A1 en Egipto, Arabia Saudita y Turquía (en semilla de gramíneas) (CABI 2000), que también se encuentra en la lista de plagas cuarentenarias A2 de la EPPO (2001). Se toman muestras compuestas de cada 10 líneas de cada vivero para el examen. Si los resultados son positivos, se revisan las 10 líneas por separado y se descartan las que dan positivo.

## Referencias

- Allende-Molar, R. 1996. *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense* agente causal de la marchitez y tizón bacteriano del maíz en el estado de Sinaloa. Master of Science Thesis, Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agronomía, Culiacán, Sinaloa, México.
- Ávila, G., L. Fucikovsky, D. Jeffers, D. De La I de Bauer, M. López y J. Molina. 1999. Distribución de *Pantoea (Erwinia) stewartii* en maíz en Valles Altos de México. XLV Reunión Anual del PCCMCA: Memorias de Resúmenes 58.
- Block, C.C., J.H. Hill y D.C. McGee. 1998. Seed transmission of *Pantoea stewartii* in field and sweet corn. Plant Disease 82:775-780.
- CAB International. 2000. Crop Protection Compendium, Global Module. 2ª edición. Wallingford, UK: CAB International.
- EPPO, 2001. <http://www.eppo.org/QUARANTINE/lists.html#a1>

## Reconocimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a Tom Payne y Dan Jeffers por su ayuda en la preparación de esta sección del documento.

# **Reglas para almacenar semilla en condiciones de cero tolerancia para teliosporas de carbón parcial**

## **Medidas fitosanitarias preventivas que deben aplicarse antes de almacenar la semilla**

### **Limpieza en el almacén**

Los almacenes deberán lavarse y limpiarse periódicamente. Los pisos y las superficies se deben desinfectar con una solución de hipoclorito de sodio al 1.2%, y en las cámaras frigoríficas, cuartos o entornos comunes deben colocarse trampas de esporas para detectar cualquier contaminación.

### **Pruebas que se realizan a la semilla antes de almacenarla**

La semilla que se almacene deberá haber sido multiplicada en zonas libres de carbón parcial y sometida a los siguientes procedimientos de la SHU:

- ♦ La semilla se lava con una solución de hipoclorito de sodio al 1.2% durante tres minutos. Después se toma una muestra y se realiza la prueba usando el procedimiento del filtro en la SHU;
- ♦ Para evitar que disminuya la viabilidad de la semilla, ésta NO deberá tratarse con fungicidas después del lavado. Además, por razones de salud, ningún empleado del CIMMYT trabajará con semilla que haya sido tratada con fungicidas, a menos que sea absolutamente necesario;
- ♦ Deberá revisarse la semilla para asegurar que no contenga carbón parcial antes de enviarla a los cooperadores.

La semilla se guarda en contenedores metálicos para evitar que se contamine, y una vez almacenada, la SHU coloca trampas de esporas para detectar cualquier tipo de contaminación.

### **Medidas preventivas que el personal del almacén deberá observar**

Deberá mantenerse al mínimo el número de empleados que supervisan los materiales que entran y salen del almacén.

Al trasladar la semilla, o cada vez que entren al cuarto de almacenamiento, los empleados deberán usar zapatos tenis y ropa (mandil u overol) reservados específicamente para este propósito. Las batas de laboratorio deberán lavarse regularmente (cada semana), aunque no se hayan usado.

### **Procedimientos para limpiar el almacén después de guardar la semilla**

La sección de almacenamiento deberá aspirarse periódicamente (cuando menos una vez a la semana) para eliminar el polvo. NUNCA deberá retirarse el polvo con un trapo seco. El polvo recolectado en la bolsa de la aspiradora deberá colocarse cuidadosamente en otra bolsa y quemarse en un incinerador.

En las superficies de trabajo se puede usar un paño humedecido en una solución de hipoclorito de sodio al 1.2%. Sin embargo, no deberá usarse en superficies metálicas que no hayan sido protegidas contra el cloro con pintura anticorrosiva (del tipo que se usa en las piscinas).

# **Normas para transportar semilla de zonas infectadas con carbón parcial a zonas libres de éste dentro del territorio nacional**

La DSGV controla el desplazamiento de semilla de trigo dentro del territorio mexicano, desde las zonas donde el carbón parcial está presente a zonas libres de éste, de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-FITO-1995. Por consiguiente:

- ◆ Toda la semilla que se produce en la estación experimental CIANO-CIMMYT, en Ciudad Obregón, Sonora, y se transporta a las estaciones experimentales de El Batán y Toluca, deberá ser sometida a inspección por un técnico acreditado por la DSGV en cuanto se reciba;
- ◆ Todos los envíos de semilla deberán ir acompañados de un certificado fitosanitario en el que se autorice la transferencia de semilla dentro del país (Certificado fitosanitario para la movilización nacional); y
- ◆ Toda la semilla deberá ser sometida a tratamiento.

Cada año, la DSGV acredita a tres técnicos en la sede del CIMMYT para liberar la semilla proveniente de Ciudad Obregón. Sin embargo, debe recalcarse que la semilla de Ciudad Obregón se deberá sembrar solo en las estaciones experimentales de El Batán y Toluca.

# Apéndice

## Prueba de lavado de semilla

Esta prueba sirve para detectar la presencia de esporas de carbones, conidios de hongos imperfectos y oosporas, ya sea en semilla contaminada o semilla asintomática.

Coloque una muestra de 10 o 20 gramos en 100 ml de agua con 2-5 gotas de Tween 20 y licue durante 30 minutos a una velocidad de 250-300 rpm (si no hay Tween, se puede usar detergente líquido). Filtre el agua del lavado en tamices de 50 y 20 mm. Las esporas y los residuos grandes quedarán atrapados en el tamiz de 50 mm, y las teliosporas de *Tilletia indica*, cuyo diámetro promedio es de 25-40 mm, en el de 20 mm.

Enjuague el tamiz con una pistola de agua y recoja el agua en un vaso de precipitado. Pase el agua a través de un papel filtro Whatman #1, colocado en un embudo Buchner que se inserta en un matraz conectado a una bomba aspiradora. El papel filtro Whatman #1 retendrá todas las estructuras mayores de 20 mm.

Después de filtrar el agua, humedezca el filtro con una solución de KOH al 3% y examine microscópicamente para detectar la presencia de esporas. Señale cualquier estructura extraña y examínela con un microscopio compuesto.

Lista de patógenos que debe acompañar la solicitud de permiso de importación normal para semilla de maíz.

**CUADRO 3. ENFERMEDADES DE MAIZ TRANSMITIDAS POR SEMILLA.**

Table 3. Seed-transmitted maize pathogens.

PATÓGENOS (Pathogens)	Presencia o ausencia en el país de origen (Presence/absence in country of origin)
<b>VIRUS (Viruses)</b>	
Maize chlorotic mottle virus** (Moteado clorótico de maíz)	
Maize dwarf mosaic virus** (Mosaico del enanismo del maíz)	
Maize leaf fleck virus (barley yellow dwarf virus)** (Enanismo amarillo de la cebada)	
Wheat streak mosaic virus* (Virus del mosaico estriado del trigo)	
<b>BACTERIAS (Bacteria)</b>	
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i> **	
<i>Burkholderia andropogonis</i> *	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i> *	
<i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>zeae</i> **	
<i>Pantoea agglomerans</i> **	
<i>Pantoea stewartii</i> *	
<i>Pseudomonas atrofaciens</i> pv. <i>zeae</i> **	
<i>Pseudomonas avenae</i> **	
<i>Pseudomonas marginalis</i> pv. <i>marginalis</i> **	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lapsea</i> **	
<b>HONGOS (Fungi)</b>	
<i>Acremonium maydis</i> *	
<i>Acremonium strictum</i> **	
<i>Bipolaris maydis</i> ( <i>Helminthosporium maydis</i> )**	
<i>Botryodiplodia theobromae</i> **	
<i>Claviceps gigantea</i> **	
<i>Cochliobolus carbonum</i> **	
<i>Fusarium culmorum</i> **	
<i>Fusarium graminearum</i> **	
<i>Fusarium semitectum</i> **	
<i>Gibberella fujikuroi</i> **	
<i>Glomerella graminicola</i> **	
<i>Nigrospora oryzae</i> **	
<i>Peronosclerospora maydis</i> ( <i>Sclerospora maydis</i> )*	
<i>Peronosclerospora philippinensis</i> *	
<i>Peronosclerospora sacchari</i> *	
<i>Peronosclerospora sorghi</i> **	
<i>Phaeocytoporella zeae</i> **	
<i>Pyricularia grisea</i> **	
<i>Sclerophthora macrospora</i> **	
<i>Sclerophthora rayssiae</i> var. <i>zeae</i> *	
<i>Setosphaeria turcica</i> **	
<i>Setosphaeria rostrata</i> **	
<i>Sphacelotheca reiliana</i> **	
<i>Stenocarpella maydis</i> **	
<b>NEMATODOS (Nematodes)</b>	
<i>Heterodera zeae</i> *	

\* Señalados en la Norma de Cuarentena Mexicana (A1 quarantine pathogens).

\*\* Agregados por el Laboratorio del CIMMYT (precautionary pathogens added by CIMMYT's SHU).



**CUADRO 4. ENFERMEDADES DE CEREALES DE GRANO PEQUEÑO TRANSMITIDAS POR SEMILLA.**  
**Table 4. Seed-transmitted pathogens of small-grain cereals.**

**PATÓGENOS** (Pathogens) **Presencia o ausencia en el país de origen**  
(Presence/absence in country of origin)

PATÓGENOS (Pathogens)	Presencia o ausencia en el país de origen (Presence/absence in country of origin)
<b>VIRUS</b> (Viruses)	
<b>Barley stripe mosaic virus</b> (Virus del mosaico estriado de la cebada)**	
<b>Brome mosaic virus</b> (Mosaico estriado del bromo)**	
Wheat streak mosaic virus** (Virus del mosaico estriado del trigo)	
<b>BACTERIAS</b> (Bacteria)	
<i>Bacillus megaterium</i> pv. <i>cerealis</i> **	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>tessellarius</i> **	
<i>Erwinia rhapontici</i> **	
<i>Pseudomonas cichorii</i> **	
<i>Pseudomonas fuscovaginae</i> **	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> *	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>coronofaciens</i> **	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> **	
<i>Rathayibacter tritici</i> **	
<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>translucens</i> **	
<b>HONGOS</b> (Fungi)	
<i>Alternaria triticina</i> *	
<i>Cephalosporium gramineum</i> **	
<i>Claviceps purpurea</i> **	
<i>Cochliobolus sativus</i> **	
<i>Cochliobolus spicifer</i> **	
<i>Cochliobolus victoriae</i> **	
<i>Gibberella avenacea</i> **	
<i>Gibberella zeae</i> **	
<i>Monographella nivalis</i> **	
<i>Mycosphaerella graminicola</i> ( <i>Septoria tritici</i> )**	
<i>Phaeosphaeria avenaria</i> ( <i>Stagonospora avenae</i> f. sp. <i>avenae</i> )**	
<i>Phaeosphaeria nodorum</i> ( <i>Stagonospora nodorum</i> )**	
<i>Pyrenophora graminea</i> ( <i>Helminthosporium gramineum</i> )**	
<i>Pyrenophora teres</i> ( <i>Helminthosporium teres</i> )**	
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i> ( <i>Helminthosporium tritici-repentis</i> )**	
<i>Pyricularia grisea</i> **	
<i>Pyricularia oryzae</i> **	
<i>Rhynchosporium secalis</i> **	
<i>Sclerophthora macrospora</i> **	
<i>Tilletia caries</i> y <i>T. foetida</i> ( <i>T. secalis</i> )**	
<i>Tilletia controversa</i> *	
<i>Tilletia indica</i> *	
<i>Urocystis agropyri</i> **	
<i>Urocystis occulta</i> var. <i>tritici</i> **	
<i>Ustilago avenae</i> **	
<i>Ustilago hordei</i> **	
<i>Ustilago nuda</i> **	
<i>Ustilago tritici</i> **	
<b>NEMATODOS</b> (Nematodes)	
<i>Anguina agrostis</i> **	
<i>Anguina tritici</i> *	
<i>Heterodera avenae</i> **	
<i>Heterodera latipons</i> **	
<i>Heterodera zeae</i> **	

\* Señalados en la Norma de Cuarentena Mexicana (A1 quarantine pathogens).

\*\* Agregados por el Laboratorio del CIMMYT (precautionary pathogens added by CIMMYT's SHU).

[Letterhead of Issuing Institution/Company]  
[En papel membretado de la institución o empresa]

Date (Fecha): \_\_\_\_\_

Commercial Letter  
Carta Comercial

To whom it may concern:  
A quien corresponda:

Box(es) containing kg of \_\_\_\_\_ (maize, wheat,  
barley, or whatever) seed samples donated for research purposes, with no commercial  
value and an estimated value "for customs purposes only" of: \_\_\_\_\_\*

Caja(s) que contienen \_\_\_\_\_ kg de muestras de  
semilla (maíz, trigo, cebada u otro) donadas para uso experimental, sin valor comercial, con  
un valor aproximado "solo para propósitos aduanales" de: \_\_\_\_\_\*

Shipper's Signature  
Firma del consignatario

---

- \* Amount suggested is US \$0.50 per kg of seed, but do not declare a total amount lower than US \$1.00 or higher than US \$100.00.
- \* Se sugiere la cantidad de US \$0.50 por cada kilo de semilla; no declarar una cantidad total inferior a US \$1.00 o que exceda US \$100.00.

[On letterhead of shipping institution/company]  
[En papel membretado de la institución o empresa]

**CERTIFICATE OF ORIGIN**  
**CERTIFICADO DE ORIGEN** \_\_\_\_\_

**To whom it may concern:**  
**A quien corresponda:**

**Date (Fecha):** \_\_\_\_\_

**DESCRIPTION: Wheat, triticale, barley, maize seed**  
**DESCRIPCION: Semilla de trigo, triticale, cebada, maíz**

**AMOUNT: (in g or kg):**  
**CANTIDAD: (en g o kg):**

**ORIGIN: (Location of production field(s): site, state or province, country)**  
**ORIGEN: (Localización del campo de producción: lugar, estado o provincia, país)**

**PURPOSE OR USE: Experimental use only**  
**PROPOSITO O USO: Exclusivamente para uso experimental**

**VALUE: No commercial value**  
**VALOR: Sin ningún valor comercial**

**REMARKS: Fumigated, treated, etc. (be specific, e.g., Vitavax)**  
**NOTAS: Fumigada, tratada, etc. (especificar, por ejemplo, Vitavax)**

**AUTHORIZED SIGNATURE:**  
**FIRMA AUTORIZADA:** \_\_\_\_\_

**(Type name and designation of person signing,  
and of the shipping institution/company)**  
**(Poner a máquina el nombre y designación del  
signatario y de la institución o empresa)** \_\_\_\_\_

El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT®) ([www.cimmyt.mx](http://www.cimmyt.mx)) es una organización internacional, sin fines de lucro, que se dedica a la investigación científica y la capacitación. Tiene su sede en México y colabora con instituciones de investigación agrícola de todo el mundo para mejorar la productividad y la sostenibilidad de los sistemas de maíz y trigo para los agricultores de escasos recursos en los países en desarrollo. El CIMMYT forma parte de los 16 centros de Future Harvest dedicados a la investigación sobre cultivos alimentarios y el medio ambiente. Con oficinas en todo el mundo, los centros de Future Harvest llevan a cabo investigación colaborativa con agricultores, científicos y formuladores de políticas para combatir la pobreza y aumentar la seguridad alimentaria, al tiempo que protegen los recursos naturales. Son financiados por el Grupo Consultivo sobre la Investigación Agrícola Internacional (CGIAR) ([www.cgiar.org](http://www.cgiar.org)), cuyos miembros incluyen cerca de 60 países, organizaciones tanto internacionales como regionales y fundaciones privadas. El CIMMYT recibe fondos para su agenda de investigación de varias fuentes, entre las que se encuentran fundaciones, bancos de desarrollo e instituciones públicas y privadas.

**FUTURE HARVEST**™ Future Harvest® promueve el debate público sobre cómo alimentar a la creciente población mundial sin destruir el medio ambiente y cataliza acciones que redunden en un mundo con menos pobreza, una familia humana más sana, niños bien alimentados y un medio ambiente más saludable. Asimismo, apoya la investigación científica, promueve la colaboración y patrocina proyectos que pongan al alcance de las comunidades rurales y los agricultores y sus familias en África, Asia y América Latina los resultados de esa investigación ([www.futureharvest.org](http://www.futureharvest.org)).

© Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) 2001. Derechos reservados. El CIMMYT es el único responsable de esta publicación. Las designaciones empleadas en la presentación de los materiales incluidos en esta publicación de ninguna manera expresan la opinión del CIMMYT o de sus patrocinadores respecto al estado legal de cualquier país, territorio, ciudad o zona, o de las autoridades de éstos, o respecto a la delimitación de sus fronteras.

Impreso en México.

Cita correcta: Mezzalama, M., L. Gilchrist y A. McNab. 2001. *Sanidad de semillas: Reglas y normas para el desplazamiento seguro de germoplasma*. Mexico, D.F.: CIMMYT.

ISBN: 970-648-068-4

Descriptores AGROVOC: Trigos; triticosecale; cebada; certificación de semilla; tratamiento de semilla; estándares; permisos; cuotas de importación; políticas sanitarias; plagas de granos almacenados; pruebas de laboratorio; *Tilletia indica*; *Urocystis*; *Ustilago segetum*; *Ustilago zaeae*; carbones; México.

Códigos de categorías AGRIS: D50 Legislación  
E71 Comercio internacional

Clasificación decimal Dewey: 631.521

ISBN: 970-648-068-4



---

INTERNATIONAL MAIZE AND WHEAT IMPROVEMENT CENTER

---

Apartado Postal 6-641, 06600 Mexico, D.F., MEXICO

[www.cimmyt.org](http://www.cimmyt.org)