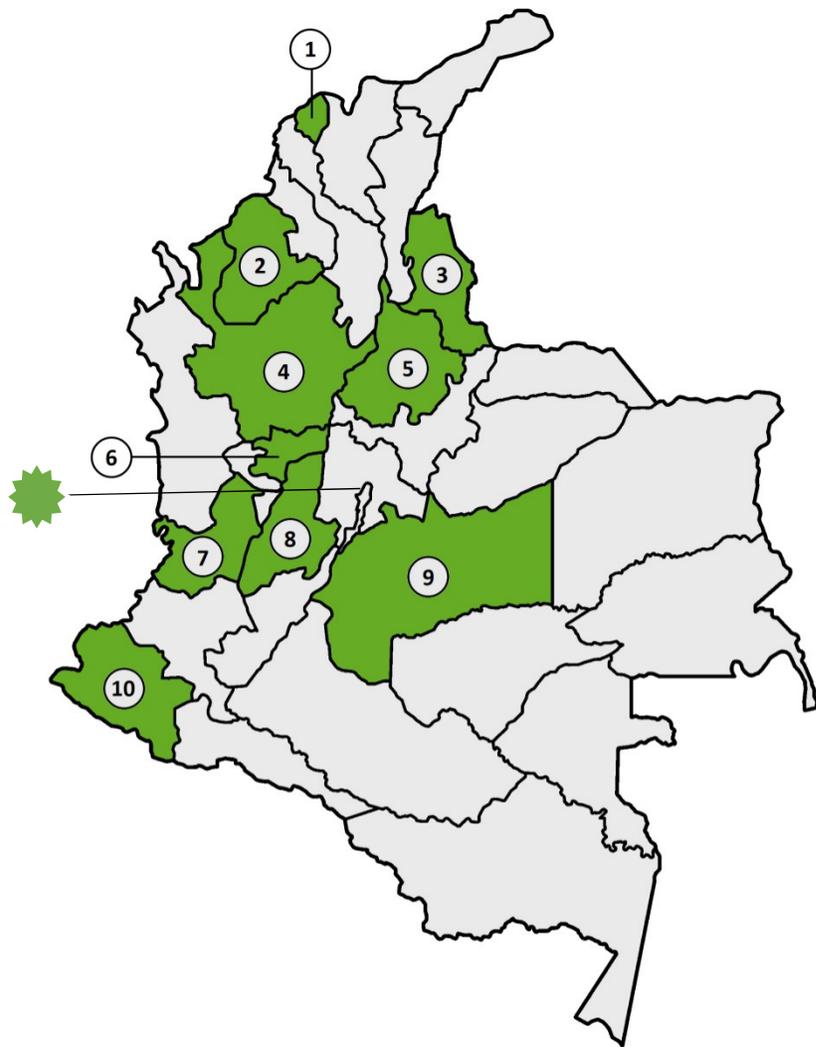


Toma Adecuada de Muestras para Análisis y Diagnóstico Fitosanitario

LABORATORIO NACIONAL DE DIAGNOSTICO FITOSANITARIO -
LNDF

2020



RED DE LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO

1. Atlántico
2. Córdoba
3. Norte de Santander
4. Antioquia
5. Santander
6. Caldas
7. Valle del Cauca
8. Tolima
9. Meta
10. Nariño



Laboratorio Nacional de Diagnóstico
Fitosanitario - LNDF

Servicios ofrecidos

Análisis: se realiza con el fin de confirmar o descartar la presencia de una plaga previamente definida por el usuario.

Diagnóstico: se realiza con el fin de establecer la identidad de la plaga causante del síntoma o daño inicial en la muestra recibida en el laboratorio.

Determinación taxonómica: se realiza con el fin de obtener la identidad de una plaga.



Área de Fitopatología



Área de Entomología



Tilletia horrida en arroz



Phytophthora en cacao



PLRV en papaya

Servicios – Área de Fitopatología

- **Hongos fitopatógenos**
- **Nematodos fitopatógenos**
- **Virus**
- **Bacterias fitopatógenas**
- **Phytomonas spp.**

Herramientas de caracterización morfológica, bioquímica y biología molecular.

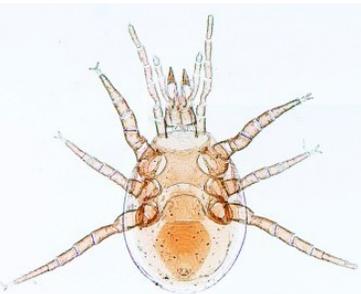
Servicios – Área de Entomología



Anthonomus sp.



Anastrepha comp. fraterculus



Acari: Phytoseiidae

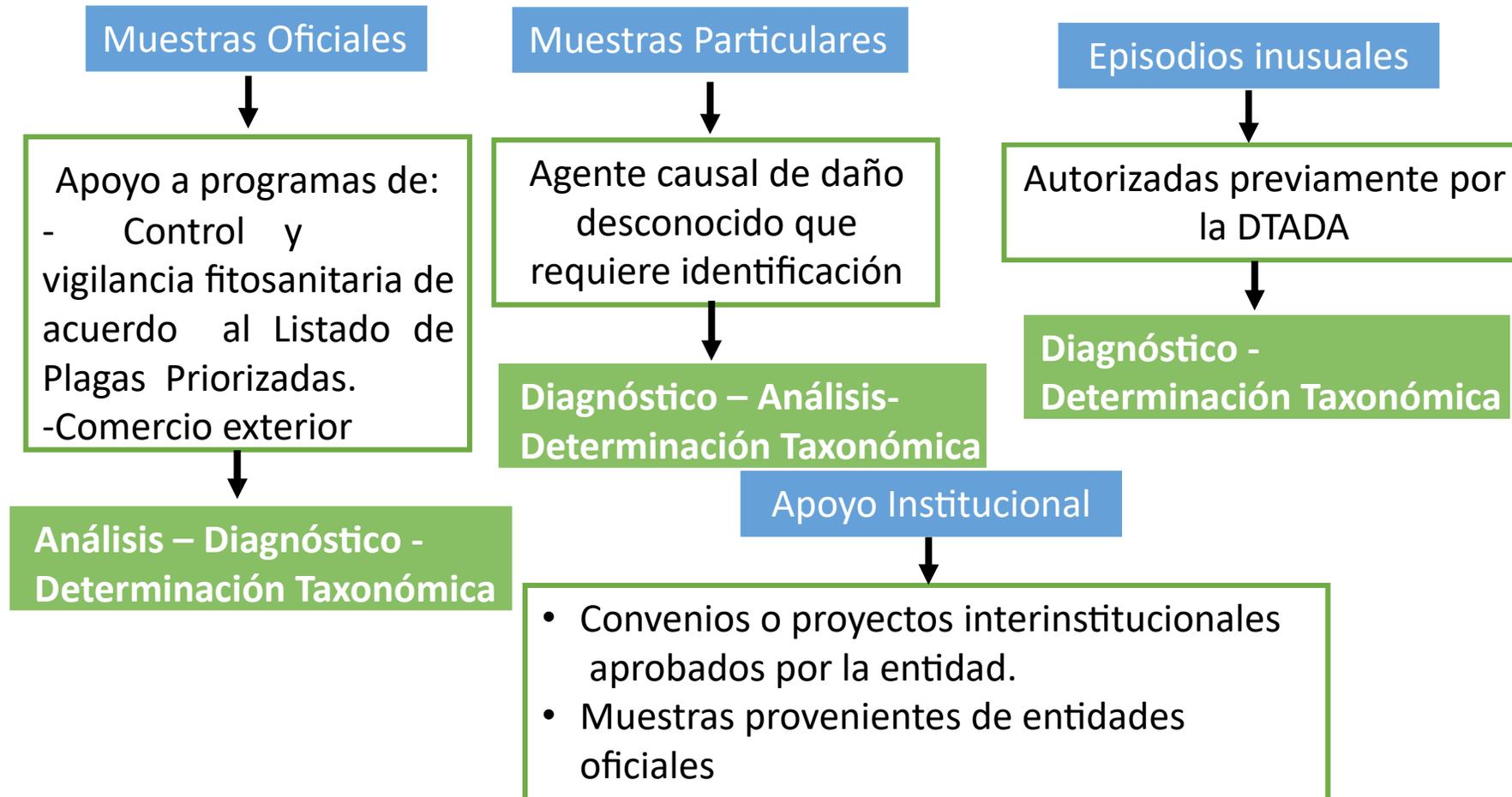
- Insectos
- Ácaros
- Moluscos
- Moscas de las Frutas

Herramientas de identificación morfológica.



Achatina fulica

Muestras que reciben los Laboratorios de Diagnóstico Fitosanitario



Requisitos administrativos para la recepción de muestras

Muestras Oficiales

- ✓ Solicitud de Análisis y Diagnóstico Fitosanitario (Forma 3-752 o 3-754).
- ✓ Memorando SISAD
- ✓ Factura ICA si aplica
- ✓ Para el caso de Plan Nacional Mosca de la Fruta (PNMF) se debe incluir el listado con la información de las muestras.

- Forma 3-752:

<http://www.ica.gov.co/Areas/laboratorios/Lab-Nacional-de-Diagnostico-Fitosanitario.aspx>

- 3-754: solicitud de análisis detección de plagas en material vegetal de comercio exterior

Muestras Particulares

- ✓ Solicitud de Análisis y Diagnóstico Fitosanitario (Forma 3-752).
- ✓ Factura ICA

Muestras asociadas con episodios inusuales

- ✓ Memorando D.T.E.V.F.
- ✓ Memorando SIDAD a la D.T.A.D.A
- ✓ Autorización de la D.T.A.D.A
- ✓ Solicitud de Análisis y Diagnóstico Fitosanitario (Forma 3-752).
- ✓ Memorando SISAD.

Procedimiento VE-FITO-P-014

Condiciones previas a la toma de la muestra

- ✓ Comunicarse con el laboratorio mas cercano con el fin de establecer la disponibilidad del servicio y para resolver dudas a cerca de la toma correcta de la muestra.
- ✓ La recepción de muestras en los laboratorios del ICA, únicamente es de lunes a viernes en el horario laboral, que en la mayoría de seccionales es de 7:30 am a 4:30 pm.
- ✓ Asegurarse que el envío de la muestra para su procesamiento concuerde con el horario laboral establecido.
- ✓ Contar con un servicio de mensajería que garantice la entrega del material en un tiempo máximo de 30 horas luego de su colecta en campo.



RAZONES PARA EL RECHAZO DEL SERVICIO DE ANÁLISIS Y DIAGNÓSTICO:

- La falta de uno o varios requisitos administrativos.
- Muestras sin rotular, con información insuficiente, información errónea o confusa.
- El número de especímenes no es suficiente para determinar la plaga en cuestión.
- El estado de desarrollo que presenta el artrópodo plagano es el adecuado para realizar su identificación.
- La muestra no está debidamente conservada y se encuentra deteriorada.
- Los especímenes entomológicos están incompletos y han perdido estructuras o partes necesarias para realizar su determinación.
- Confundir síntomas de agentes bióticos con síntomas asociados a agentes abióticos.
- Enviar muestra que no cumple con los requerimientos técnicos.
- La muestra y sus características no corresponden con lo indicado en las formas, 3-752 o 3-754.
- La muestra no está incluida dentro de los programas oficiales del ICA y no se remiten soportes correspondientes a episodios inusuales (cliente interno).

Requisitos básicos de una muestra para Análisis- Determinación Entomológica

Tamaño de muestra

(número de individuos, estados de desarrollo)

Datos de colecta

(Altura, **Hospedante**, Síntomas, etc)

Condiciones de preservación

(Viales y medios de preservación adecuados)

Grupos de artrópodos y moluscos incluidos en las listas de plagas prioritizadas

ACARI (ácaros, arañas rojas)

COLEOPTERA (barrenadores, chizas, picudos)

HEMIPTERA (chinchas, insectos escama, moscas blancas, áfidos, saltahojas)

HYMENOPTERA (avispa taladradoras, hormigas)

DIPTERA (moscas de la fruta, minadores)

LEPIDOPTERA (mariposas y polillas)

THYSANOPTERA (trips)

MOLUSCOS (babosas y caracoles)

BLATTODEA (termitas)

Toma de muestras entomológicas

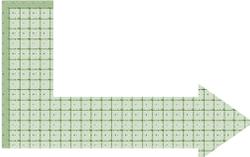
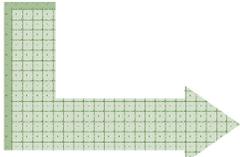
Observación



Recolecta



Preservación



Luna, 2005

Características generales de artrópodos plaga que dificultan la toma de muestras

- Tamaño Pequeño
- Gran capacidad de desplazamiento
- Diferentes estrategias de defensa y protección
- Hábitos nocturnos
- Dieta especializada en estructuras ubicadas internamente o a nivel radical
- Perdida de caracteres diagnósticos posteriores a la toma de la muestra



Observación del Problema

1.

Características del terreno



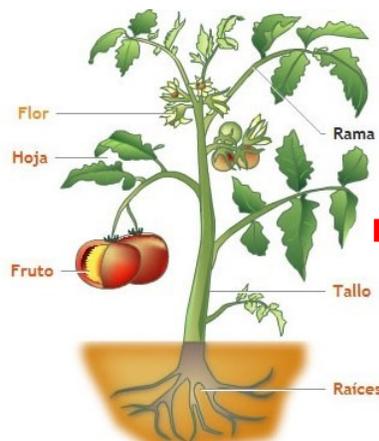
2.

Distribución de la plaga



Diferencias en el suelo, pendientes y cultivos vecinos

3.



Signos



4.

Formulación de la Hipótesis

Elementos útiles para coleccionar artrópodos

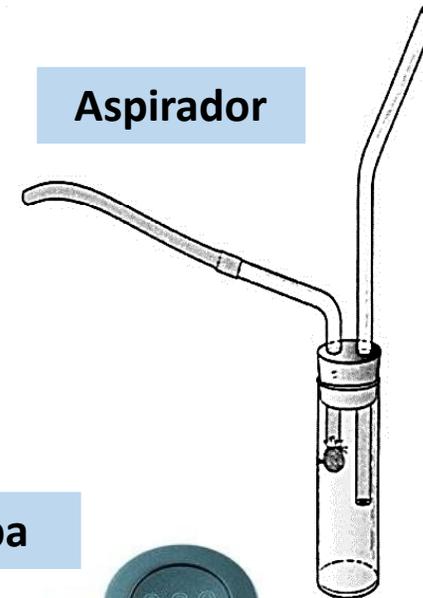
Pinzas y Pincel



Red Entomológica



Aspirador



Pala de jardinería



Tijera podadora



Lupa



Información que debe acompañar a la muestra

- Forma de obtención de la muestra.
- Fotografías de la planta (caracterizar el tipo de daño de la plaga).
- Georreferenciación y altitud.
- Características del cultivo (especie, variedad, sistema de siembra, estado fenológico).
- Descripción del problema (distribución, época de aparición, antecedentes del problema en la zona).
- Labores agrícolas realizadas.
- En que órganos de la planta se ubica la plaga.



Sintomatología y diagnóstico

Síntoma	Posible agente causal
Defoliación	Larvas de mariposas y cucarrones
Marchitez y muerte repentina	Larvas de mariposas y cucarrones
Clorosis o pigmentaciones foliares	Ácaros, trips, chinches
Hojas encrespadas o torcidas	Ácaros, trips, otros insectos
Hojas con agujeros, pegadas o con minas	Larvas de mariposas, díptera o de cucarrones; cucarrones pequeños, hormigas, grillos, chinches
Agallas y nódulos	Ácaros, chinches, larvas de moscas y avispas, perlas de tierra
Secreciones algodonosas o escamiformes	Escamas y cochinillas

Apariencia externa



Pseudococcus elisae

Pseudococcus viburni

Pseudococcus longispinus

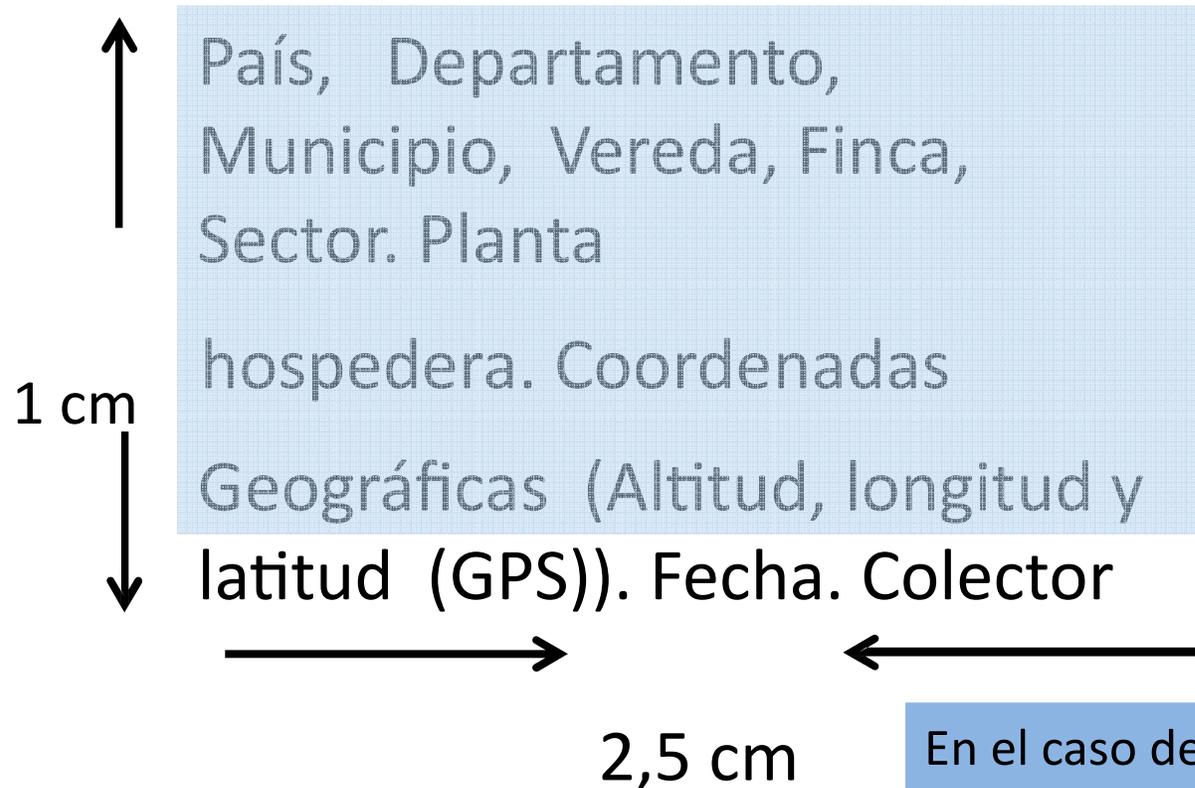


Frankliniella occidentalis

Thrips palmi

Rótulo o etiqueta que acompaña la muestra de Entomología

La etiqueta debe elaborarse con lápiz o rapidógrafo :



En el caso de PNMF el rótulo debe llevar el código de la ruta, número de la trampa y fecha de colecta.

Preservación de las muestras

- Alcohol etílico 70% (limpio) en envases herméticos.



En general adultos de casi todos los grupos excepto Lepidoptera. Los adultos de este grupo se conservan en seco.

Recipientes recomendados



Recipientes **NO** recomendados (pérdida de alcohol)

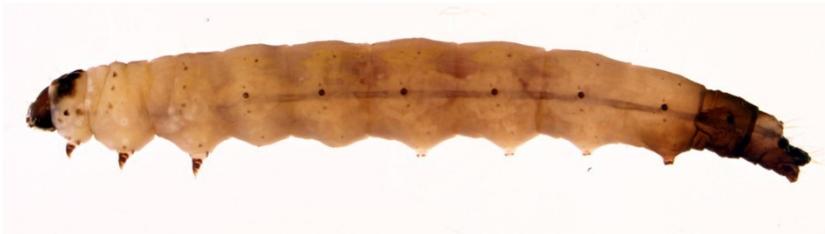


Muestras de larvas vivas



Cámaras de cría

Si la muestra va a tardar poco tiempo en ser transportada al laboratorio se puede enviar material vegetal con las larvas vivas contenidas en un recipiente con ventilación y alimento.



Larva



Adulto

Preservación de larvas

- Sacrificar en agua hirviendo pasar a alcohol al 70% o colocar en solución fijadora*



Espécimen preservado
en solución fijadora



Espécimen preservado
en alcohol

***Solución fijadora:** 35 partes de vinagre blanco, 15 partes de alcohol y 2.5 partes de formol.

Preservación de mariposas y polillas adultas

Manipulación:



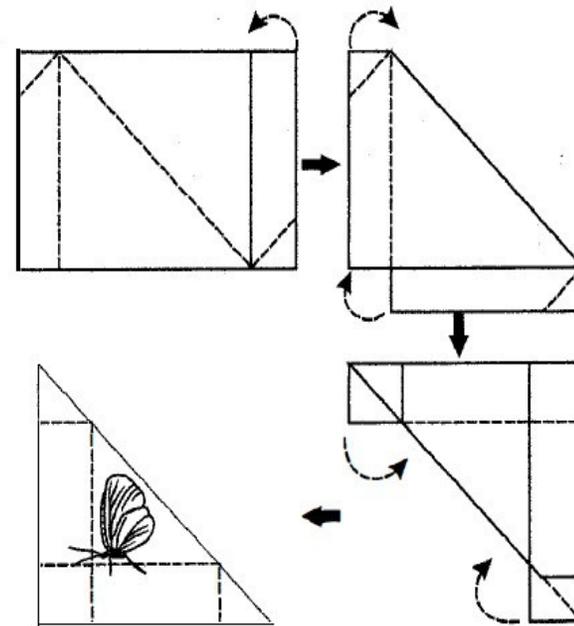
Sacrificio: Opción 1:

Inyección de alcohol al 70% en el torax. No tocar las alas.

Opción 2: cámara letal (algodón con removedor de esmalte).

Opción 3: Sacrificio en congelador por 10 minutos.

Preservación: especímenes en seco



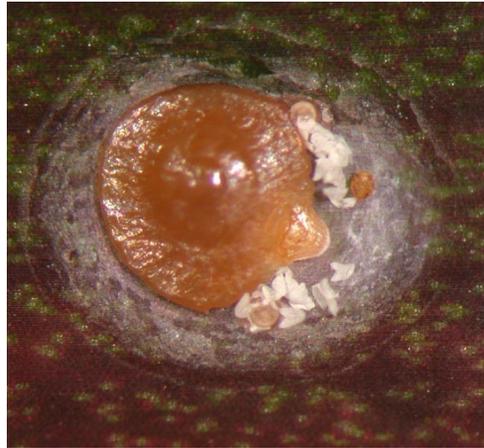
Sobre de papel mantequilla, forma de doblado

Muestras de escamas y cochinillas

Cubierta sin remover



Cubierta removida



Micropreparado



Pigidio

Enviar el sustrato en el que están adheridos, todo en alcohol 70%

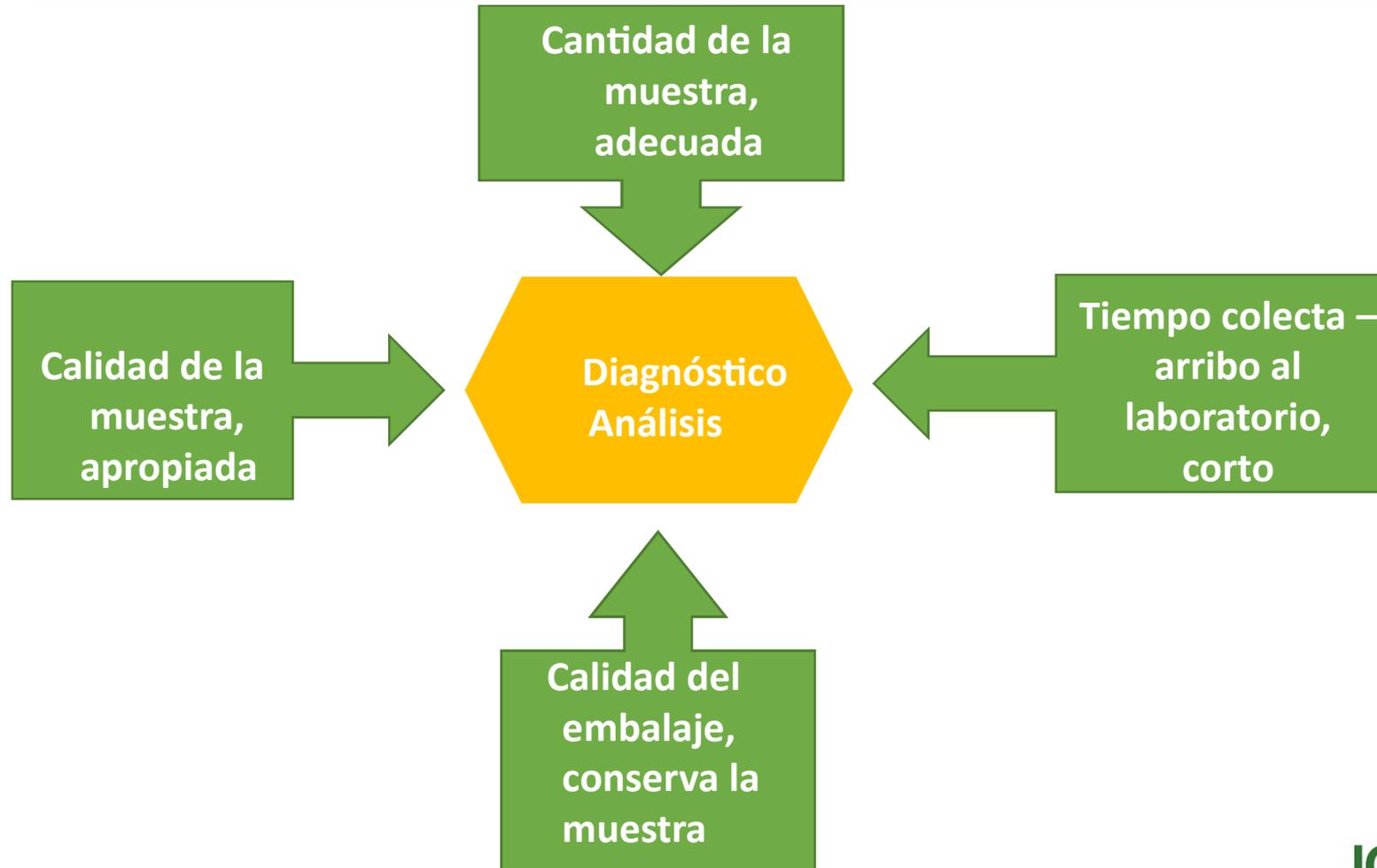
Muestras de Ácaros, Moscas Blancas



Preferiblemente
enviar el
sustrato donde
se encuentran
adheridos.



Requisitos básicos de una muestra para Análisis fitopatológico



Material insuficiente y excesivamente manipulado



Material en descomposición



Direccionamiento erróneo de la muestra (daño entomológico)



El patógeno requerido para análisis no se encuentra en el material remitido



Material mal embalado



Material con aplicación reciente de pesticida



Preparación del muestreo

- ¿Cuáles cultivos se van a visitar?
- ¿Cuáles son las principales enfermedades e insectos plagas? ¿Que síntomas están asociados?
- ¿Qué plagas hacen parte de los procesos misionales del ICA (listados de plagas priorizadas)?
- Revisar instructivos de la DTEVF (cliente interno).
- Programar los muestreos para el inicio de la semana.

Preparar los elementos para tomar la muestra



Preparar los elementos para tomar la muestra



Información de campo que soporta el diagnóstico

- Fotografías de la enfermedad.
- Condiciones climáticas (temperatura, m.s.n.m, precipitación).
- Características del cultivo (especie, variedad, sistema de siembra, estado fenológico).
- Factores edáficos o topográficos.
- Descripción del problema (distribución, época de aparición, antecedentes del problema en la zona).
- Labores agrícolas realizadas.
- Distribución del problema. Órganos de la planta afectados. Se puede relacionar con algún factor ambiental o con alguna práctica de cultivo.

Descripciones ajustadas a la realidad

Tipos de cultivo

- ✓ Cultivos de ciclo corto (cereales como arroz o maíz, solanáceas como tomate o papa, leguminosas como frijol o arveja, entre otras): incluir plantas completas con síntomas iniciales, intermedios y avanzados de la sintomatología de la enfermedad.
- ✓ Cultivos perennes (como frutales o forestales): órganos completos de la planta con síntomas iniciales, intermedios y avanzados de la enfermedad. ¡No olvide observar las raíces, muchos de los problemas en las partes aéreas de la planta pueden tener origen en enfermedades localizadas en las raíces!
- ✓ Para casos de especies vegetales poco conocidas o de reciente cultivo en el país (como *Cannabis* o follajes verdes) se recomienda el envío de una planta sana, ya que esto permite reconocer sus características morfológicas naturales.



Cultivo de ciclo corto



Cultivos perennes

¿Cómo tomar la muestra?

- ✓ Identificar plantas sintomáticas.
- ✓ Tomar una cantidad representativa de tejido con síntomas iniciales, intermedios y avanzados.
- ✓ Tomar y enviar plantas u órganos completos, no fraccionados, evitando contaminar los tejidos vegetales aéreos con suelo.
- ✓ Tomar las muestras cuando la radiación solar no sea muy intensa.
- ✓ No tomar muestras después de lluvia o de aplicar algún pesticida.
- ✓ Evitar la manipulación excesiva de la muestra.
- ✓ No exponer el material a variaciones drásticas de temperatura.
- ✓ Suelo: garantizar humedad a capacidad de campo.



Empaque y almacenamiento

- ✓ La muestra debe empacarse seca, no mojarla o lavarla.
- ✓ Envolver en papel toalla, papel kraft o papel periódico secos y depositar en bolsa plástica nueva o limpia.
- ✓ Embalar cada nivel de síntomas independientemente.
- ✓ Si se trata de una planta completa aislar la raíz del resto de la planta.
- ✓ Muestras de suelo deben empacarse en bolsa de polietileno bien cerrada.
- ✓ La muestra debe ir rotulada con nombre del cultivo, agricultor, finca, vereda, municipio o con el código asignado por el usuario.
- ✓ Enviar la muestra al laboratorio tan pronto es colectada, de no ser posible almacenar en la parte baja de la nevera hasta su entrega en el laboratorio (refrigeración). Mantener cadena de frío (para Fitoplasmas y Ralstonia no se puede someter la muestra a frío)

Cantidad de la muestra

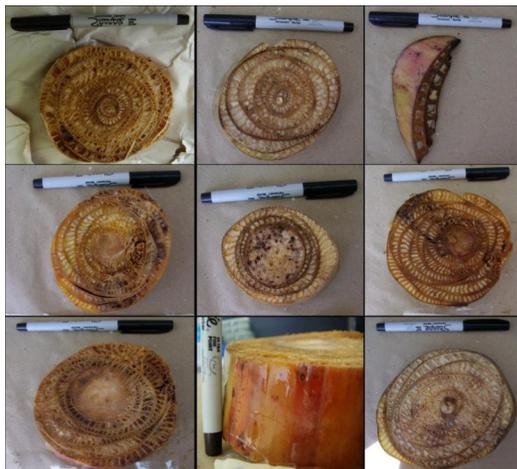
Órgano o tejido vegetal	Adecuado	No adecuado
Tejido foliar	Ramas completas – Mínimo tres ramas	Hojas o folíolos sueltos
Tejido radical	Sistema completo y sin lavar, incluyendo fragmento del tallo, con el sustrato de origen.	Raíces fragmentadas
Tallo o fuste	Mínimo de 40 cm de longitud	Fragmentos muy pequeños
Nematodos	mínimo 500 gramos de suelo y/o raíces	
Insectos vectores	5 especímenes	
Tejido foliar	Mínimo tres ramas sintomáticas	
Suelo	500 g incluyendo tejido radical (se recomienda anexar para patógenos de suelo).	

Cantidad de muestra para análisis por la técnica de ELISA

Material para análisis de ELISA		Órgano o tejido vegetal	Adecuado	No adecuado
Certificación de semilla de papa		Foliolos	Mínimo 15 foliolos sueltos	Material húmedo o con alto grado de descomposición
		Tubérculos	Mínimo 10 tubérculos con brotes	Tubérculos que no presenten brotes
Comercio exterior	Clavel	Esquejes	Mínimo 10 esquejes	Menor cantidad de lo solicitado /Tejido en descomposición
	Maíz	Semilla	300 g de semilla	Menor cantidad de lo solicitado
	Banano	Plántulas	Mínimo 10 plántulas in vitro	Menor cantidad de lo solicitado /Tejido en descomposición
	Alstromeria	Plántulas	Mínimo 6 Plántulas	Menor cantidad de lo solicitado /Tejido en descomposición

Muestras de plátano para detección de Moko

- Frutos y cormos limpios y completos, no fragmentos, debido a que el tejido se oxida, se oscurece y queda expuesto al ambiente y a la humedad, condiciones que favorecen el crecimiento de microorganismos oportunistas, principalmente hongos y bacterias.
- El material vegetal no debe ser cortado, debido a que la bacteria *Ralstonia solanacearum*, se disemina a través de herramienta de corte contaminada, lo que puede ocasionar contaminación cruzada y por ende un falso positivo o un diagnóstico errado en la muestra enviada.
- No es recomendable enviar pseudotallos, pero en caso de que este sea el único material disponible estos deben tener mínimo 25 centímetros de longitud.
- Cada una de las muestras debe ser envuelta en papel toalla o papel kraft y posteriormente debe ser introducida en bolsa plástica debidamente marcada con la información del sitio de recolección. NO enviar material vegetal empacado directamente en bolsa plástica ya que se genera una condición de cámara húmeda y por ende la proliferación de microorganismos oportunistas.



Durante el muestreo en campo es muy importante realizar una inspección minuciosa de los diferentes órganos, seleccionar plantas con síntomas



Tomado de <https://image.slidesharecdn.com/manualesoperativosqueyaestanlistosparaelpblico-130506102259-phpapp01/95/manuales-operativos-que-ya-estan-listos-para-el-pblico-18-638.jpg?cb=1458196916>

Plantas con amarillamiento y marchitamiento foliar



Seleccionar diferentes órganos, de ser posible, plantas completas



Síntomas evidentes, plátano



<https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR58O-CZPIVnLzyhDgjs0W8XBv7-h2pl7I2pQ7uMjgxlksAUt13oA>



<http://media.padil.gov.au/Species/136650/3651-large.jpg>



<https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR58O-CZPIVnLzyhDgjs0W8XBv7-h2pl7I2pQ7uMjgxlksAUt13oA>

Muestras para análisis de patógenos con manifestaciones en órganos específicos



Para especies herbáceas o de porte bajo enviar plantas completas con síntomas iniciales, intermedios y avanzados de la enfermedad



Muestra adecuada para plántulas de vivero (mínimo 5 unidades).



Para diagnóstico de hongos fitopatógenos en forestales se recomienda:

- Observar presencia de estructuras (caso de hongos Basidiomycetes) y tomarlas.
- Si es posible enviar fotografías de síntomas en campo.



A. *Ganoderma* sp ,en palma. B. *Armillaria mellea* en pino. (Agrios, 2004).

Presencia de estructuras anómalas ocasionadas por nemátodos, enviar el tejido radical y suelo asociado



¿OTRAS DUDAS?

Contacte al Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario
más cercano

Encuéntrelo en:

<https://www.ica.gov.co/areas/laboratorios/lab-nacional-de-diagnostico-fitosanitario>