

# **CONSIDERACIONES IMPORTANTES PARA LA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS A LA UNIDAD DEL CENTRO DE DIAGNOSTICO DE SANIDAD VEGETAL**

## **UCDSV**

Para la toma y envío de muestras a la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal(UCDSV), los especialistas de Sanidad Vegetal deberán considerar las indicaciones que a continuación se detallan:

### **I. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS ENTOMOLOGICAS:**

- ◆ Elección de la muestra en campo: se tratará de observar la presencia de la plaga en los diferentes órganos de la planta, tanto externa como internamente. Es indispensable el uso de una lupa de 10x, especialmente cuando se trata de detectar insectos pequeños por ejemplo trips o en caso de ácaros. Asimismo, deberán incluirse en las observaciones plantas con presencia de síntomas iniciales, intermedios y aparentemente sin daño.
- ◆ Los estados inmaduros de lepidópteros, dípteros, coleópteros y otros insectos, deben ser criados hasta obtenerse los estados adultos, para facilitar la identificación y luego ser remitidas a la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal. Algunas larvas y pupas se conservarán en alcohol.
- ◆ Los insectos adultos grandes pueden ser montados en alfileres entomológicos y los pequeños y de cuerpo blando deben ser colocados en frascos con alcohol al 70%, debidamente identificado con una etiqueta donde se indique: datos del colector, planta hospedera, localidad y fecha.
- ◆ Los insectos de los ordenes Neuroptera y Lepidoptera pueden ser guardados entre hojas de papel (sobres o bolsas pequeñas de papel por ejemplo) con las alas plegadas sobre el dorso.
- ◆ Los insectos del orden Orthoptera se deben remitir preferiblemente en sobres entomológicos, debido a que el alcohol puede hacer cambiar la coloración.
- ◆ Los insectos del orden Hymenoptera se puede remitir en alcohol al 70%, o en sobres entomológicos.
- ◆ Los insectos del orden Hemiptera de preferencia deben ser enviados en sobres entomológicos o acondicionados en cajas pequeñas y duras entre capas de papel toalla.

- ◆ Los insectos de los órdenes Thysanoptera, Coleoptera y Diptera(mínimo 12 individuos entre machos y hembras) deben ser enviados en alcohol al 70%.
- ◆ Los insectos de las familias Diaspididae, Coccidae, Pseudococcidae y Aphididae, se deben remitir en alcohol al 70%. Los especímenes deben ser adultos jóvenes, con un número alto de individuos, ya que muchos pueden estar parasitados. En el caso de áfidos se deben remitir individuos ápteros y alados, ya que estos últimos tienen mejores características para la identificación.
- ◆ Los insectos pertenecientes a la familia Aleyrodidae, pueden ser enviadas introduciendo las hojas con pupas y exuvias pupales en frascos con alcohol al 70%, también en otro vial se debe adjuntar los adultos; las pupas y exuvias pupales pueden ser enviadas sin las hojas.

## II. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS FITOPATOLÓGICAS:

- ◆ La buena elección de material enfermo facilita la labor de diagnóstico, considerándose una buena **cantidad** de material fresco que muestre los **síntomas** característicos **claros** y tratando de incluir las **fases iniciales o intermedias de la enfermedad**.
- ◆ Mantenga, de ser posible, las muestras refrigeradas después de su colección hasta que ellas sean remitidas.
- ◆ Para evitar que las hojas se quiebren o encarrujen deben colocarse entre láminas de papel y luego estas entre cartón, las que deben estar convenientemente superpuestas, unidas y atadas.
- ◆ En caso de raíces, es necesario que vengan con una pequeña cantidad de tierra que las rodea para guardar la humedad y observar en laboratorio la presencia de insectos u otros organismos presentes.
- ◆ No mezcle diferentes componentes de la muestra en la misma bolsa de envío (ejemplo: en plantas completas separar raíces con suelo de la parte aérea).
- ◆ Se recomienda el envío constante de muestras de suelo para diagnóstico de nematodos, ya que estos patógenos generalmente no son considerados como de importancia, pero, se conoce que muchos de ellos son causantes de graves enfermedades, así como iniciadores de problemas radicales fungosos, bacterianos o de virus.
- ◆ Los frutos jugosos deben acondicionarse con algodón u otro material suave que amortigüe los golpes y estar recubiertos de papel.
- ◆ Embalar el material en una caja de cartón fuerte para prevenir el deterioro de las muestras durante el tránsito.

- ◆ Identifique las muestras con etiquetas externas e internas. No coloque la etiqueta interna en contacto con la humedad ni escriba con lapicero, sólo con lápiz de carbón o lápiz de cera. Es preferible colocar doble bolsa plástica y colocar la etiqueta en medio de ellas.
- ◆ Despache las muestras de modo que lleguen en días laborables y en el tiempo más corto al laboratorio.

### **Otras consideraciones en la colecta de muestras fitopatológicas:**

- Cancros y agallas: Seleccionar ramas o ramillas con agallas jóvenes. Cortar ramas sanas y afectadas. Colocar las muestras sin humedad en un papel grueso sellado o en un envase hermético, no en bolsa plástica. Colecte el suelo circundante al pie de la planta y empaquete en una bolsa plástica sellada.
- Marchitez, muerte regresiva, pudriciones radiculares y defoliación:
  - Colecte toda la planta, de ser posible, con raíz y suelo. Extraiga las plantas (herbáceas) cuidadosamente del suelo, de tal forma que las raíces se mantengan intactas con su rizósfera (suelo alrededor de las raíces), Coloque las raíces con su rizósfera en una bolsa plástica; y empaquete la parte aérea con papel toalla y bolsa plástica sellada.
  - En el caso de plantas perennes colecte un manojo generoso de las raíces alimenticias con su rizósfera y empaquete en una bolsa plástica sellada; incluya además raíces largas que muestren pudrición con suelo. Colecte además varias ramas o ramillas con follaje mostrando un rango de síntomas, empaquete con papel toalla y bolsa plástica sellada. Describa correctamente la sintomatología observada como decoloración de raíces, canchros, etc.
- Nodulaciones: Colecte suelo y los tejidos con diferentes grados de síntomas, empaquete conjuntamente en bolsa plástica sellada.
- Manchas foliares (royas, oidiosis, mildius, sarna, antracnosis, tizones, etc.): Colecte al menos 15 hojas representativas de todos los estadios de infección. Para plantas con hojas pequeñas, corte una rama con sus hojas intactas. Empaquete en papel toalla y luego en bolsa plástica sellada. Las hojas muy suculentas recibirán el tratamiento detallado para frutos frescos.
- Quemaduras en puntas y márgenes de las hojas y amarillamientos: Colecte la planta completa con raíz y suelo, anote la distribución de la sintomatología en la planta y en el campo, así como las labores culturales realizadas (aplicaciones de plaguicidas, herbicidas, fertilizantes, etc.).

Empaquete la parte aérea y subterránea separadamente como anteriormente indicado.

- Deformación de hojas, mosaico, aclaración de venas, manchas anilladas:  
Colecte todos los estados representativos, envíe por lo menos 15 hojas de cada síntoma envuelto en papel toalla y con bolsa plástica sellada. El mantenimiento de muestras frescas es esencial para el diagnóstico de virus. Anote además detalles de las labores culturales (especialmente aplicaciones de plaguicidas y fertilizaciones).
- Frutos y otros tejidos frescos o suculentos:  
Evitar empaquetar frutos u otros órganos frescos mostrando estados avanzados de pudrición. Seleccione muestras con estados tempranos de la infección o daño. Limpie el exceso de humedad y envuelva los frutos o vegetales individualmente en doble papel toalla seco y colóquelo en una bolsa de plástico. Añada un material de empaque y envíelo en un contenedor a prueba de choque (envase hermético con paredes cubiertas por tecnopor y papel toalla de relleno).
- Flores y frutillos cuajados:  
Colecte buena cantidad de flores y frutillos con pedúnculos y ramas, empaquete en papel toalla y luego en bolsa plástica sellada, evite que la muestra esté húmeda.
- Carbones en espigas, mazorcas, tubérculos:  
Colecte varias espigas (cereales, pastos, forrajes, caña de azúcar, etc.) y frutos (mazorcas de maíz, tubérculos de papa, etc.) y envuélvalos individualmente en papel toalla y luego en bolsa de plástico selladas.
- Plántulas:  
Colecte una docena o más de plántulas con suelo o medio de crecimiento. La Rizósfera sobre las raíces debe estar intacta. Seleccione plántulas con síntomas de estado temprano e intermedio. Empaquete la muestra manteniendo el suelo intacto sobre las raíces y evitando que contacte el suelo con las hojas. Envuelva el suelo con bolsa plástica sellada y los tallitos y hojas con papel toalla. Coloque la muestra completa en una bolsa plástica con agujeros en la parte superior.
- Plantas herbáceas:  
Seleccione una docena de plantas completas, representando un rango de síntomas. Separe la parte aérea de la parte subterránea empaquetando esta última en bolsa plástica cuidando que la rizosfera se mantenga intacta con las raíces. Envolver la parte aérea con papel toalla y luego en bolsa plástica sellada.

## **2.1. Toma y envío de muestras para detección de Virus Fitopatógenos**

### **INTRODUCCION.**

La Virología Vegetal es la disciplina que estudia los virus de plantas en todos sus aspectos: estructura y composición, efectos, formas de transmisión, comportamiento ecológico y control.

Los Virus son entidades demasiado pequeñas, solo pueden observarse utilizando un Microscopio Electrónico. Todos los virus son parásitos y producen una multitud de enfermedades en todas las formas vivientes (desde humanos, animales, plantas hasta bacterias y micoplasmas). Aproximadamente la mitad de los virus conocidos atacan a las plantas. Un virus puede infectar a una especie de planta o a diferentes Familias de plantas. También una especie de planta puede estar atacada por uno o muchos virus distintos.

Después de entrar en las células del huésped, los virus se replican, se trasladan a otras células y finalmente se acumulan en diversos tejidos de la planta. Durante este proceso, los virus usan el proceso metabólico normal y causan alteraciones, dando lugar a reacciones del huésped, que se denominan "síntomas". Este proceso no es instantáneo, hay un lapso de tiempo entre la entrada del virus en la célula y la aparición del primer síntoma. Este periodo es conocido como el periodo de incubación (Bos 1970).

El hecho de que la mayoría de los virus tomen el nombre del síntoma característico que inducen en su huésped principal destaca la importancia de la Sintomatología como un criterio para su identificación. Esto fue aceptado en los inicios de la Virología; actualmente se aceptan como pruebas definitivas su purificación, observación en el microscopio electrónico y los ensayos serológicos o moleculares.

### **1. OBJETIVO.**

Dar las pautas para que la muestra sea bien tomada y correctamente remitida permitiendo un diagnóstico preciso y rápido de la plaga fitosanitaria.

### **2. CAMPO DE APLICACIÓN.**

Especies vegetales (hojas jóvenes con síntomas).

### **3. PROCEDIMIENTO.**

Un gran número de síntomas producidos por infecciones virales dependen de la interrelación entre el genotipo de la planta, el virus y su variante, y las condiciones ambientales donde interactúan.

Los síntomas pueden ser distinguidos como:

**Locales:** son los primeros en presentarse en la planta. En las hojas pueden ser lesiones cloróticas o necróticas de tamaño y tipos diferente, que dependen del huésped. Algunas “plantas indicadoras” ayudan a caracterizar un virus.

**Sistémicos:** resultan de la translocación y acumulación del virus en la planta, por ello se presentan lejos de las zonas de la planta por donde el virus fue inoculado. Así los casos de necrosis en los tubérculos de papa.

Las infecciones virales frecuentemente causan alteraciones macroscópicas en las hojas relacionadas a desviaciones de color:

**Mosaico o Moteado:** son áreas cloróticas (pálidas) en las hojas. Producidos por la destrucción de cloroplastos y reducción en la producción de clorofila.

**Aclaramiento de las venas:** el color es mas claro que el normal. Es un síntoma transitorio y comúnmente precede a los mosaicos.

**Amarillamiento:** pueden ser anillos, líneas o manchas pequeñas que contrasta con el color verde de la lámina foliar.

**Pigmentación anormal:** producción excesiva de algunas sustancias y su translocación irregular, así hojas con “antocianina” muestran coloraciones púrpura, rojo o azul. (Antocianescencia). Hojas con “melanina” muestran color marrón o negro (Bronceamiento).

Otros síntomas pueden ser Desviaciones de forma, tamaño y textura de hojas:

**Enrollamiento:** foliolos enrollados hacia arriba, puede también ser causado por Rhizoctonia.

**Encrespamiento:** los márgenes foliares con apariencia ondulada, asociada con mosaicos.

**Deformación:** hojas alongadas o ensanchadas en la lamina foliar.

**Rugosidad:** crecimiento desproporcionado de las venas y laminas.

**Hojas coriáceas:** hay acumulación de almidón en las células, asociadas al enrollamiento.

**Enación:** sobrecrecimiento de tejido a nivel de la vena principal de la hoja.

Finalmente hay Desviaciones del aspecto general de la planta, tales como:

**Enanismo:** plantas que emergen tardíamente y son mas pequeñas que las sanas, pueden mostrar además un grado de deformación en tallos y hojas.

**Debilidad:** tallos delgados y débiles, las plantas pueden tenderse al suelo.

**Arrosetamiento:** hojas pequeñas y encrespadas en parte terminal del tallo.

**Escoba de brujas:** proliferación de ramas axilares en los tallos principales, asociado con enanismo y clorosis foliar.

## ELECCIÓN DE LA MUESTRA.

Una buena elección del material foliar infectado, facilita enormemente la labor de diagnóstico, por lo tanto debe considerarse todo lo anteriormente mencionado.

**Es importante indicar que las hojas deben ser jóvenes en estado inicial o intermedio de la enfermedad, daños avanzados no sirven para el ensayo.**

De ser posible acompañe sus envíos con muestras “sanas” para hacer comparaciones

El responsable de cada Dirección Ejecutiva del SENASA debe revisar y aprobar esta actividad junto con la Hoja de Datos de la muestra.

## INFORMACION QUE DEBE ACOMPAÑAR A LA MUESTRA.

Cada muestra debe venir con el Formato de “Remisión de muestra para Diagnóstico de plagas Agrícolas”, para poder correlacionar la sintomatología con los datos adjuntos.

## CONDICIONES DEL EMBALAJE Y REMISION.

El embalaje debe proteger las muestras de accidentes durante el tránsito y enviadas por el medio más rápido; si es posible entre geles refrigerantes, a fin de evitar que las muestras lleguen secas o en estado de descomposición.

- a. Colocar las hojas foliares entre laminas de cartón bien individualizadas.
- b. Los frutos con síntomas deben acondicionarse para evitar golpes.
- c. Evitar colocar etiquetas en contacto con humedad, es preferible la escritura a Lápiz.
- d. Marcar el paquete a nombre del Laboratorio de Sanidad Vegetal del SENASA los despachos deben arribar en días laborables y en el tiempo más corto.

## III. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE MALEZAS

### 3.1 Elección de la muestra

- ◆ Las muestras de malezas para su identificación y reconocimiento taxonómico deben reunir ciertas condiciones indispensables. Estas deben poseer raíz (si fuera posible), tallo, hojas, flores y frutos, estos dos últimos órganos son indispensables para lograr una correcta y rápida identificación.
- ◆ De acuerdo a su hábitat debe considerarse lo siguiente:
- ◆ En malezas terrestres; cuando son pequeñas, se debe coleccionar la planta en forma completa. En caso contrario tomar una muestra que contenga parte del tallo, hojas, flores y frutos. El mismo patrón debe seguirse para coleccionar malezas parásitas y hemiparásitas.

- ◆ En malezas acuáticas; introducir un papel periódico o cartulina suave debajo de la planta y levantarlo paulatinamente. No debe sacarse la planta del agua sin estar apoyada en el papel o cartulina, de lo contrario pierde su forma natural y puede dificultar su identificación.
- ◆ En malezas arbustivas; tomar la muestra con una parte de tallo y ramas con flores y frutos. No debe tomarse ejemplares que solo tengan ramas estériles.
- ◆ En caso de malezas arbóreas; tomar muestras con ramas conteniendo hojas, flores y frutos de tamaño representativo. Cuando las hojas son de gran tamaño, tomar parte de la hoja con peciolo adherido a la rama.
- ◆ Cuando los especímenes colectados contengan bulbos, tubérculos, rizomas o estolones, si son pequeños incluirlos totalmente en la muestra, pero si son grandes y gruesos, en la muestra incluir solamente una parte de dicho órgano (corte transversal o longitudinal)
- ◆ Si los frutos son grandes y carnosos, deben separarse de la rama y embalarlos adecuadamente.
- ◆ En todos los casos, coleccionar material en cantidad razonable, que incluyan varios ejemplares. Enviar al laboratorio como mínimo 3 ejemplares.
- ◆ Siempre debe elegirse ejemplares que no presenten daños de insectos o patógenos.
- ◆ En cada muestra colectada se debe adjuntar una etiqueta donde se anota datos importantes como: Departamento, Provincia, localidad, altitud, donde se realizó la colecta. Nombre común de la maleza, hábito de crecimiento y hábitat. También otras características como: color de la flor, porte, uso conocido y algún otro dato que se estime conveniente. Finalmente anotará la fecha de colección y el nombre del colector.

### **3.2 Condiciones de embalaje**

Las muestras colectadas deben ser embaladas adecuadamente con el fin de protegerlas durante su traslado. Según el caso tener presente las siguientes consideraciones:

Cuando van a ser transportadas a corta distancia y pueden llegar el mismo día al laboratorio, extenderlas (material fresco) dentro de pliegos de papel periódico y colocarlos entre cartones, estos a la vez dentro de una bolsa de plástico o una caja de cartón, cuidando que no sufran la acción directa de los rayos solares o de altas temperatura y trasladarlas inmediatamente al laboratorio.

Cuando las muestras van a ser transportadas a mayores distancias y su traslado va a demorar varios días, es conveniente prepararlas y acondicionarlas adecuadamente, siguiendo técnicas especiales que incluyen prensado y secado.

### **3.3 Envío**

Las muestras colectadas y acondicionadas adecuadamente, se remitirán al laboratorio por el medio más rápido posible para su identificación.

## IV. TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA ANALISIS NEMATOLÓGICO

En cualquier ambiente que los nematodos se encuentren, su distribución es irregular. Debido a su poca movilidad, se encuentran localizados en ciertas zonas de un campo. Como no es posible examinar todo el ambiente en que los nematodos se encuentran y muchas veces no se sabe en qué zonas están, es necesario hacer un muestreo.

### 4.1 Finalidades del muestreo

#### 4.1.1 CON FINES DE DIAGNOSIS

Se realiza cuando se observan los síntomas en el campo, a fin de relacionar la sintomatología con la densidad poblacional de nemátodos.

#### Muestreo de Cultivos anuales

Con un muestreador o una lampita se toman tres muestras por parche (fig 1). La primera muestra (A) se toma dentro del parche; la segunda (B), en el límite entre el parche y las plantas sanas; y la tercera (C), fuera del parche donde crecen plantas aparentemente sanas.

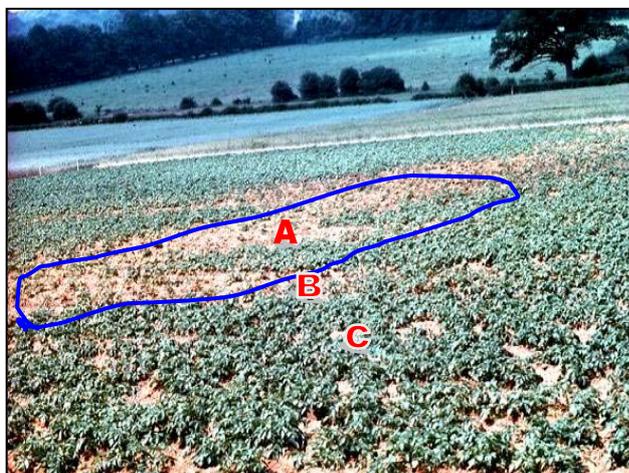


Figura 1: Modelo de parche

#### Muestreo de Cultivos perennes (frutales)

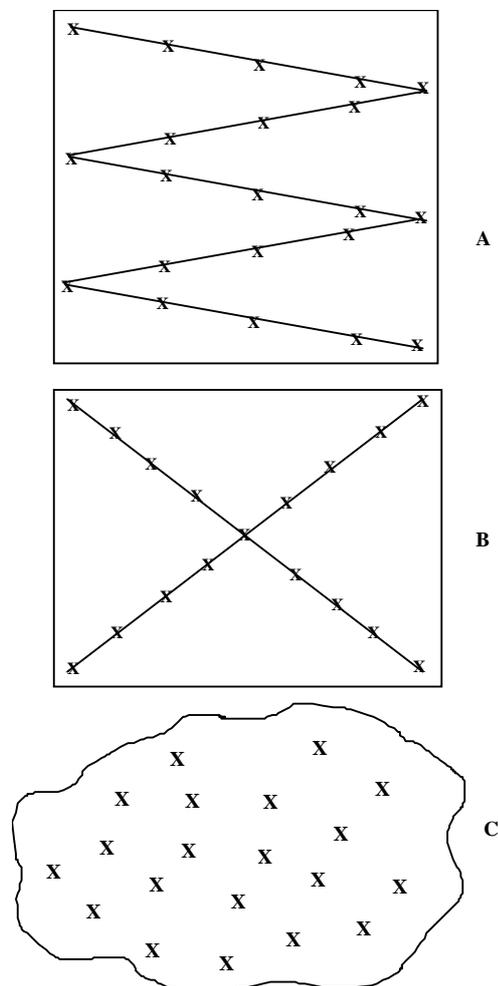
En árboles se deben tomar muestras alrededor del árbol, justo en la proyección de la copa, las que luego se mezclan. A veces es recomendable muestrear árboles con diferentes grados de la enfermedad.

#### 4.1.2 CON FINES DE DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD MEDIA

Se realiza para determinar la población de nemátodos presentes en el campo. Los resultados se utilizan para decidir las medidas de control a implementar.

##### Muestreo en cultivos anuales

- Se recomiendan tomar muestras de 30 puntos por hectárea, siguiendo el recorrido que se muestra en el gráfico 1.
- Quitar la capa superficial del suelo con la ayuda de una lampita, luego se toma la submuestra hasta una profundidad entre 0 - 30 cm. las que se juntan en un balde.
- Homogenizar y extraer una muestra de aproximadamente 1 kg.

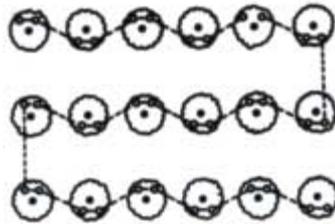


**Gráfico 1:** Tipos de recorrido para la toma de muestra nematológica

##### Muestreo en cultivos perennes (frutales)

- Se procede siguiendo el recorrido del gráfico 2, al igual que el caso anterior se recomiendan tomar muestras de 30 puntos por hectárea,

- b) Quitar la capa superficial del suelo con la ayuda de una lampita, luego se toma la submuestra hasta una profundidad entre 20 a 50 cm.
- c) Juntar en un balde, homogenizar y extraer una muestra de aproximadamente 1 Kg.



**Grafico 2.** Recorrido para la toma de muestras en frutales

#### **4.2 Identificación de las muestras**

- a) Llenar en bolsas de polietileno, firmes y bien selladas
- b) Identificar las muestras, la cual debe llenarse a lápiz para evitar que la humedad de la muestra borre los datos de identificación. Se deben emplear dos etiquetas de identificación, una en la bolsa con la muestra y la otra, en la parte externa.

#### **4.3 Cuidados que deben tenerse con las muestras**

- a) No maltratarlas o manipularlas demasiado. Algunas especies de nemátodos son susceptibles al manipuleo.
- b) Evitar que se seque o se caliente demasiado.
- c) No dejarla expuesta a la acción del sol y transportarla en recipientes ventilados.
- d) Almacenarlas en lugares húmedos y fríos, de 4 a 7°C.

#### **4.4 Remisión de las muestras**

Las muestras tomadas deben ser enviadas con todos los datos mencionados (formato de remisión de muestras para análisis fitosanitario)

### **V. OTRO TIPO DE MUESTRAS:**

- ◆ Existen otros tipos de organismos que pueden causar daño a los cultivos, como los caracoles, babosas, roedores, aves, y otros tipos de animales especialmente en zona de selva. Para ello, debe de tenerse el adecuado criterio para evaluar los daños producidos.
- ◆ El envío hacia la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal, debe ser consultado con antelación con el fin de tomar una decisión

sobre la posibilidad de analizar las muestras, ya que muchas de ellas deberán derivarse hacia otras instituciones como las universidades o institutos de investigación, pudiéndose realizar en el mismo departamento o en Lima. Los Convenios firmados con estas instituciones serán utilizados para conseguir los fines deseados.