

SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

RESOLUCIÓN N°.....-⁵³⁸

“POR LA CUAL SE APRUEBA EL MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL *SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS (SENAVE)*”.

-1-

Asunción, 16 de noviembre de 2012.-

VISTO:

El Memorandum N° 374/12 de la Dirección de Protección Vegetal; la Providencia N° 051/12 de la Dirección General Técnica y la Ley N° 2.459/04 “*Que crea el Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE)*”, y;

CONSIDERANDO:

Que, por el referido memorandum la Dirección de Protección Vegetal eleva a consideración de la Dirección General Técnica el Proyecto del Manual Instructivo Técnico para la toma, acondicionamiento y envío de muestras biológicas a los laboratorios del SENAVE.

Que, el Manual Instructivo Técnico para la toma, acondicionamiento y envío de muestras biológicas a los laboratorios, tiene por objetivo dotar a las dependencias técnicas y operativas del SENAVE, de procedimientos oficiales, para respaldar técnica y científicamente los muestreos que se realizan a nivel de campo, de todas las partes vegetales, productos y subproductos vegetales a fin de que se pueda brindar a los productores agrícolas, diagnósticos fitosanitarios veraces y contundentes.

Que, por Providencia N° 051/12 la Dirección General Técnica solicita dar curso favorable a la propuesta de la Dirección de Protección Vegetal.

Que, a este respecto, la Ley N° 2459/04 “*Que crea el Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE)*”, en su Artículo 9 establece: “*Serán funciones del SENAVE, además de las establecidas en las Leyes N°s. 123/91 y 385/94 y otras referentes a la sanidad y calidad vegetal y de semillas, las siguientes:...* c) *establecer las reglamentaciones técnicas para la ejecución de cualquier actividad de su competencia en todo el territorio nacional de acuerdo a las legislaciones pertinentes*”, asimismo el Artículo 13° expresa: “*Son atribuciones y funciones*



SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

RESOLUCIÓN N° 538-

“POR LA CUAL SE APRUEBA EL MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL *SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS (SENAVE)*”.

-2-

del Presidente: ... j) Dictar el reglamento interno y el manual operativo”.

Que, la Asesoría Jurídica según Dictamen N° 987/12, dictamina que no existen impedimentos legales para la aprobación del Manual Instructivo Técnico para la toma, acondicionamiento y envío de muestras biológicas a los laboratorios del SENAVE, conforme al proyecto remitido por la Dirección de Protección Vegetal.

POR TANTO:

En virtud a las facultades y atribuciones conferidas por la Ley N° 2.459/04 *“Que crea el Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE)”*.

EL PRESIDENTE DEL SENAVE

RESUELVE:

Artículo 1°.-

APROBAR, el **MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**, que forma parte como anexo de la presente Resolución.

Artículo 2°.-

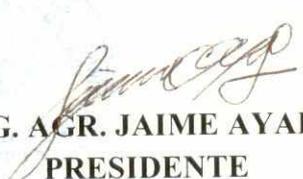
ESTABLECER, que la Dirección General Técnica, a través de sus áreas competentes será responsable de la implementación del Manual Instructivo Técnico para la toma, acondicionamiento y envío de muestras biológicas a los laboratorios del SENAVE, aprobado por la presente.

Artículo 3°.-

ESTABLECER, que la presente resolución rige a partir de su fecha de promulgación.

Artículo 4°.-

COMUNICAR, a quienes corresponda y cumplida archivar.



ING. AGR. JAIME AYALA
PRESIDENTE



SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

I. INTRODUCCIÓN

La toma y el acondicionamiento correcto de las muestras, que serán analizadas en los Laboratorios del SENAVE, o cualquier otro laboratorio, debidamente acreditado por la Institución, son factores determinantes para la calidad de los resultados que se obtengan.

Por ello, es de fundamental importancia ajustarse estrictamente a las instrucciones que se detallarán más adelante, tomando en cuenta el tipo de sintomatología o daño, la especie vegetal, parte de la planta que se muestrea y los objetivos del diagnóstico.

La metodología de inspección y muestreo debe efectuarse con atención, responsabilidad y en la época oportuna, ya que el diagnóstico final del propio problema definirá las medidas a adoptar, brindando un máximo de garantías a la producción nacional.

II. OBJETIVO

El objetivo de este manual, es servir de guía a los técnicos del SENAVE, en los procedimientos de muestreo de partes vegetales, así como productos y subproductos vegetales, con instrucciones claras sobre las formas correctas de coleccionar, acondicionar y enviar las muestras al laboratorio.

III. METODOLOGÍA

El proceso se inicia con la planificación de las actividades como ser: la elección del cultivo a prospectar, la importancia económica de dicho cultivo, la superficie sembrada, la fenología de la misma y las posibles plagas asociadas, de manera a obtener la mayor información posible antes de realizar el trabajo.

El muestreo puede dar como resultado la constatación de una plaga presente en el país, una plaga cuarentenaria o una plaga exótica para el país. En el primero de los casos, cuando se verifica una plaga presente, se registra la información en la Base de Datos de plagas presentes en el país, disponible en el Departamento de Vigilancia Fitosanitaria (DVF).

En el caso de detectar una plaga cuarentenaria o ausente, para el país, luego de realizar la evaluación correspondiente por los Departamentos de Cuarentena Vegetal (DCV) y Vigilancia Fitosanitaria (DVF) se realizarán nuevos muestreos en las zonas de detección, para una reconfirmación y si es necesario se remitirán submuestras a otros laboratorios competentes autorizados por el SENAVE. En caso de reconfirmarse, se remitirán los resultados nuevamente al Departamento de Cuarentena Vegetal (DCV) y al Departamento de Vigilancia Fitosanitaria (DVF) para su análisis exhaustivo, considerando la norma internacional de medidas fitosanitarias **NIMF N° 8 = "Determinación de la situación de una plaga en un**

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

área” y la resolución promulgada por el SENAVE Res: N° 354/09 “**POR LA CUAL SE REGLAMENTA EL ARTÍCULO 9º, INCISO G) DE LA LEY N° 2459/04 – QUE CREA EL SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS (SENAVE)**” para notificar una plaga en un cultivo y su registro correspondiente dentro del compendio de plagas presentes para Paraguay, acompañando con trabajos de vigilancia y monitoreo continuo a fin de poder clasificar si es que corresponde a una plaga principal o secundaria de un determinado hospedante, además proceder al cambio de estatus en el caso que sea plaga cuarentenaria por el Departamento de Cuarentena Vegetal.

IV. DEFINICIONES

- Agua gravitacional:** Agua que está sometida a la fuerza de la gravedad. Se puede mover libremente a lo largo de los poros por diferencias de potencial.
- Bulbos y tubérculos:** Clase de producto básico correspondiente a las partes subterráneas latentes de las plantas destinadas a ser plantadas (incluidos los cormos y rizomas) [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001].
- Campo:** Parcela con límites definidos dentro de un lugar de producción en el cual se cultiva un producto básico [FAO, 1990].
- Capacidad de campo:** Grado de humedad de una muestra que ha perdido toda su agua gravitacional.
- Condición de una plaga (en un área)** Presencia o ausencia actual de una plaga en un área, incluyendo su distribución donde corresponda, según lo haya determinado oficialmente el juicio de expertos basándose en los registros de plagas previos y actuales y en otra información pertinente [CEMF, 1997; revisado CIMF, 1998; anteriormente situación de una plaga (en un área) y estatus de una plaga (en un área); revisado, CMF, 2009].
- Contención:** Aplicación de medidas fitosanitarias dentro de un área infestada y alrededor de ella, para prevenir la dispersión de una plaga [FAO, 1995].
- Control:** (de una plaga): Supresión, contención o erradicación de una población de plagas [FAO, 1995].
- Encuesta:** Procedimiento oficial efectuado en un período dado para

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

determinar las características de una población de plagas o para determinar las especies de plagas presentes dentro de un área [FAO, 1990; revisado CEMF, 1996].

- Erradicación:** Aplicación de medidas fitosanitarias para eliminar una plaga de un área [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; anteriormente erradicar].
- Examen visual:** Examen físico de plantas, productos vegetales u otros artículos reglamentados utilizando solo la vista, una lupa, un estereoscopio o microscopio para detectar plagas o contaminantes sin realizar pruebas ni procesos [NIMF N° 23, 2005].
- Exótico:** No originario de un país, ecosistema o ecoárea en particular (se aplica a organismos que se han introducido intencional o accidentalmente como consecuencia de actividades humanas).
- Fresco:** Vivo, no desecado, congelado o conservado de otra manera [FAO, 1990].
- Frutas y hortalizas:** Clase de producto básico correspondiente a las partes frescas de plantas destinadas al consumo o elaboración y no a ser plantadas [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001].
- Grano:** Clase de producto básico correspondiente a las semillas destinadas a la elaboración o consumo y no a la siembra (véase semillas) [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001].
- Hábitat:** Parte de un ecosistema con condiciones en las cuales un organismo está presente naturalmente o puede establecerse [CIMF, 2005].
- Incidencia** (de una plaga): Proporción o número de unidades de una muestra, envío, campo u otra población definida en las que está presente una plaga [CMF, 2009].
- Infestación** (de un producto básico): Presencia de una plaga viva en un producto básico, la cual constituye una plaga de la planta o producto vegetal de interés. La infestación también incluye infección [CEMF, 1997; revisado CEMF, 1999].
- Intercepción** (de una plaga): Detección de una plaga durante la inspección o pruebas de un

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

- plaga): envío importado [FAO, 1990; revisado CEMF, 1996].
- Introducción:** Entrada de una plaga que resulta en su establecimiento [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997].
- Inspección:** Examen visual oficial de plantas, productos vegetales u otros artículos reglamentados para determinar si hay plagas y/o determinar el cumplimiento con las reglamentaciones fitosanitarias (FAO, 1990; revisado FAO, 1995; anteriormente inspeccionar).
- Madera:** Clase de producto básico correspondiente a la madera en rollo, madera aserrada, virutas o madera para embalaje de estiba con o sin corteza [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001].
- Medida de emergencia:** Medida fitosanitaria establecida en caso de urgencia ante una situación fitosanitaria nueva o imprevista. Una medida de emergencia puede ser o no una medida provisional [CIMF, 2001; revisado CIMF, 2005].
- Medida fitosanitaria:** (interpretación convenida) Cualquier legislación, reglamento o procedimiento oficial que tenga el propósito de prevenir la introducción y/o dispersión de plagas cuarentenaria o de limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas [FAO, 1995; revisado CIPF, 1997; CIMF, 2002; aclaración, 2005].
- Monitoreo:** Proceso oficial continuo para comprobar situaciones fitosanitarias [CEMF, 1996; anteriormente verificación].
- Muestra:** Es la cantidad de material cuya composición debe representar estadísticamente la totalidad del material de donde se tomó, con el fin de ser analizada en el laboratorio.
- Muestra: COSAVE** Suma de todas las tomas realizadas (al azar o en forma dirigida), de un producto o especímenes que representan o se encuentra asociado a un lote, envío o con actividades fitosanitarias. En caso de ser necesario, puede ser reducido o fraccionado, por el propio laboratorio.
- Muestra entomológica:** Muestra corresponde a un conjunto de especímenes colectados, más la cantidad de producto (cuando corresponda) enviado y recibido en el Laboratorio apto para su preparación y diagnóstico.

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

Muestreo.	Es el conjunto de operaciones que se llevan a cabo con el objeto de extraer muestras representativas de un determinado lote.
NIMF:	Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias [CEMF, 1996; revisado CIMF, 2001].
Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias:	Norma internacional adoptada por la Conferencia de la FAO, la Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias o la Comisión de Medidas Fitosanitarias, establecida en virtud de la CIPF [CEMF, 1996; revisado CEMF, 1999].
Normas internacionales:	Normas internacionales establecidas de conformidad con lo dispuesto en los párrafos 1 y 2 del Artículo X [CIPF, 1997; aclaración, 2005].
Notificación de ocurrencia de plagas:	Comunicación que se realiza personalmente en forma oral, por teléfono u otro medio de comunicación en relación a la ocurrencia de un problema fitosanitario, por parte de los agricultores, técnicos, investigadores, empresas o público en general.
Lote:	Conjunto de unidades de un solo producto básico, identificable por su composición homogénea, origen, etc., que forma parte de un envío [FAO, 1990].
Oficial:	Establecido, autorizado o ejecutado por una Organización Nacional de Protección Fitosanitaria [FAO, 1990].
Organismo:	Entidad biótica capaz de reproducirse o duplicarse en su forma presente naturalmente [NIMF N° 3, 1996; revisado NIMF N° 3, 2005].
País de origen (de artículos reglamentados que no sean plantas o productos vegetales):	País donde los artículos reglamentados se expusieron por primera vez a contaminación de plagas [FAO, 1990; revisado CEMF, 1996; CEMF, 1999] país de origen (de un envío de plantas) País donde se han cultivado las plantas [FAO, 1990; revisado CEMF, 1996; CEMF, 1999].
País de origen (de un envío de productos vegetales):	País donde se han cultivado las plantas de donde provienen los productos vegetales [FAO, 1990; revisado CEMF, 1996; CEMF, 1999].

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

Patógeno:	Microorganismo causante de una enfermedad [NIMF N° 3, 1996].
Plaga:	Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales [FAO 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997].
Plaga cuarentenaria:	Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro aún cuando la plaga no esté presente o, si está presente, no está extendida y se encuentra bajo control oficial [FAO 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997; aclaración, 2005].
Plantas:	Plantas vivas y partes de ellas, incluidas las semillas y el germoplasma [FAO, 1990; revisado CIPF, 1997; aclaración, 2005].
Presencia:	La existencia en un área de una plaga oficialmente reconocida como indígena o introducida y no reportada oficialmente como que ha sido erradicada [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; NIMF N° 17, 2002; anteriormente presente].
Producto básico:	Tipo de planta, producto vegetal u otro artículo que se moviliza con fines comerciales u otros propósitos [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001].
Producto almacenado:	Producto vegetal no manufacturado, destinado al consumo o a la elaboración, almacenado en forma seca (incluye en particular los granos, así como frutas y hortalizas secas) [FAO, 1990].
Productos vegetales:	Materiales no manufacturados de origen vegetal (incluyendo los granos) y aquellos productos manufacturados que, por su naturaleza o por su elaboración, puedan crear un riesgo de introducción y dispersión de plagas. (FAO, 1990; revisado CIPF, 1997; aclaración, 2005; anteriormente producto vegetal).
Semillas:	Clase de producto básico correspondiente a las semillas para plantar o destinadas a ser plantadas y no al consumo o elaboración (véase grano) [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001].
Tratamiento:	Procedimiento oficial para matar, inactivar o eliminar plagas o ya sea para esterilizarlas o desvitalizarlas [FAO 1990; revisado FAO, 1995; NIMF N° 15, 2002; NIMF N° 18, 2003; CIMF, 2005].

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

Vigilancia: Un proceso oficial mediante el cual se recoge y registra información sobre la presencia o ausencia de una plaga utilizando encuestas, monitoreo u otros procedimientos [CEMF, 1996].

V. ABREVIATURAS

- CEMF** : Comisión Extraordinaria de Medidas Fitosanitarias.
- CIMF** : Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias.
- CIPF** : Convención Internacional de Protección Fitosanitaria.
- DCV** : Departamento de Cuarentena Vegetal.
- DVF** : Departamento de Vigilancia Fitosanitaria.
- FAO** : Organización para la Alimentación y la Agricultura.
- GPS** : Sistema de Posicionamiento Global.
- ONPF** : Organización Nacional de Protección Fitosanitaria.
- NIMF** : Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias.
- SENAVE** : Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas.

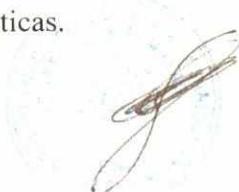
V. CRITERIOS A CONSIDERAR EN LA TOMA Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Existen una serie de criterios mínimos que deben manejarse claramente a la hora de tomar la muestra:

- Tener un conocimiento general de las características del cultivo, la zona donde se encuentra, la fenología que presenta, las plagas posibles a detectar, entre otros.
- Elegir cuidadosamente el plan de muestreo.
- Los métodos de muestreo varían con el tipo y variedad de cultivo, el estado fenológico del mismo, la biología y estados dañinos de la plaga, los órganos que ataca, etc.
- Utilizar técnicas correctas para la toma de muestra.

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

- Recorrer el campo ubicando plantas y observando detalladamente cada uno de los órganos que presenta, incluyendo las partes subterráneas como raíces, bulbos, rizomas, etc. En ellos se deberá observar: insectos u otro tipo de agentes patógenos que estén afectando el cultivo (ácaros, moluscos, caracoles y babosas, aves, etc.), así como malezas parásitas. También se identificarán los signos producidos por patógenos como micelios, esclerocios, esporas, basidiocarpos, exudaciones, etc.).
- Para el caso de los nemátodos, se debe considerar que en la mayoría de los casos, éstos se presentan en áreas limitadas o “focos” dentro de un campo de cultivo.
- En la medida de las posibilidades deberán de tomarse fotografías a las plagas (especímenes, signos y/o síntomas de la enfermedad) y/o daños producidos por éstos, a fin de facilitar posteriores diagnósticos a campo y en laboratorio, así mismo podrán ser incorporadas en el catálogo de plagas.
- Obtener muestras representativas de la parcela: el número de muestras seleccionadas deberá guardar una estrecha relación con la superficie de la parcela existente en el lugar de muestreo. En algunos casos, esto dependerá exclusivamente del estado fitosanitario en que se encuentre la parcela.
- Emplear equipos y envases adecuados a la naturaleza y estado físico del producto, teniendo en cuenta que estén limpios y sin contaminación.
- Evitar la contaminación de las muestras causada por manos o ropas que hayan estado en contacto con plaguicidas.
- Conservar durante la toma de muestras, las mayores precauciones de asepsia.
- Las muestras deben ser transportadas adecuadamente y mantenerse así hasta que se realice el análisis.
- Identificar correctamente la muestra (**Etiquetado, Anexo 5**) y acompañarla de la documentación requerida., **Formulario de envío de muestras biológicas (Anexo 6)**.
- Asegurar la integridad de la muestra.
- Proteger la muestra de las condiciones ambientales que puedan causar algún cambio de sus características.





SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

- Enviar la muestra tan pronto sea posible a los Laboratorios para su análisis (Tiempo máximo, 48 horas), dependiendo de las condiciones de manejo de las mismas.

Todas estas operaciones influirán en la confiabilidad de los resultados, si no se realizan correctamente y los objetivos del muestreo pueden ser diferentes, pero, la necesidad de obtener información actualizada, acerca del estado fitosanitario de un cultivo o producto, es una de las razones básicas de la protección vegetal.

Los métodos de toma de muestra dependerán del tipo de producto de que se trate y de la finalidad del análisis. El número de tomas y la cantidad de unidades deben ser cuidadosamente observados para poder cumplir con los objetivos del examen.

VII. PLAN DE MUESTREO

En la formulación de un plan de muestreo, dependiendo del tipo de cultivo o producto a muestrear, deben tenerse en cuenta los siguientes factores:

- Homogeneidad o heterogeneidad del cultivo o producto.
- Tamaño de la parcela o producto a muestrear.
- Naturaleza de la plaga involucrada.
- Criterios de aceptación y rechazo.
- Grado de confianza requerido para la validez de los resultados.

Es también necesario tener en cuenta el uso propuesto del producto y el historial fitosanitario del mismo.

A los efectos prácticos, resultará fundamental seguir estrictamente las instrucciones de este manual.

VIII. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE PRODUCTOS O SUBPRODUCTOS VEGETALES

El muestreo de los productos vegetales, deberá ser ejecutado por personal autorizado, quienes deberán estar capacitados y provistos de todo el equipo y materiales necesarios para dicha actividad, debiendo solicitar la colaboración de la empresa propietaria del producto a muestrear.

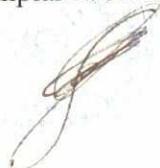
SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

A. REGLAS BÁSICAS PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Existe una serie de reglas básicas para la obtención de la muestra que se detallan a continuación:

- Realizar el muestreo en presencia de un representante calificado de la empresa o responsable del producto a muestrear.
- Identificar el o los productos a muestrear en sus empaques originales (cajas, bolsas, etc.). Estos serán debidamente sellados después del muestreo, si existen empaques dañados o abiertos se hará un muestreo adicional, informando en el acto al representante de la empresa.
- Seleccionar el método de muestreo a emplear según el tipo de vegetal.
- Determinar la cantidad de muestras a coleccionar.
- Seleccionar al azar las unidades de cada lote a muestrear.
- Identificar los lotes de los productos vegetales a muestrear.
- Deberán tomarse muestras por separado de cada lote.
- Determinar el número y tamaño de las submuestras a tomar de cada lote.
- Se debe muestrear la parte del producto que es comerciable.
- Se debe tener cuidado de no remover residuos superficiales en la muestra durante la recolección, el empaque o transporte de la muestra.
- Se debe tomar y empaquetar la cantidad o el peso recomendado en el sitio del muestreo y no realizar sub-muestreos de lo empacado.
- Deberán de utilizarse envases resistentes de acuerdo al tipo de producto muestreado.
- Si el producto está a granel, se obtendrá la muestra a partir de varios puntos del depósito o silo. No es aconsejable muestrear únicamente la parte superior o inferior, a menos que se tenga absoluta certeza de la homogeneidad de la partida.
- Cuando se realiza el muestreo en un conducto de salida o una compuerta de una partida a granel, antes de obtener la muestra se deben dejar pasar las primeras fracciones del producto para limpiar la salida con el flujo.



**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

- En el caso de solicitarse que el muestreo se realice por sub-lotes, la muestra deberá entregarse separada en subgrupos que representen esos mismos sub-lotes.
- Procure siempre obtener una muestra representativa.
- Para colecta de insectos en granos para consumo, utilizar coladores para separar los ejemplares del producto. Colectar con pincel, pinza o aspirador según corresponda y colocarlos en frascos con alcohol. (ver complementos en colecta de muestras entomológicas).
- Deberán de evitarse la contaminación y el deterioro de las muestras en todas las fases, ya que podrían afectar los resultados de los análisis.

**B. TOMA DE MUESTRAS DE GRANOS U OTROS PRODUCTOS Y/O
SUBPRODUCTOS**

En todos los actos de muestreo de granos, con el fin de obtener una muestra representativa, es aconsejable la mecánica operativa detallada a continuación:

- **Mercadería a granel:** el método a utilizar dependerá de la accesibilidad del grano a la toma de muestra.
- **Mercadería en bolsas:** el número de bolsas a muestrear, cuando el lote contiene 10 bolsas, se muestrean todas. Cuando contienen entre 10 a 100 bolsas, se muestrean 10 bolsas, para mayor cantidad: de número de muestras, se indica en la Tabla N° 1, el número de bolsas (X) a muestrear.
- **Elección de las bolsas a muestrear:** las mismas se elegirán en función a su ubicación en la estiba, cubriendo todos los costados de arriba hacia abajo. En el caso que haya movimiento de bolsas, se elegirán sistemáticamente al azar las que se muestrearán.
- **Toma de muestras:** Utilizando un calador adecuado, se introducirá el mismo en el centro de la bolsa, procurando llegar lo más al fondo posible.



MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

Tabla N° 1. Parámetro a utilizar para determinar la cantidad de bolsas a muestrear en un lote de productos.

N	X	N	X	N	X
101.....121	11	1601.....1681	41	4901.....5041	71
122.....144	12	1682.....1764	42	5042.....5184	72
145.....169	13	1765.....1849	43	5185.....5329	73
.
.
1522.....1600	40	4762.....4900	70	9802.....10000	100

OBS. Para valores superiores a las 10.000 bolsas, se aplicará la raíz cúbica de N, obteniendo el valor de XS.

- **Tamaño de la muestra:** La selección del tamaño de la muestra depende del tipo, descripción y tamaño mínimo de la muestra a como se indica en el cuadro N° 1.

Cuadro 1. Productos de origen vegetal, descripción y tamaño mínimo de las muestras.

CLASIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS	EJEMPLOS	TAMAÑO MÍNIMO DE LA MUESTRA
1. Productos frescos de tamaño pequeño Unidades de 25 gr.	Apio, lechuga, espinacas, guisantes y aceitunas	1 Kg.
2. Productos frescos de tamaño medio, unidades de 25 a 250 gr.	Tomate, Manzanas, naranjas, peras, melocotones, otras.	1 Kg. (como mínimo 10 unidades)
3. Productos frescos de tamaño grande unidades 250 gr.	Coles, pepinos, racimos de uvas, melones, peras, piñas, mamón y remolacha	2 kg (como mínimo 5 unidades)
4. Legumbres	Soja.	1 Kg.
5. Hierbas aromáticas frescas.	Perejil, albahaca, otras.	0,5 Kg.
6. Especies	Secas.	0,1 Kg.
7. Leguminosas forrajes y otros forrajes y piensos		1 Kg.

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE****C. PROCEDIMIENTO PARA EL ENVÍO DE MUESTRA**

- Las muestras serán debidamente identificadas con etiquetas en la que se detallará: Número de la muestra, lote, nombre del producto/subproducto, lugar y fecha en donde se tomó la muestra, cantidad de producto muestreado y nombre del propietario.
- Etiquetar cada muestra final, sellarla y distribuirla una a la empresa, otra para el laboratorio y un testigo.
- Etiquetar cada lote muestreado.
- Levantar el acta de muestreo y entregar una copia a la empresa.
- Llenar formulario de envío de muestras biológicas al laboratorio. (Ver anexo)

IX. TOMA Y ACONDICIONAMIENTO DE MUESTRAS SEGÚN TIPO DE ORGANISMO**A. COLECTA DE MUESTRAS ENTOMOLÓGICAS**

El diagnóstico de plagas se ve facilitado cuando las muestras son colectadas adecuadamente. Para ello es muy importante que durante la operación de muestreo, el monitreador esté preparado para colectar todos los especímenes que detecte.

La colecta se rige por normas muy sencillas que, sin embargo, deben seguirse rigurosamente para que los especímenes lleguen al Laboratorio en la forma más apta para la identificación.

En caso de no haber podido seguir las normas que aquí se detallan, el técnico deberá fundamentar en cada caso, los criterios que utilizó.

A.1 PROCEDIMIENTOS DE TOMA DE LA MUESTRA SELECCIONADA

A.1.1 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 (aumentos) como mínimo, especialmente cuando se trata de detectar especímenes pequeños por ejemplo: trips o ácaros.

Asimismo, deberán incluirse en las observaciones, plantas con presencia de síntomas iniciales, intermedios y aparentemente sin daño.

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

Independientemente de los especímenes colectados por el monitreador es conveniente el envío de una muestra de los daños y de los productos que contengan insectos u otros en su interior.

A los efectos del diagnóstico, representa una ventaja que el especialista pueda extraer los especímenes directamente de las muestras. Esta ventaja se refiere a la posibilidad de fijar los estados inmaduros y adultos en diferentes medios que faciliten la identificación. El volumen de la muestra debe ser del mayor tamaño, dentro de lo razonablemente posible (ej. de 10 a 20 frutos atacados).

A.1.2 Muestreo de plagas de raíces a campo: depende del tipo de planta y del criterio del monitreador.

Para tomar muestras de una plaga por que se sospecha está atacando a las raíces, se buscarán aquellas plantas que presenten síntomas de infestación, la cual será extraída con la ayuda de una pala, se sacarán del suelo esas plantas con todas sus raíces. Se las examinarán detenidamente y si se encuentra la plaga, se tomarán muestras de ella hasta obtener la mayor cantidad posible.

El espécimen en referencia debe encontrarse en estado adulto para facilitar su identificación sistemática. Las muestras se tomarán al azar en número de 10, 14 o 20 lugares, cubriendo todo el campo de cultivo.

Antes de tomar muestras de las raíces es prudente recorrer el campo de cultivo en busca de síntomas, para luego tomar las muestras en los lugares en que se presume está la plaga. El número de muestras varía según el tamaño del cultivo, se aconseja tomar no menos de 20 muestras al azar/ha.

En arbustos como cítricos u otras especies, se tomarán las muestras de las raíces y raicillas que se encuentran en una zanja abierta a 0.5 m del tallo de 40 cm. de ancho, por 40 cm. de prof. y por 40 cm. de longitud.

A.2 ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE LA MUESTRA ENTOMOLÓGICA

A continuación se presenta el procedimiento a ser utilizado en diferentes casos:

- **Estados inmaduros:** En caso de larvas o huevos próximos a la eclosión, deben ir acompañados de suficiente alimento. Prever la posibilidad de desecación, humedeciendo el papel.
- Utilizar pincel de cerdas N° 2 o 3 y pinzas pequeñas para la colecta. En caso de larvas barrenadoras, extremar cuidado para evitar su deterioro durante el rasgado del órgano

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

vegetal involucrado. Una vez extraídos los especímenes, colocar en alcohol al 70% y proceder a su envío. En caso de insectos para cría, acondicionarlos en recipientes adecuados.

- **Estados adultos:** los especímenes adultos grandes pueden ser remitidos en frascos de plásticos acorde con el tamaño; y los pequeños y de cuerpo blando deben ser colocados en frascos con alcohol al 70 %. Si el espécimen fue capturado vivo, se tratará de mantenerlo en ese estado, a través de pequeñas perforaciones de la tapa del frasco.
- **Neuróptera y Lepidóptera:** los insectos de estas órdenes pueden ser guardados entre hojas de papel (sobres o bolsas pequeñas de papel por ejemplo) con las alas plegadas sobre el dorso.
- **Orthóptera:** se deben remitir preferiblemente en sobres entomológicos, debido a que el alcohol puede hacer cambiar la coloración del insecto.
- **Himenóptera:** se puede remitir en alcohol al 70%, o en sobres entomológicos.
- **Hemíptera:** de preferencia deben ser enviados en sobres entomológicos o acondicionados en cajas pequeñas y duras entre capas de papel toalla.
- **Ordenes Thysanoptera, Coleóptera y Díptera:** como se trata de colecta a campo, se remitirán los especímenes que se hayan capturado. Si es abundante, se remitirán como mínimo 12 individuos que deben ser enviados en alcohol al 70%.
- **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.

- **Familia Aleyrodidae:** pueden ser enviadas introduciendo las hojas con pupas y exuvias pupales en frascos con alcohol al 70%, también en otro frasco, se debe adjuntar los adultos. Las pupas y exuvias pupales también, pueden ser enviadas sin las hojas.

En caso de succionadores (Pulgones, chinches, moscas blancas, etc.), siempre que sea posible, es conveniente incluir la planta entera. Para que la planta llegue en condiciones, el terrón se debe humedecer antes del envío y envolver en bolsa de nylon sujeta al cuello. Todo el conjunto debe envolverse adecuadamente, de tal modo que los insectos no puedan escapar.

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

Independientemente de los especímenes colectados es conveniente el envío de muestras de los daños ocasionados, especialmente si se realiza el muestreo en madera.

En las muestras entomológicas o material vegetal en general, los especímenes capturados deberían ser enviados muertos. Esto es más importante en el caso de especies que tienen la posibilidad concreta de escapar de una muestra del producto (adultos de casi todos los insectos).

En el caso de especies como, por ejemplo, cochinillas y larvas de moscas de las frutas, las muestras de frutos infestados se pueden enviar al Laboratorio prácticamente sin riesgos, aún cuando los insectos estén vivos, si se preparan debidamente para su envío.

A continuación se presentan los tipos de envases a ser utilizados para el envío de las muestras:

- **Muestra de insectos en alcohol al 70%:** usar frascos de cierre hermético, adecuado al tamaño y cantidad de especímenes enviados.
- **Muestra de insectos muertos:** deben colocarse en cajas entre capas de papel tissue para evitar que se quiebren los apéndices durante el traslado. No se recomienda el uso de algodón porque se enreda en el cuerpo de los especímenes.
- **Muestra de insectos inmaduros vivos:** se colocan los ejemplares en cajas de plástico, con papel absorbente en el fondo. En los casos de larvas o huevos próximos a la eclosión deben ir acompañados de suficiente alimento. Prever las posibilidades de desecación, humedeciendo el papel.
- **Muestra de vegetales con insectos vivos en su interior (barrenadores) o sésiles:** Usar cajas o envolver en papel de diario, ambos debidamente sellados.
- **Muestra de vegetales dañadas:** enviar junto con la muestra donde se detecta la presencia de insectos, tantas unidades del producto como sea posible de acuerdo al tamaño, etc. Utilizar cajas de cartón o similares, bolsas de papel o polietileno. Enviar el total de la muestra asegurándose de que reúna, en lo posible, diferentes grados de desarrollo del problema (desde daños incipientes hasta las etapas finales de una escala de daños observada). Evitar excesos de temperatura o humedad durante el envío.

El procedimiento de preparación de elementos de trabajo para las colectas entomológicas ver en el **Anexo 4**.



SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

A.3 ROTULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Todas las muestras serán debidamente identificadas con una etiqueta donde se indique entre otros: datos del código de la muestra, colector, planta hospedante, productor o propietario, localidad y fecha de colecta, etc. (**Anexo 5**)

En el caso de muestras en alcohol al 70%, debe colocarse preferentemente (la etiqueta escrita con lápiz de grafito) dentro del frasco con líquido.

B. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS FITOPATOLÓGICAS

El diagnóstico de una enfermedad, es una tarea delicada que requiere el estudio de los síntomas, aislamientos en medio de cultivo, observación microscópica de las estructuras del patógeno, etc. El éxito de este trabajo depende en gran parte del estado del material enviado al Laboratorio y de la información que el remitente suministre.

B.1 CRITERIOS A CONSIDERAR EN LA TOMA DE MUESTRAS FITOPATOLÓGICAS

- La buena elección de material enfermo facilita la labor de diagnosis. La muestra para el análisis deberá ser representativa de los síntomas observados en el campo, para esto se debe tener en cuenta:

Cantidad: Poca cantidad de material bien seleccionado es mejor que una gran cantidad tomada al azar.

Claridad: Los síntomas deben ser tan claros como sea posible encontrarlos

- **Fases de la enfermedad:** Colectar varias fases de las enfermedades es de gran ayuda pues esto permite observar más o menos el desarrollo de la enfermedad, es deseable incluir material sano para compararlo con el material enfermo.
- De preferencia se recomienda el envío de aquellas partes de las plantas en las cuales comience a manifestarse la infección. Si es posible, incluir, materiales con síntomas característicos claros, incluyendo, fases iniciales e intermedias de la enfermedad. Las muestras deben recolectarse en horas soleadas para evitar que las plantas se encuentren húmedas.
- Mantenga, de ser posible, las muestras refrigeradas después de su colecta, hasta que ellas sean remitidas.

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

- **Hojas y flores** deben colocarse bien extendidas en medio de hojas de papel, luego enviarlas en bolsas plásticas con la identificación respectiva.
- Para evitar que las hojas se quiebren o contraigan deben colocarse entre láminas de papel y luego éstas, entre cartón, las que deben estar convenientemente superpuestas, unidas y atadas.
- **Tallos y ramas:** los tallos y ramas pequeñas pueden prepararse y empaquetarse en la misma forma que las hojas y flores. Si son más grandes deben cortarse en trozos, luego se colocan dentro de una bolsa plástica debidamente identificada. Son necesarios entre 8 - 10 pedazos de ramas o tallos, que contengan tejido sano y enfermo.
- **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. Para lograr su mejor conservación, se debe colocar en una bolsa plástica aproximadamente entre 50 - 200 gramos de raíces, que estén semi-afectadas.
- En caso de que se envíen al mismo tiempo varias muestras (órganos), de una misma planta para su examen, será necesario envolverlas independientemente, en papel y luego introducirlas en bolsas plásticas.
- No mezcle diferentes componentes de la muestra en la misma bolsa de envío (Ej: en plantas completas separar raíces con suelo, de la parte aérea). Ambas deben estar debidamente identificadas que pertenecen a la misma muestras, incorporando un sub código (Ej: M30.1; M30.2)
- Se recomienda el envío constante de muestras de suelo para diagnóstico de nemátodos, 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 virósicos.
- **Tubérculos, frutos y bulbos:** en el caso de frutos carnosos, con elevado contenido de humedad, se deben seleccionar principalmente aquellas muestras que solo presentan síntomas iniciales de la infección. Si son frutos pequeños (uvilla) se necesita entre 6 a 8 unidades; medianos (tomate) entre 4 a 5; y grandes (piña) 2 a 3 unidades. Deben acondicionarse con algodón u otro material suave que amortigüe los golpes y recubrirse con hojas de papel.
- **Material vegetativo de propagación:** estacas, estolones o esquejes entre 3 a 5 unidades. Si son bulbos, cormos o rizomas, serán necesarios entre 8 y 10 unidades, y en el caso de plántulas de 3 a 5 unidades.

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

- **Semillas:** pequeñas (100 unidades), medianas (50) y grandes (25) unidades aproximadamente. En todos los casos, es conveniente empacar en caja de cartón, 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 bolígrafo, sólo con lápiz de carbón o lápiz de cera. En lo posible, es preferible colocar doble bolsa plástica y colocar la etiqueta (interna) en medio de ellas.
- Envíe las muestras de modo a que lleguen en días laborales y en el tiempo más corto posible al laboratorio, no más de 48 horas.

B.2 PROCEDIMIENTOS DE TOMA DE LA MUESTRA SELECCIONADA

Las instrucciones para muestreo son en términos de localización de la hoja o parte de la planta a hacer un muestreo, así como del estado de crecimiento del cultivo, son muy específicos para cada cultivo. (Ver Anexo 2).

La regla general reconocida indica que se debe hacer el muestreo de las hojas que han madurado recientemente, cuyo crecimiento ha terminado pero que no han empezado a envejecer.

Una muestra representativa debe provenir de áreas de condiciones homogéneas (topografía, suelos, variedades). Si se determina que el cultivo está creciendo en áreas con diferentes condiciones o presenten síntomas visuales distintos, se debe realizar el muestreo en forma separada.

Es conveniente tomar varias sub-muestras para lograr una muestra compuesta que represente al lote. Las sub-muestras deben tomarse en zig zag dentro del lote. Cada unidad de muestreo no debe abarcar más de 10 hectáreas aún tratándose de una población homogénea de una misma variedad.

B.2.1 Toma de muestra: a continuación se presenta el procedimiento a utilizar en los diferentes casos:

- **Cancros y agallas:** seleccionar ramas o ramitas con agallas jóvenes. Cortar ramas sanas y afectadas. Colocar las muestras sin humedad en bolsa de papel grueso sellado o en un envase hermético, no en bolsa plástica.

En los tumores o agallas bien desarrollados, no existen patógenos y sólo cuando son muy jóvenes pueden encontrarse en su interior la causa de su formación, serán necesarias entre 3 a 5 agallas.

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

Colecte el suelo circundante al pie de la planta y empaquete en una bolsa plástica sellada (Con el mismo código de la muestra principal, identificado por un subcódigo).

- **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.

A veces, hojas amarillentas, necróticas o marchitas, son consecuencia de infecciones radiculares, por lo que es conveniente enviar las dos partes (hojas y raíces), o la planta entera si es pequeña.

En el caso de plantas perennes, colecte un manojito grande de raíces adventicias 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, canchales, etc.

En caso de árboles pequeños, plantas herbáceas, plantas de vivero, etc., sacarlas, incluyendo el sistema radicular con cubo de tierra (1 a 2 Kg.). Si los árboles enfermos son muy grandes, enviar muestras de raíces con tierra adyacente, cuello de la planta y ramas con síntomas o presencia del organismo causal

- **Nodulaciones:** colecte suelo y tejidos con diferentes grados de síntomas, empaquete conjuntamente en bolsa plástica sellada.
- **Manchas foliares (royas, oidios, 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.), de ser posible.

Empaquete la parte aérea y subterránea, por separado, como fue indicado anteriormente.



SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

- **Deformación de hojas, mosaico, aclaramiento 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), siempre que sea posible.

En la Tabla 2 (**Anexo 2**), se presentan los procedimientos para muestreo foliar de los principales cultivos económicos. Las hojas se deben colocar en bolsas de papel identificadas correctamente.

Las muestras deben estar protegidas del sol. Si no se envían inmediatamente al laboratorio pueden guardarse en el refrigerador por no más de siete días.

- **Frutos, bulbos, tubérculos y otros tejidos frescos o suculentos:** evitar empaquetar frutos u otros órganos frescos, que ya muestren estados avanzados de pudrición o descomposición. Seleccione siempre, muestras con estados iniciales, intermedios y finales, es decir, todos los estados evolutivos de la enfermedad.

Limpie el exceso de humedad y envuelva los frutos o vegetales individualmente en doble papel toalla seco y colóquelo en una bolsa de plástico. No se debe agregar humedad extra, procurando guardarlos en sombra hasta su envío. Etiquetar y enviar en un recipiente o contenedor a prueba de golpe (envase hermético con paredes cubiertas por isopor y papel toalla de relleno).

- **Flores y frutos recién cuajados:** colecte buena cantidad de flores y frutos 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.), envuélvalos individualmente en papel toalla y luego introdúzcalo en bolsa de plástico sellada.
- **Plántulas:** colecte una docena o más de plántulas con suelo o medio de crecimiento. Seleccione plántulas con síntomas de estado temprano e intermedio. Empaquete la muestra 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.

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

- **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 rizósfera se mantenga intacta con las raíces. Envolver la parte aérea con papel toalla y luego colocar las dos partes, en bolsa plástica sellada.

Identifique las muestras con etiquetas externas e internas y en caso de obtener muestras con sub muestras, proceder a la identificación como se menciona para muestras de plantas enteras

- **Plantas o árboles con pudriciones de la madera, tallo y/o raíces:** Recolectar las plantas completas, si no es posible por el tamaño, enviar las partes afectadas incluyendo la zona de avance.

En caso de pudriciones de raíces, es conveniente incluir tierra adyacente y mantenerlas en bolsas de polietileno con suficiente humedad.

Las muestras de suelo y raíces deben ser tomadas de tal forma que permitan obtener los mejores resultados en el Laboratorio. Por ello la muestra debe ser tomada en lo posible, cuando el terreno no esté ni muy seco, ni muy húmedo. No importa estas condiciones en el caso de muestras para extracción de quistes.

B.2.2 Envío de la muestra

Se recomienda remitir el material colectado, por el medio más rápido y seguro, pues debe tenerse en cuenta que el material debe demorar el menor tiempo posible en el transporte, para evitar su deterioro.

Mantener las muestras en refrigeración hasta su envío o mantenerlas protegidas de excesivos calores. Junto con la muestra debe enviar toda la información necesaria que favorezca el diagnóstico de la enfermedad, igualmente, para cada problema, se consignarán los datos señalándolos en el formulario que se acompaña a este manual. **(Anexo 6)**

C. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DE BACTERIAS

El muestreo debe ser representativo, y deben tenerse en cuenta las siguientes especificaciones:

- **Síntomas de manchas o necrosis en hojas o frutos:** se tomará muestra de partes vegetales que presenten las zonas acuosas y/o manchas traslúcidas del ejemplar infectado y de los próximos.

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

- **Marchitamiento de hojas y/o tallos u oscurecimiento del sistema vascular:** de ser posible se tomará el ejemplar completo.
- **Podredumbres blandas:** las muestras deben provenir de zonas con estados iniciales de infección.

Se adjuntará en todo caso, muestra asintomática. Es de suma importancia desinfectar con alcohol, entre muestra y muestra, el material utilizado.

La muestra deberá almacenarse, de ser posible, en bolsas de papel, debidamente codificadas y para una mejor conservación, mantener en refrigeración. Si la muestra contiene tierra, evitar que ésta entre en contacto con el resto de la planta.

D. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DE VIRUS FITOPATÓGENOS

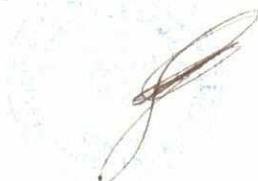
Los Virus son entidades demasiado pequeñas, que solo pueden observarse utilizando un microscopio electrónico. Todos los tipos de virus conocidos son parásitos y producen una gran cantidad de enfermedades en todas las formas vivas (desde humanos, animales, plantas hasta en bacterias y micoplasmas).

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.

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.



SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

D.1 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, mostrando el estado inicial o intermedio de la enfermedad, porque hojas con daños avanzados no sirven para la identificación. Para el éxito del mismo, se deberán muestrear las plantas completas; si no es posible por su tamaño, enviar las partes comprometidas, se deben enviar todos los grados de síntomas observados. De ser posible acompañe sus envíos con muestras “sanas” para hacer comparaciones.

Es fundamental que el material sujeto a un posible análisis virológico se encuentre fresco y tierno al momento de efectuar el muestreo, ésta debe remitirse envuelta en papel diario, en una bolsa de polietileno y correctamente identificado. En el caso de no poder realizar el envío de la misma, rápidamente, se mantendrá la muestra en el refrigerador, por un tiempo máximo de tres días.

D.2 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 diferentes, 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 por ej.: los casos de necrosis en los tubérculos de papa.

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

- **Mosaico o Moteado:** son áreas cloróticas (pálidas) en las hojas, producidas por la destrucción de cloroplastos y reducción en la producción de clorofila.
- **Aclaramiento de las venas:** el color es más claro que el normal. Es un síntoma transitorio y comúnmente precede a los mosaicos.

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

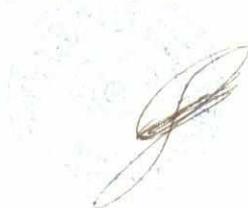
- **Amarillamiento:** pueden ser anillos, líneas o manchas pequeñas que contrasta con el color verde de la lámina foliar.
- **Pigmentación anormal:** producción excesiva de algunas sustancias y su translocación irregular, así hojas con “antocianina” muestran coloraciones púrpura, rojo o azul. (Antocianescencia). Hojas con “melanina” muestran color marrón o negro (Bronceamiento).

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

- **Enrollamiento:** foliolos enrollados hacia arriba, puede también ser causado por *Rhizoctonia* spp.
- **Encrespamiento:** los márgenes foliares con apariencia ondulada, asociada con mosaicos.
- **Deformación:** hojas alargadas o ensanchadas en la lámina foliar.
- **Rugosidad:** crecimiento desproporcionado de las venas y láminas.
- **Hojas coriáceas:** hay acumulación de almidón en las células, asociadas al enrollamiento.
- **Enación:** sobre crecimiento 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 más 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.



MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**E. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE MALEZAS****E.1 ELECCIÓN DE LA MUESTRA**

Las muestras de malezas para su identificación y reconocimiento taxonómico deben reunir ciertas condiciones indispensables. Éstas deben estar completas, es decir, 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:

- **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.
- **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.
- **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.
- **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 pecíolo adherido a la rama.
- Cuando las muestras coleccionadas 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 envasarlos 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 coleccionada se debe adjuntar una etiqueta donde se anota datos importantes como: Departamento, distrito, localidad, posición geográfica, donde se realizó la colecta. Nombre común de la maleza, hábito de crecimiento y hábitat. También otras

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

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.

F. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS NEMATOLÓGICO

En cualquier ambiente en que los nemátodos 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 nemátodos se encuentran y muchas veces no se sabe en qué zonas están, es necesario hacer un muestreo.

F.1 FINALIDADES DEL MUESTREO

F.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.

F.1.1.1 Muestreo de cultivos anuales

Con una herramienta (pala o una lampita o barreno) 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.

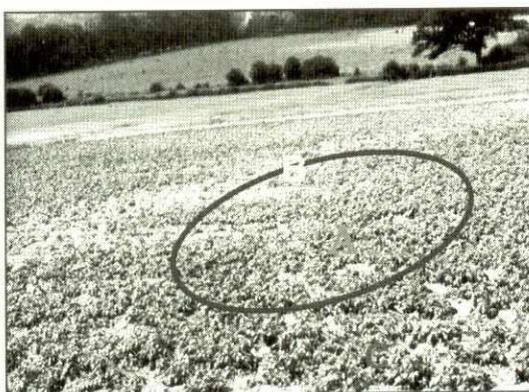


Fig.1. Esquema tipo PARCHE, para realizar el muestreo en parcelas con fines de diagnosis de nemátodos.



MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

F.1.1.2 Muestreo de cultivos perennes (frutales)

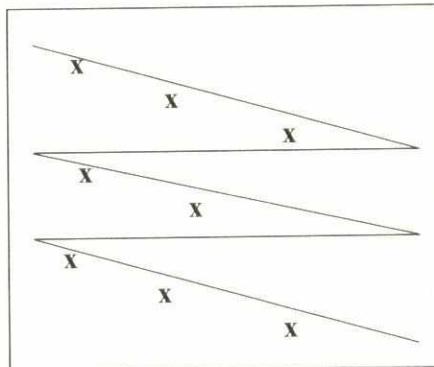
En árboles se deben tomar muestras alrededor del árbol, justo en la proyección de la copa, las que luego se mezclan. A veces es recomendable muestrear árboles con diferentes grados de la enfermedad.

F.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.

F.1.2.1 Muestreo en cultivos anuales

- Se recomiendan tomar muestras de 30 puntos por hectárea, siguiendo el recorrido que se muestra en el **Fig.2**
- Quitar la capa superficial del suelo con la ayuda de una lampita, luego se toma la submuestra hasta una profundidad entre 0 y 30 cm. las que se juntan en un balde.
- Homogenizar y extraer una muestra de aproximadamente 1 kg.



SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

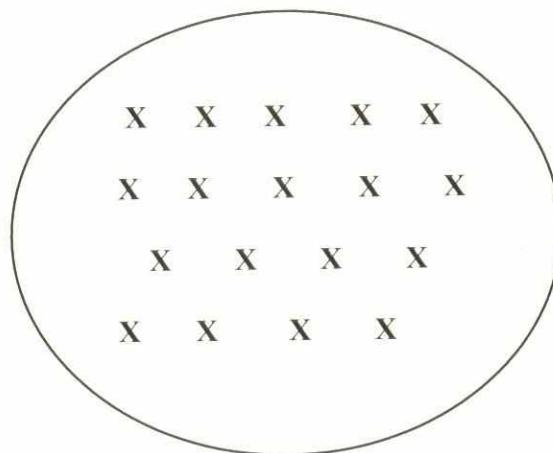
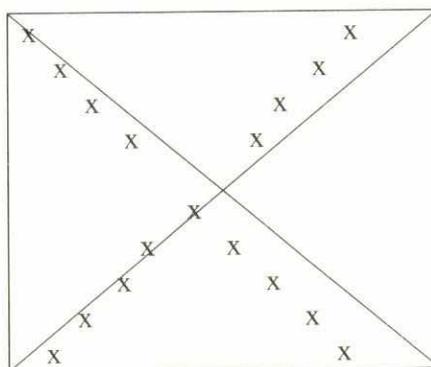


Gráfico 1: Tipos de recorrido para la toma de muestras nematológicas

F.1.2.2 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.
- 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.
- Juntar en un balde, homogenizar y extraer una muestra de aproximadamente 1 Kg.

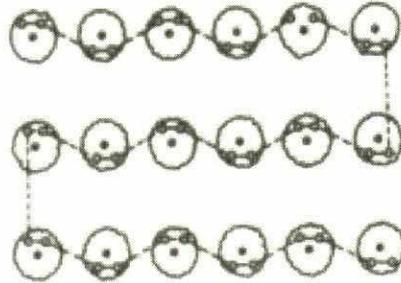
MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

Gráfico 3. Esquema de recorrido para la toma de muestras en frutales.

F.2 IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Cargar en bolsas de polietileno, firmes y bien selladas.
- Identificar las muestras, la etiqueta 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.

F.3 MANEJO DE LAS MUESTRAS

- No maltratarlas o manipularlas demasiado. Algunas especies de nemátodos son susceptibles al manipuleo.
- La muestra de suelo debe pesar por lo menos 1 kilo y en el caso de raíces se necesitan 100 gramos.
- Evitar que se seque o se caliente demasiado.
- Se le deberá colocar en una bolsa plástica plenamente cerrada; en el caso de raíces, se la puede enviar junto con tierra, para que se conserven mejor en bolsas plásticas; y a su vez dentro de una bolsa de papel. El suelo debe estar en su capacidad de campo y no demasiado seco.
- No dejarla expuesta a la acción del sol. Luego de sacada la muestra, se la colocará en la sombra o en una caja térmica, hasta llegar al Laboratorio. Si se debe esperar más tiempo, se mantendrá en refrigeración, en lugares húmedos y fríos, a temperatura de entre 4 a 7 °C.



**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE****G. OTROS TIPOS 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. Para ello, debe de tenerse el adecuado criterio para evaluar los daños producidos.

El envío de este tipo de muestras, al Laboratorio Biológico del SENAVE debe ser consultado con antelación, sobre la posibilidad de remitir las muestras, ya que muchas de ellas deberán derivarse hacia otras instituciones que cuenten con laboratorios especializados al efecto. Los Convenios que sean firmados con estas instituciones serán utilizados para conseguir los fines deseados.

H. TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PLAGAS CUARENTENARIAS.

Previo trabajo, se sugiere al responsable del mismo, seguir el esquema de trabajo que se describe a continuación:

- Conocer, previa salida al campo, el cultivo a inspeccionar.
- Revisar la ficha cuarentenaria del patógeno que afecta a dicho cultivo.
- Chequear a campo la sintomatología descrita en la ficha correspondiente, poniendo especial atención a dos aspectos:
 1. Momento y edad a la cual comienzan a manifestarse los síntomas de la enfermedad.
 2. Localización de la sintomatología descrita en la planta observando cuidadosamente los órganos sensibles a la enfermedad en cuestión.

Para incrementar la posibilidad de detección de síntomas y signos de plagas cuarentenarias es necesario:

- Inspeccionar cuidadosamente todas las plantas de las parcelas en estudio.
- Observar cuidadosamente todos los órganos vegetales de cada cultivo posibles de ser atacados.

Cuando en un trabajo de vigilancia específica, el monitreador detecta una plaga desconocida afectando un cultivo determinado, dicha muestra se enviará al Laboratorio Biológico del SENAVE para su respectiva identificación.

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

Una vez que la plaga ha sido identificada y está catalogada como cuarentenaria por el Departamento de Cuarentena Vegetal, ésta coordinará con la parte ejecutora donde se ha detectado la plaga para proceder a realizar una prospección de ser necesario, a nivel nacional en aquellas áreas sembradas con el mismo cultivo.

La parte ejecutora, junto con el resultado emitido por el Laboratorio Biológico del SENAVE elaborará un informe técnico sobre la prospección realizada y luego remitirá al Departamento de Cuarentena Vegetal para su respectiva evaluación. En base a esta evaluación, dicha dependencia procederá al cambio de la condición de la plaga, y finalmente el ingreso de la información a la base de Datos del DVF.

I. CONDICIONES DE EMBALAJE

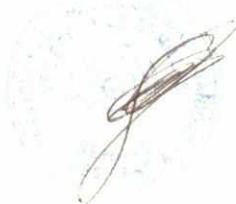
En general, las muestras colectadas deben ser envasadas adecuadamente con el fin de protegerlas durante su traslado. Según sea el caso, es necesario, tener presente las siguientes consideraciones:

- 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, éstos 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 temperaturas 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 por ej.: prensado, secado, etc.

J. INFORMACIÓN QUE DEBE ACOMPAÑAR A LA MUESTRA

Cada muestra debe ser enviada debidamente etiquetada (Ver Anexo 5) y acompañada del **Formulario** para que el laboratorio pueda correlacionar la sintomatología con los datos adjuntos.

Previo al envío de muestras, se debe ingresar toda la información obtenida en el **Formulario de envío de muestras biológicas** (Ver Anexo 6).



SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

ANEXO 1

Tabla 1. Materiales necesarios para realizar la tarea de muestreo.

DESCRIPCION.	
1	Alcohol rectificado de 1 litro
2	Aspiradores de insectos
3	Balde de plástico de 10 litros
4	Bidones de 10 litros
5	Bisturí
6	Bolsas para toma de muestras (20 litros)
7	Bolsas para toma de muestras (50 litros)
8	Botas de goma
9	Caladores
10	Cámara letal
11	Chaleco con varios compartimientos
12	Cianuro de potasio
13	Cinta selladora
14	Coladores de diferentes mallas
15	Conservadora grande (De plástico - nevera)
16	Cortaplumas
17	Embudo de 15 cm de diámetro
18	Eter sulfúrico
19	Etiquetas
20	Formol
21	Frascos y/o tubos p/toma de muestra) Todas las medidas.
22	Guantes (De cuero)
23	Insecticida en aerosol de 250ml
24	Linterna
25	Lupas de mano (De 20X aumentos)
26	Machete
27	Maletín o Mochila
28	Pala chica (Punta fina)
29	Pala grande (Punta fina)
30	Pico de loro
31	Pinceles Cerdas N° 2
32	Pinceles Cerdas N° 3
33	Pinzas (Punta fina cuadrada)
34	SERRUCHO de poda
35	Sobres de papel para muestras de todos los tamaños
36	Soportes para tubos (capacidad para 50 tubos)
37	Tela blanca para muestreo (preferiblemente de tul)
38	Tetracloruro de carbono
39	Tijeras de poda (grande y chica)



SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

ANEXO 2.

TABLA 2: Muestreo foliar para varios cultivos

CULTIVO	ETAPA DE CRECIMIENTO	PARTE DE LA PLANTA	TAMAÑO DE LA MUESTRA
Naranja	Mitad de la estación	Hojas del ciclo de floración, de 4 a 7 meses, de los terminales fructíferos con pecíolo	40 – 50
Piña	1 al mes, después de 3-4 meses al iniciar la inflorescencia	Tercio medio de la porción basal de la última hoja desarrollada (la más larga)	20
Follajes	Crecimiento del año	Hojas totalmente maduras, más reciente	30-100
Geranio		Pecíolo y hojas jóvenes maduras	30-50
Gerbera		Hojas jóvenes completamente expandidas	10-20
Gypsophila		Hojas jóvenes y maduras de crecimiento vegetativo	30-50
Rosa	Durante la producción de flores	Hojas superiores con 5-6 folíolos, en el tallo floral, cuando el botón tiene color.	30-50
Mandioca	3-4 meses de edad o al inicio de las lluvias	Lámina foliar de las hojas más jóvenes completamente expandidas, 4-5 del cogollo	30-50
Aguacate		Hojas sin pecíolo, de 3 a 4 meses, de ramas no fructíferas	100 sub-muestras de 25 árboles
Banano	En crecimiento vegetativo	Secciones de la parte media del limbo de la tercera hoja a partir de la bandera	15 secciones de 8 cm.
Café	Antes de la floración	Tercer o cuarto par de hojas de bandolas provenientes de la mitad de la planta	60 hojas de 15 plantas en cuatro puntos cardinales
Caña azúcar	3-5 meses	Tercera, cuarta o quinta hoja (lámina y vaina) a partir de la recién abierta	15-20 hojas
Crisantemo	Antes o después de la	4-5 hoja superior completamente	20-30

SENAVE**SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS****MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

	floración	expandida	
Frutilla	5 semanas después de la floración	Hojas maduras del último crecimiento de los terminales no fructíferos con pecíolos	60 hojas
Mango	Durante la máxima floración	Hojas con pecíolo maduras, del crecimiento más reciente, sin flores ni retoños	100 sub-muestras de 25 árboles
Melón	Temprana, antes del fruto	Hojas maduras, cerca de la porción basal de la planta en el tallo principal	20-30



SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

ANEXO 3.

FORMAS DE DISTRIBUCIÓN DE PLAGAS ENTOMOLÓGICAS

Las plagas entomológicas se distribuyen de distinta manera en un campo de cultivo. Esta distribución se produce en el espacio horizontal y vertical.

- La distribución vertical depende de la hora y del tiempo existente en la región en que se encuentra el cultivo.
- La distribución horizontal depende de condiciones inherentes a la plaga y al cultivo.

La más común es la distribución en manchas que corresponde en Estadística, a la distribución binominal negativa. Cuando las plagas se distribuyen al azar dentro de un cultivo, en Estadística corresponde a la Distribución Poisson.

Cuando se distribuyen de manera uniforme, en Estadística corresponde a la distribución de Gauss.

Para saber que tipo de distribución tiene una plaga de insectos, es necesario tomar muestras y analizarlas estadísticamente para encontrar los valores de la Media y la Variancia (Leer: Wadlry, F.M. 1967. Experimental Statistics in Entomology. Graduate School Press. USDA, Washington D.C. 132 p.-BLISS, C.I. 1967. Statistics in Biology. Vol. 1 McGraw-Hill, New York. 558 pp.-Sokal R.R. y F.J. Rohlf, 1969. Biometry W.H. Freeman, San Francisco, Cal. 776 pp.)

Puede usarse también el índice de Morisita, calculado por la formula:

$$IS = \frac{N \sum EX^2 - EX^2}{(\sum EX)^2 - EX^2}$$

Siendo No. Total de muestras y por él numero de individuos encontrados en las muestras. Cuando $IS = 1$, la distribución de las plagas es al azar (Distribución de Poisson)

Cuando $IS > 1$, la distribución es agregada o en manchas (Distribución Binomial)

Cuando $IS < 1$, la distribución es uniforme (Distribución de Gauss)

Conociendo el tipo de distribución especial que tiene una plaga es más fácil encontrarla en el campo.

Las muestras de las plagas se tomaran basándola en los cultivos de campo. Las plagas se encuentran atacando a las raíces, a los tallos, a las ramas, a las flores o los frutos separadamente o al mismo tiempo a dos o más órganos integrantes del vegetal.

SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

ANEXO 4.

PREPARACIÓN DE ELEMENTOS DE TRABAJO

1. PREPARACIÓN DE ALCOHOL 75° GLICERINADO

Cuando se compra alcohol puro o potable, se procederá a determinar su grado alcohólico. Supongamos que un alcohol como potable tiene 84° y para reducir este grado alcohólico hasta 75°, se procederá a seguir:

1. Tome una probeta graduada en cien mililitros.
2. Ponga el alcohol potable en la probeta, hasta la marca 75.
3. Complete con agua hasta la marca 84.

Tiene entonces 84 milímetros alcohol de 75°. A 250cc de alcohol así tratado, añada dos gotas de glicerina con un gotero común.

2. PREPARACIÓN DE SOBRES

Usando el papel de copia o mejor papel translúcido repelente al agua, proceda en la forma siguiente:

1. Obtenga un corte de las dimensiones siguientes: largo: 17 centímetros y ancho: 10.5 centímetros
2. En el sentido de la longitud, doble el papel, deje un margen de 2.5 centímetros a la izquierda y un margen 4 de centímetros abajo.
3. En sentido opuesto, dóblelo como se indica.
4. El sobre así formando un triángulo.
5. En el margen más ancho del sobre llevará la etiqueta de identificación de la muestras.

Todos los datos que acompañan a la etiqueta se escribirán en el sobre antes de poner el espécimen correspondiente.

Igual procedimiento seguirá usando un papel de 16 x 9 centímetros, dejando márgenes de 24 y 44 milímetros. Un papel de 13 x 7 centímetros, dejando márgenes de 18 y 30 milímetros. Y un papel de 9 x 5 centímetros con márgenes de 14 y 25 milímetros.

3. PREPARACIÓN DE FRASCOS RELAJADORES

Propiamente se llaman "cámaras de relajación" y pueden hacerse de diferente tipo. Lo ideal es utilizar frascos grandes, con boca ancha y tapa de tornillo:

1. En el frasco, ponga aserrín fino o arena lavada, hasta cinco centímetros de altura.

SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

2. Moje el aserrín o arena, con agua.
3. Con un gotero, ponga veinte gotas de LISOL, cubriendo la superficie libre del aserrín o arena humedecida.
4. Aísle el aserrín o la arena así preparado con un cartón, de tal manera que los insectos no entren en contacto directo con el área húmeda.

En este frasco se ponen los insectos que se han endurecido o secado por efecto de un largo almacenamiento o por efecto de cianuro, antes del montaje, con el fin de reblandecerlos.

El Lisol evita la presencia y contaminación del aserrín o de la arena y los insectos por hongos (mohos).

4. PREPARACIÓN DE UNA RED ENTOMOLÓGICA

Con una varilla de hierro de aproximadamente cuatro milímetros de diámetro, haga un aro perfecto de 30 centímetros de diámetro. Los extremos libres de este aro, debe estar doblados, que se acoplarán en ranuras laterales abiertas en el extremo de un mango de madera de aproximadamente 2.5 centímetros de diámetro y 60 centímetros de largo.

En una tela adecuada, que puede ser "Tul", realice dos cortes iguales. El borde superior está reforzado con una tela más fuerte doblada y cosida de tal suerte que permita colocar el aro con facilidad. El aro con la red se asegura al mango con un anillo metálico que sujeta fuertemente los extremos libres del aro.



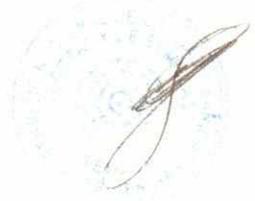


SENAVE
SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

ANEXO 5.

	ETIQUETA IDENTIFICATORIA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS									
PRODUCTOR: DEPARTAMENTO: DISTRITO: FINCA / LUGAR: CULTIVO/PRODUCTO: CÓDIGO: VARIEDAD: SUP.: TIPO DE ANÁLISIS:	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 25%; text-align: center;">Fitó.</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Ento.</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Fitointo.</td> <td style="width: 25%; text-align: center;">Suelo</td> </tr> <tr> <td style="height: 20px;"> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>		Fitó.	Ento.	Fitointo.	Suelo				
Fitó.	Ento.	Fitointo.	Suelo							
FECHA: / /	RESPONSABLE:									



SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

ANEXO N°6

FORMULARIO ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Productor:		
Empresa:		
Departamento:		
Distrito:		
Compañía o Zona:		
Posición Geográfica	Latitud	Longitud

USO INTERNO DE LABORATORIO	
N° M. Entrada:	
Fecha Ingreso:	
Recibido por:	
Firma:	

Identificación de la muestra	
Hospedante	
Variedad	
Superficie del Cultivo	
Cultivo anterior	
Código de la Muestra	
Fecha de Muestreo	

Actividad de Vigilancia	
Prospección cultivos	
Prospección productos	
Prospección plagas	
Verificación denuncia	
Certificación para exportación	
Otros	

Tipo de Análisis	
Acarológico	
Entomológico	
Fitopatológico	
Nematológico	
Otros	

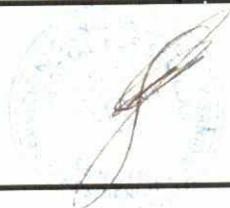
Cultivo	
Forestal	
Frutal	
Cereal	
Ornamental	
Oleaginosa	
Otros	

Muestra de Parte Vegetal	
Semilla	
Hojas	
Tubérculo-raíz	
Flores	
Frutos	
Planta entera	
Otros	

Muestra Entomológica	
Huevo	
Larva	
Ninfa	
Pupa	
Adulta	
Otros	

Síntomas o daños fitopatológicos			
Marchitez		Pudrición	
Amarillamiento		Tizones	
Necrosis		Mosaico	
Otros Síntomas			

Síntomas o daños entomológicos			
Perforaciones		Secreciones	
Galerías		Agallas	
Tumores			
Otros Síntomas:			





SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

**MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO
Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE**

Organismo a identificar:

Distribución			
Pa	Fa	DG	Pb

Observaciones:
.....
.....
.....

.....
Técnica/o Responsable	Técnica/o Responsable





SENAVE

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS

MANUAL INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA TOMA, ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS DEL SENAVE

REVISIONES BIBLIOGRÁFICAS

- a. CONSIDERACIONES IMPORTANTES PARA LA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS A LA UNIDAD DEL CENTRO DE DIAGNÓSTICO DE SANIDAD VEGETAL. SENASA: Perú. Documento en Línea. Consultado en: 2-10-2008. Disponible en: www.senasa.gob.pe 12 p.
- b. RECOMENDACIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS- Sanidad Vegetal. **Consejería de Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad** Servicio de Agricultura y Diversificación Rural. Laboratorio Agrícola-Cifa (Centro de investigación y formación agrarias) Gobierno de Cantabria.
- c. MANUAL DE TOMA Y ACONDICIONAMIENTO DE MUESTRAS DE PRODUCTOS O SUB-PRODUCTOS VEGETALES DE CONSUMO. Autoridad panameña de seguridad de alimentos. Dirección nacional de análisis y control de alimentos importados. Disponible en www.prochile.cl/nexos/panama_toma_muestras.pdf
- d. INSTRUCTIVO PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS. Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro. República de Ecuador. Disponible en www.sesa.gov.ec/servicios/laborato1.htm
- e. NIMF N° 5. Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias. Glosario de Términos Fitosanitarios. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. FAO 2009.
- f. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA INSPECCIÓN FITOSANITARIA DE PREDIOS SELECCIONADOS. Ministerio de Agricultura Servicio Nacional de Sanidad Agraria Dirección de Sanidad Vegetal. Sub Dirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia fitosanitaria. SENASA. Perú.
- g. INSTRUCTIVO DE CAPTACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA, Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG). Chile, 1994.

