

DIRRECCIONES PARA EL MUESTREO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS VEGETALES PARA SU ANÁLISIS FITOPATOLÓGICO

LA MUESTRA Y SUS CARACTERÍSTICAS

El término "muestra", en protección vegetal, es distinto del significado dado en estadística: **una muestra, es una parte de un todo, que reúne la mayoría de sus características**. Puede ser de tejido vegetal (hojas, tallos, frutos, ramas, raíces) o una porción de suelo tomado al pie de una o varias plantas. La muestra debe tener atributos y cualidades que la hagan representativa la patología que aparece en el campo de procedencia.

Algunas de las cualidades de una muestra son:

- Ser representativa: se toman en diferentes puntos del área de cultivo, en diferentes estadios de desarrollo de la planta o del tejido afectado, o del insecto plaga
- Ser lo más cercano posible a lo que se manifiesta en condiciones naturales: La muestra debe preservar los síntomas y signos, tal y como se observan en el campo. Debe evitarse los cambios durante el transporte, ya que los cambios de color, pudriciones aceleradas, inclusive cambio de olor puede provocar confusiones en el laboratorio.
- Incluir las fases que identifican al agente causal de la enfermedad o plaga: Una buena muestra deberá llevar consigo todas las fases de desarrollo que se observan en campo. Considérese que se están trasladando tejidos vivos con organismos vivos sobre ellos. En el caso de insectos, es necesario trasladarlos con tejido vegetal vivo para que puedan ser observados con todas las características que ayuden a su determinación

Son atributos de una buena muestra:

- Que sea fresca o debidamente preservada.
- Abundante.
- Debidamente identificada.
- Que no esté combinada.

Una muestra debe ser trasladada al laboratorio bajo condiciones que le permitan mantener sus características tal y como se manifiestan en condiciones naturales. Lo correcto es trasladarla el mismo día en que ha sido tomada, aplicando las medidas necesarias para no disminuir su calidad, no ser expuesta a condiciones extremas (calor o frío) y estar debidamente empacada. Lo usual y recomendable es mantenerla a temperatura de **4 - 8° C dentro de bolsas plásticas**. Las muestras deben estar separadas, no se deben combinar muestras que presenten síntomas diferentes, ni mucho menos cultivos. Tampoco se debe combinar suelo con hojas o frutos.

TOMA de MUESTRA ANTES DE LA SIEMBRA O TRASPLANTE

Es recomendable que antes de iniciar semilleros, trasplantes o siembras en campo definitivo, se hagan muestreos para disminuir riesgos de pérdida de tiempo, dinero y esfuerzo. El análisis más frecuente en esta etapa es el nematológico. Muchas veces, si se detectan nematodos antes del momento del trasplante o de la siembra, se puede aplicar el control necesario. Si ya existe cultivo en el área y se va a renovar, se pueden realizar otros análisis para determinar la presencia de hongos y bacterias que pudieran ser infectivos en las raíces.

TOMA de MUESTRA DESPUÉS DE LA APARICIÓN DE LOS PRIMEROS SÍNTOMAS

Al presentarse en el campo los primeros síntomas en plantas aisladas, es el momento ideal para tomar una muestra y obtener un diagnóstico.

PROCESO de TOMA de MUESTRA

Para tomar muestras es necesario, contar con el equipo y materiales adecuados para su obtención y preservación. El equipo que se utilizará en una toma de muestras, es diverso y dependerá de lo que se va a muestrear; sin embargo, un técnico debería equiparse con los siguientes materiales:

1. Navaja bien afilada o tijera de podar
2. Lupa,
3. Lápiz
4. Libreta de campo
5. Etiquetas
6. Papel absorbente o algodón
7. Bolsas de plástico de diferente tamaño
8. Pico y pala
9. Frascos
10. Alcohol 90°

Vegetal aéreo

Como vegetal aéreo se consideran las hojas, ramas, tallos, flores y frutos. En este caso, aunque los síntomas se observen en diferentes tejidos y sean similares entre unos y otros, deben de separarse dentro de la misma muestra. Es decir, dentro de una bolsa se colocan otras bolsitas con las muestras de los distintos tejidos. Por ejemplo: una con flores, otra con hojas y otra con frutos, con el fin de evitar una posible contaminación de un tejido a otro.

• Hojas, flores, frutos

1. Deben tomarse tejidos sanos y enfermos. En el caso de los enfermos deben considerarse todas las posibles etapas de daño.
2. Una muestra debe contener un solo tipo de daño. Si se observan diferentes síntomas deben de separarse.
3. Debe incluir los órganos que se vean afectados.
4. Las muestras deberán ser colocadas en bolsas plásticas y junto a ellas, una porción de papel absorbente o algodón humedecido para mantener la humedad y favorecer al patógeno.
5. Una vez preparada e identificada la muestra debería mantenerse a temperatura de 4 - 8 °C para su transporte al laboratorio.

• Tallos y ramas

Además de lo considerado en los puntos 1 y 2 del muestreo de hojas, flores y frutos, debe considerarse:

1. Si son tallos o ramas herbáceos o suculentos, deberán ser colocados en bolsas plásticas y junto a ellos, una porción de papel absorbente o algodón humedecido para favorecer la estabilización del patógeno. Una vez preparada e identificada la muestra debe colocarse manteniendo a temperatura de 4 - 8 °C, para su transporte al laboratorio.
2. Si son tejidos semileñosos o leñosos deberán ser cortados en tamaños de 30 - 40 cm o menos y atados "en manojos". No es recomendable introducirlo en bolsas con humedad, ya que se puede degenerar.

Vegetal subterráneo

Como partes subterráneas del vegetal se consideran raíces, cormos, bulbos, rizomas, estolones y todos aquellos tejidos u órganos que mantienen contacto constante con el suelo.

- [Raíces, cormos, bulbos, rizomas, estolones](#)

1. Debe tomarse muestras de raíces de las plantas que presentan síntomas aéreos y que sugieran que el daño es a nivel radicular, así como de plantas aparentemente sanas.
2. Las muestras deben incluir material sano y enfermo en forma separada.
3. Debe incluir el suelo adherido a los órganos y el suelo periférico a los puntos de muestreo.
4. Por ningún motivo la muestra deberá ser lavada.
5. Las muestras tomadas se colocan en bolsas plásticas procurando mantener en contacto las raíces o los órganos obtenidos con el suelo.
6. Una vez preparada e identificada la muestra debería mantenerse a temperatura de 4 - 8 °C para su transporte al laboratorio

- [Semillas](#)

Debe considerarse como semillas, a aquellos órganos que cumplen el fin de propagación de las plantas.

1. Muestreo aleatorio: al azar
2. Muestreo dirigido: tomar sólo aquellas semillas que manifiesten características diferentes a las que se consideran normales (coloración, tamaño, textura, conformación, consistencia, etc.).

- [Suelo para el análisis de nematodos](#)

Los nemátodos no están distribuidos uniformemente en un campo de cultivos, sino que se encuentran en grupos dentro de áreas bien definidas. Se desarrollan varias generaciones en cada ciclo de cultivo y las nuevas, tienden a permanecer cerca de su punto de origen. Esta distribución aleatoria hace difícil la medición de poblaciones.

El primer síntoma manifiesto de un problema de nemátodos, es el pobre crecimiento de las plantas en una sección del campo. Cada una de las especies de nemátodos tiene preferencias definidas a profundidades particulares del suelo aunque la mayoría se desarrollan en los primeros 10 cm. de profundidad. En los puntos de submuestreo se utilizará un barreno o una pequeña pala y se tomará lo que se obtenga en los primeros **20 cm. de profundidad**. Si se utiliza una pala la muestra será la porción equivalente a **1/4 de kg**, y se colocara en una cubeta o en su defecto en una bolsa. La muestra debe incluir raíces si se presentan.

1. Campo sin cultivo: Muestreo aleatorio (al azar)

En el campo de muestreo se camina en zig zag con las distancias predeterminadas, según la intensidad del muestreo planificado. Se muestrean puntos cada determinado número de pasos o para casos más precisos, el campo puede subdividirse en parcelas que pueden oscilar entre 10 x 10 m, 25 x 25 m, 100 x 100 m o más según el nivel de detección que se desee. El tamaño de la muestra y la cantidad de submuestras varía considerablemente, pero generalmente se puede estimar entre **20 a 50 submuestras/ Ha** (puntos de muestreo).

2. Campo con cultivo:

Sin síntomas: Muestreo aleatorio (al azar)

Se efectuará en cada punto, al pie de las plantas, en la zona de mayor concentración de raíces; tomando el suelo periférico a ellas y a una profundidad que va desde el ras del suelo hasta los primeros 20 cm. En árboles frutales se tomarán cuatro muestras alrededor del árbol en la zona de goteo interna. Otras cuatro en los diferentes puntos cardinales alrededor de la zona de goteo externa (se entiende como zona de goteo externa al perímetro de la sombra proyectada cuando el sol se encuentra en el zenit, y como zona de goteo interna al perímetro de área que abarca la apertura de las ramas principales a las ramas secundarias).

Con síntomas en un sector determinado: muestreo dirigido

Cuando se tiene la sospecha de la presencia de nemátodos en áreas definidas (parches o áreas con plantas de escaso desarrollo, con amarillamiento, con cierto grado de marchitez,

especialmente en horas de mayor intensidad solar), se tomarán muestras en el sector afectado y otro en el sector que se considera sano con el fin de comparar los niveles de población y establecer si los nemátodos son los responsables del daño.

Cuando se requiere muestreo de plantas se puede utilizar una tabla de probabilidad de muestreo, como la que se muestra a continuación.

Tabla - Valores para determinar el número de muestras en lotes para análisis de nemátodos

Tamaño de lote	Tamaño de muestra	Tamaño de lote	Tamaño de muestra
2 - 8	2	501 - 800	75
9 - 15	3	801 - 1300	110
16 - 25	5	1.301 - 3.200	150
26 - 40	7	3.201 - 8.000	225
41 - 65	10	8.001 - 22.000	300
66 - 110	15	22.001 - 110.000	450
111 - 180	25	110.001 - 550.000	750
181 - 300	35	550.001 o más	1500
301 - 500	50		

El criterio de uso de la tabla se muestra en el siguiente ejemplo:

Se tiene un vivero con 12.000 plantas, dividido en mesas con 100 plantas cada mesa. Para determinar cuantas plantas tomar, según la tabla anterior:

Plantas: 12.000 _____ Rango = 8.001 a 22.000 _____ nº de muestras = 300 plantas

Mesas: 120 _____ Rango = 111 a 180 _____ nº de mesas = 25

Se seleccionarían 25 mesas al azar y en cada mesa se ubican 12 plantas al azar (300 / 25) y de cada una de las plantas se analizaría una porción de raíces y suelo.

Transporte de las muestras de suelo:

Para su transporte se deben colocar en bolsas plásticas, convenientemente identificadas con dos etiquetas, una dentro de la bolsa y la otra sobre la bolsa, indicando los datos básicos. Las muestras deben conducirse en un recipiente fresco. Si no se van a transportar inmediatamente deben guardarse en un refrigerador a más o menos 4 °C. En estas condiciones pueden permanecer hasta una semana. Se recomienda que en la manipulación de las muestras no se expongan al sol o manejo violento, para evitar la muerte de los nemátodos. Las muestras deberán trasladarse al laboratorio lo más rápidamente posible para evitar cambios en las densidades de las poblaciones de los nemátodos.