 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 1 de 24



LABORATORIO ENTOMOLOGÍA


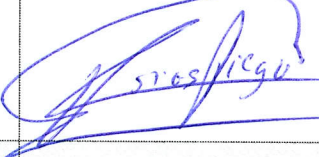


INSTRUCTIVO INT/E/07


INSTRUCTIVO DE MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA



Rev. 3




ELABORADO	REVISADO	REVISADO	APROBADO
			
Responsable Técnico	Director de Diagnóstico	Responsable Calidad	Director General de Laboratorios
			Fecha: 31 ENE 2018

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 2 de 24


HISTÓRICO DE MODIFICACIONES

REV. N°	PASA A REV. N°	FECHA	HOJA/S	CONTENIDO MODIFICADO
NA	11	27/05/2013	25	Instructivo nuevo
1	2	06/07/2015	1 5 6 7 10- 16 17 22	Cambio en la denominación de las Autoridades. 1. Objetivo 2. Alcance 4. Generalidades 4.1. Definiciones 4.2. Abreviaturas 5.2. Toma de muestras entomológicas 5.4. Documentos requeridos para el envío de muestras. Hormigas arrieras
2	3	22/01/2018	Todas	Cambio de logo institucional Histórico de modificaciones 5.2.11.Cambio en toma de muestras de Lepidópteros 5.2.13.Cambio en toma de muestras de Hormigas

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 3 de 24

ÍNDICE

1.	OBJETO	5
2.	ALCANCE	5
3.	REFERENCIAS	5
3.1.	Documentos utilizados en la elaboración.	5
3.2.	Documentos y Registros a utilizar conjuntamente con el INT	5
4.	GENERALIDADES	6
4.1.	Definiciones.....	6
4.2.	Abreviaturas.....	7
5.	DESCRIPCIÓN	8
5.1.	Equipos y materiales:.....	8
5.1.1.	Muestreo	9
5.1.2.	Tipos de Muestreo	9
5.2.	Toma de Muestras Entomológicas.....	10
5.2.1.	Muestreo de ácaros	10
5.2.2.	Muestreo de áfidos	10
5.2.3.	Muestreo de cochinillas	10
5.2.4.	Muestreo de escamas blandas y duras	11
5.2.5.	Muestreo de insectos perforadores de granos almacenados	11
5.2.6.	Muestreo de insectos rizófagos (larvas barrenadoras de raíces).....	12
5.2.7.	Muestreo de moscas blancas:	12
5.2.8.	Muestreo de minadores de hojas en estado Larval.	13
5.2.9.	Muestreo de minadores en estado adultos.	13
5.2.10.	Muestreo de trips	14
5.2.11.	Muestreo de mariposas	15
5.2.12.	Muestreo de lavas o estados inmaduros:	15
5.2.13.	Muestreo de Hormigas Arrieras.	16
5.3.	Tamaño de la muestra	16
5.4.	Documentos requeridos para el envío de muestras.....	17

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 4 de 24

5.5. Conservación y transporte 17

6. ANEXOS.....17


6.1. ANEXO N°1: Descripción de los principales grupo de plagas de importancia agrícola. 17

6.2. ANEXO N°2: Modelo de Etiquetas para el envío de muestras. 17

6.3. ANEXO N°3: Intensidad de muestreo para granos almacenados. 17

6.4. ANEXO N°4: Composición de la solución AGA para el envío de trips 17



	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 5 de 24

1. OBJETO.

Proveer indicaciones generales para el muestreo, recolección, transporte, conservación y envío de muestras de insectos y/ o ácaros fitófagos a los Laboratorios de Entomología de AGROCALIDAD, con el fin de proporcionar condiciones necesarias para una adecuada identificación taxonómica.

2. ALCANCE

Este Instructivo es para uso de clientes: Internos y Externo. Los clientes internos son las dependencias de AGROCALIDAD, siendo los usuarios, por ejemplo, inspectores fitosanitarios que realizan sus actividades en cada una de las provincias del país. Los usuarios externos comprenden: personas o instituciones dedicadas a la educación y/o investigación, personas naturales o jurídicas cuya actividad principal sea la producción, importación o exportación de productos agropecuarios y que requieran realizar una prospección, muestreo e identificación taxonómica de insectos y demás artrópodos de importancia económica.

Este procedimiento describe métodos de colección de manera general, poniendo énfasis en los requerimientos específicos de colecta de cada grupo de insectos, que permitan un adecuado procesamiento e identificación taxonómica de las muestras.

3. REFERENCIAS


Se utiliza la versión vigente de los siguientes documentos:

3.1. Documentos utilizados en la elaboración.

- PGC/LA/01 Procedimiento General de Calidad Gestión de la Documentación
- MGC/DA/01 Manual de Calidad
- DOCE/E/62 Collecting and Preserving Insects and Mites. Techniques & Tools. Schauff, M. E. Systematic Entomology Laboratory, USDA. National Museum of Natural History.
- DOCE/E/60 Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias. NIMF N° 5. *Glosario de Términos Fitosanitarios*. Producido por la Secretaría de la Convención Internacional de la Protección Fitosanitaria.
- DOCE/E/21 Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias. NIMF N° 6. *Directrices para la Vigilancia..* Producido por la Secretaría de la Convención Internacional de la Protección Fitosanitaria.
- DOCE/E/61 Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias. NIMF N° 31. *Metodologías para muestreo de envíos*. Producido por la Secretaría de la Convención Internacional de la Protección Fitosanitaria.

3.2. Documentos y Registros a utilizar conjuntamente con el INT

- PGC/LA/03-FO07 Orden de Trabajo Laboratorios de Entomología, Fitopatología, Nematología.

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 6 de 24

4. GENERALIDADES

Los cultivos agrícolas sufren perjuicios en su productividad y/o calidad debido al ataque de insectos-plaga y otros artrópodos de importancia económica.

Actualmente, debido al incremento del comercio internacional, es necesario tener un conocimiento exacto de la distribución de insectos y otros artrópodos de importancia económica a nivel mundial, siendo responsabilidad de cada país tener un inventario actualizado de plagas.

La elaboración de listas de insectos-plaga y ácaros-plaga que están presentes en o requieren ser excluidas del país es de suma importancia para la seguridad alimentaria y de salud de nuestro país.

Una de las actividades centrales de los Laboratorios de Entomología de AGROCALIDAD es dar soporte técnico y científico a todos los Subprocesos y demás dependencias de AGROCALIDAD, mediante la identificación taxonómica de insectos plaga y otros artrópodos de importancia económica para el Ecuador.

El proceso de identificación de un insecto es un proceso -generalmente- complejo y el éxito del resultado depende en gran medida de la calidad de la muestra que va a ser analizada. Por lo tanto, un buen muestreo y colecta, la conservación de las muestras, el transporte y envío al Laboratorio debe realizarse de manera correcta.

4.1. Definiciones

Análisis: Operación técnica que consiste en la determinación por medio de un procedimiento específico, de una o varias características de un producto, proceso o servicio.

Artrópodos: Constituyen el Filo más numeroso y diverso del Reino animal y comprende a: insectos, arácnidos, crustáceos y miriápodos.

Diagnóstico de plaga: Proceso de detección e identificación de una plaga (NIMF N°5).

Especie: Unidad biológica básica. Grupos en los que se divide un género, que se diferencia de otras por su morfología o siendo más “exactos” por su ADN o semejanzas morfológicas.


Espécimen: Individuo o parte de un individuo que es tomada como muestra, especialmente el que es representativo de la población a la que pertenece (NIMF N°5).

Filo: Se conoce con este nombre a una categoría taxonómica que agrupa a los seres vivos por su **mismo sistema de organización**. Ejemplo: en el reino animal, se agrupan dentro del mismo "FILO" los organismos que tienen el mismo tipo de tejidos, reproducción, órganos y sistemas, en el caso de la Clase Insecta y Arachnida pertenecen al Filo: Arthropoda.

Galerías: En este documento se refieren a los daños causados por minadores, que como consecuencia de su alimentación dejan en el interior de las hojas o tallos huellas de su desplazamiento, se pueden observar con facilidad ya que generalmente se presentan en forma de caminos y tienen un color amarillento, cuando las galerías aún son frescas es posible observar a la(s) larva(s) en su interior.

Hospedante: (antes hospedero) Aquel organismo, generalmente un producto vegetal, planta o grano que alberga a otro en su interior o lo porta sobre sí (NIMF N° 5).

Identificación taxonómica: Es un proceso mediante el cual se ubica a un organismo desconocido, dentro de un taxón conocido de un sistema de clasificación, a través de la observación de sus caracteres diagnósticos mediante instrumentos como lupas o microscopios.

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 7 de 24

Insecto: Organismo vivo invertebrado del Filo de los artrópodos caracterizado por poseer: un cuerpo segmentado (cabeza, tórax y abdomen), un par de antenas, tres pares de patas y dos pares de alas (excepcionalmente pueden faltar o estar reducidas).

Instar: La etapa en la historia de vida de un insecto entre dos mudas. Un insecto recién nacido que aún no se muda se dice que es un estadio primera ninfa o larva. El adulto (imago) es el estadio final.

Minadores: Son pequeños insectos, que en estado larval construyen galerías en hojas y tallos de las plantas, generalmente pertenecen al Orden Díptera o Lepidóptera

Muda: Es un proceso fisiológico periódico propio de los insectos y demás artrópodos, que ocurre durante su desarrollo post-embriionario hasta alcanzar el estado adulto, mediante el cual el insecto se despoja de su exoesqueleto (piel) y elabora uno nuevo, es tiempo comprendido entre una muda y otra se conoce como instar.

Muestra: Individuo o grupo de individuos extraídos de una población mediante un procedimiento de muestreo. En Entomología, se aplica también a la parte de un individuo que es representativa de una especie y sirve para realizar su identificación taxonómica.

Muestra Primaria: Tomar la muestra con el muestreador metálico de granos, cada colecta con esta herramienta es considerada como una muestra primaria (La muestra final es la unión de las muestras primarias).

Muestreador metálico de granos: Herramienta utilizada para tomar muestras de granos almacenados en sacos, es similar al barreno que se utiliza para tomar muestras de suelo.

Muestreo: Un proceso matemático que nos permite obtener información precisa de un determinado universo mediante la toma de muestras en un corto tiempo.

Orden de Trabajo: Formato oficial de la Coordinación General de Laboratorios, siendo un requisito indispensable para el ingreso de muestras al Laboratorio, en donde se recogen los datos del cliente, la muestra y el tipo de análisis requerido, es un acuerdo entre el laboratorio y el cliente.

Plaga: Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales (NIMF N°5).

Población: Un grupo de organismos que pertenecen a una misma especie y que viven en un área o espacio determinado.

Taxón: Grupo de organismos emparentados que han sido agrupados en una clasificación. Se le asigna al grupo un nombre en latín, una descripción, y un «tipo», de forma que el taxón de una especie es un espécimen o ejemplar concreto.

Tipo: es un ejemplar de una especie sobre el que se ha realizado la descripción de la misma.

4.2. Abreviaturas.


INT: Instructivo

ONPF Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF).

NIMF: Normas Internacionales de Mediad Fitosanitarias.

RT: Responsable Técnico.

A: Analista.

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 8 de 24


5. DESCRIPCIÓN

5.1. Equipos y materiales:

- Tablas blancas de contraste
- Red entomológica
- Trampa de luz negra tipo embudo
- GPS
- Lápiz
- Navaja
- Pinceles N° 000
- Pinzas suaves y duras
- Aspiradores de insectos (de boca)
- Tijera de podar
- Optivisor con linterna de frente
- Lupa 20 x
- Etanol al 75% (no alcohol antiséptico mentolado)
- Solución Alcohol-Glicerina-Ácido acético (AGA)
- Fundas plásticas
- Crioviales (frasco de polipropileno de tapa rosca) de 2 ml. También pueden usarse frascos tipo eppendorf de 2 ml.
- Frascos herméticos con tapa rosca (de polipropileno o vidrio) de varios tamaños (5.5cm x 2.5 cm, 9.7 cm x 2.8 cm, 10 cm x 4.5 cm)
- Recipientes plásticos con tapa hermética
- Sobres de papel encerado
- Fundas de papel
- Perforador de sacos
- Pala recta (Figura 1)



Figura 1. Materiales necesarios para el muestreo de insectos

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 9 de 24

5.1.1. Muestreo

Un adecuado muestreo es de vital importancia para la toma de decisiones sobre medidas de control fitosanitarios o la implementación de un Manejo Integrado de Plagas, ya que debe proporcionarnos información confiable sobre el estado del cultivo o producto.

5.1.2. Tipos de Muestreo

Para la selección adecuada del tipo de muestreo, es importante considerar el objetivo, el tiempo y los recursos disponibles, en este caso los muestreos tienen por objeto verificar la presencia de plagas mediante la colecta de especímenes para su posterior identificación. Existen varios tipos de muestreos de plagas siendo los más utilizados los siguientes:

- Muestreo dirigido
- Muestreo aleatorio

1. Muestreo dirigido: Se realiza generalmente para verificar la presencia de plagas específicas de interés y consiste en realizar muestreos siguiendo un patrón específico. En los muestreos dirigidos es importante coleccionar muestras representativas del (los) insecto (s) a verificar, se considera que para lograr este objetivo se debe muestrear el 5% de la superficie total.

El muestreo dirigido puede realizarse siguiendo dos patrones:

- Recorrido en X: Consiste en dibujar una X imaginaria en el área a ser muestreada y recolectar varias muestras durante la trayectoria del recorrido hasta completar la cantidad necesaria de muestra.

-Recorrido en ZIG-ZAG: Consiste en dibujar un ZIG-ZAG imaginario en el área de muestreo y recolectar varias muestras a lo largo del trayecto, hasta completar la cantidad necesaria de muestra (Figura 2).

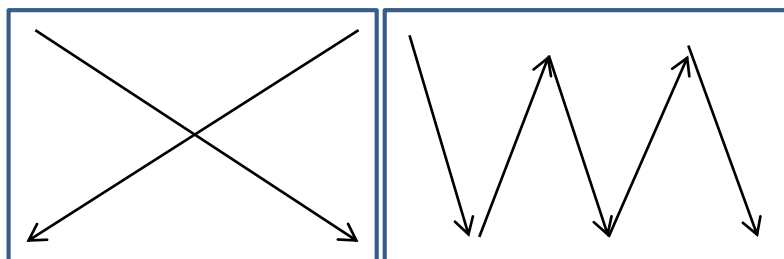



Figura 2. Esquemas de recorridos ("X" y "ZIG-ZAG") para muestreos dirigidos.

2. Muestreo aleatorio: Consiste en darle a cada uno de los elementos de la población la misma probabilidad de ser incluido en una muestra. Para aplicar este tipo de muestreo se puede realizar una selección al azar.

Un plan de muestreo debe incluir muestreos aleatorios con la finalidad de detectar eventos inesperados. Es necesario considerar el alcance del muestreo (área geográfica o sitio de producción) y las condiciones de tiempo (fechas, estaciones, estado fenológico del cultivo) más favorables para el muestreo del (los) insecto (s).

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 10 de 24

5.2. Toma de Muestras Entomológicas.

Se detallan a continuación las consideraciones que se debe tomar en cuenta durante los muestreos, cuando el objetivo sea la identificación taxonómica de plagas presentes en cultivos o en productos vegetales almacenados. El procedimiento de muestreo de insectos-plaga en el campo o invernadero depende del tipo de cultivo y del tipo de insecto a muestrear.

5.2.1. Muestreo de ácaros

Los ácaros son artrópodos del clase Arachnida que pueden ser importantes plagas agrícolas (Anexo N°1 e Figura 7)


1. Recorrer el cultivo, ubicando focos de infestación de ácaros, que se manifiestan con el amarillamiento o clorosis de las hojas.
2. Observar en el envés de las hojas la presencia de ácaros que generalmente viven en colonias.
3. Cortar 1 hoja por planta, en un total de 5 a 10 plantas diferentes en las cuales se haya verificado la presencia de ácaros.
4. Colocar las hojas dentro de una funda plástica y etiquetar la muestra con su respectivo código.
5. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente
6. Colocarlo dentro de un cartón o coolers, y enviar.

5.2.2. Muestreo de áfidos.

1. Recorrer el cultivo en el campo o invernadero (en zig-zag, en X o de manera aleatoria) y observar la presencia de áfidos en los brotes de las plantas o en el envés de las hojas.
2. Colectar cuidadosamente los áfidos con un pincel N° 000 y trasladarlos a un tubo eppendorf de 2ml o cualquier frasco pequeño de vidrio o plástico de cierre hermético que contenga alcohol al 75%.
3. Cerrar bien el frasco para evitar que se riegue el alcohol.
4. Etiquetar la muestra con el código respectivo y de manera indeleble.
5. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente
6. Colocar las muestras y las Ordenes de Trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

5.2.3. Muestreo de cochinillas

1. Pueden encontrarse en cualquier parte de la planta: raíces, hojas, tallos, flores o frutos (Anexo N°1 e Figura 9).
2. Recorrer el cultivo (en zig-zag, en X o de manera aleatoria) con el objeto de detectar la presencia de síntomas ocasionados por escamas, como amarillamiento de hojas o presencia de mielecilla y/o fumagina.
3. Detectar la presencia de cochinillas sobre tallos, entrenudos, axilas, hojas, flores o frutos.
4. Si se sospecha la presencia de cochinillas en las raíces, debido a la marchités de la planta, hacer un hoyo con una pala recta y explorar las raíces.
5. Colectar las cochinillas con un pincel humedecido en alcohol y trasladarlas a un frasco con alcohol al 75 %.

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 11 de 24

5.2.4. Muestreo de escamas blandas y duras

1. Pueden encontrarse en cualquier parte de la planta: raíces, hojas, tallos, flores o frutos
2. Recorrer el cultivo (en zig-zag, en X o de manera aleatoria) con el objeto de detectar la presencia de síntomas ocasionados por escamas, como amarillamiento de hojas o presencia de mielecilla y/o fumagina.
3. Detectar escamas sobre tallos, entrenudos, axilas, hojas, flores o frutos, estas pueden ser de dos tipos: escamas blandas (Anexo N°1, Figura 10) o escamas duras (con armadura) ver Anexo N°1 Figura 11.
4. Cortar con una tijera de podar, una sección de la hoja, tallo, o la raíz afectada(s) y colocar dentro de un frasco con alcohol al 75%. (no utilizar alcohol antiséptico mentolado)
5. A este tipo de insectos es muy importante no desprenderles de las estructuras vegetales ya que se dañan partes del cuerpo que son indispensables para su identificación.
6. Cerrar herméticamente el frasco, y etiquetarlo con el código respectivo.
7. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente
8. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil)


5.2.5. Muestreo de insectos perforadores de granos almacenados

- 1) La toma de muestras de granos almacenados debe realizarse, de la siguiente manera:
- 2) Muestrear de forma aleatoria los sacos de granos almacenados, de acuerdo a lo que indica el ANEXO N°3
- 3) Tomar la muestra con el muestreador metálico de granos, cada colecta con esta herramienta es considerada como una muestra primaria. (la muestra final es la unión de las muestras primarias)
- 4) Observar signos de daño en los granos, por ejemplo: granos agujereados, harina sobre los granos o presencia de insectos.

En general los insectos perforadores de granos pueden ser de dos tipos: gorgojos y polillas.

- **Muestreo de coleópteros (gorgojos) perforadores de granos almacenados.**

- Seguir los pasos que se menciona en el ítem 5.2.5.
- En caso de encontrar adultos de coleópteros (gorgojos, escarabajos) colocarles en un frasco de vidrio que contenga alcohol al 75% (no utilizar alcohol antiséptico mentolado).
- Cerrar herméticamente el frasco, etiquetarlo con el código correspondiente.
- Escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente (Cliente interno).
- En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
- Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 12 de 24

- **Muestreo de lepidópteros (polillas) perforadores de granos.**


- Seguir los pasos que se menciona en el ítem 5.2.5.
- En el caso de encontrar adultos de lepidópteros (polillas) estas se deben coleccionar y colocar en un frasco plástico que tenga aireación suficiente según el número de especímenes, conjuntamente con los granos, para que lleguen vivos al laboratorio (no enviar en alcohol).
- Cerrar el frasco y etiquetar con el código de muestra correspondiente.
- Los especímenes de adultos de Lepidoptera también pueden ser coleccionados y colocados en sobres de papel cera (no enviar en alcohol).
- En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente
Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

5.2.6. Muestreo de insectos rizófagos (larvas barrenadoras de raíces)

1. Recorrer el cultivo detectando plantas que presenten síntomas de marchitez o clorosis.
2. Realizar un hoyo en el suelo con una pala recta, las dimensiones del hoyo dependerán del tipo de planta que se esté muestreando. Por ejemplo, en árboles o palmeras, el hoyo debe ser de 40 cm de ancho x 50 cm de largo x 30 cm de profundidad. En cereales el hoyo debe ser de menor tamaño dependiendo del tamaño de la planta.
3. Observar signos de daño provocados por larvas (excrementos de larva, raíces cortadas, perforadas o taladradas en su cilindro central).
4. En caso de hallar raíces con daños, cortar la raíz con una tijera de podar o navaja.
5. Examinar cuidadosamente el cilindro interior de la raíz y buscar larvas.
6. En caso de hallar una larva(s) en una raíz (Anexo N°1 e Figura 16), colocar la raíz con la larva y también raíces sanas dentro de un frasco plástico de boca ancha. Las larvas deben llegar vivas al laboratorio donde culminarán su ciclo de vida, por eso es importante que se envíe raíces sanas que les servirán de alimento, enviar el mayor número posible de larvas al menos 20, si es posible se pueden enviar pupas en un número similar.
7. Dependiendo de la muestra se debe colocar en el frasco pedazos de papel periódico para que adsorba el exceso de humedad, además si la muestra tardará en llegar al Laboratorio más de 24 horas, se deberá realizar pequeños agujeros en la tapa del frasco para que les permita respirar a las larvas.
8. Cerrar el frasco, etiquetar con el código correspondiente.
9. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
10. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

5.2.7. Muestreo de moscas blancas:

1. Recorrer el cultivo en el campo o invernadero, sacudiendo suavemente las plantas con la mano para detectar la presencia de adultos.
2. Observar en el envés de las hojas la presencia de estados inmaduros (ninfas) de mosca blanca.

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 13 de 24

3. Cortar con una tijera de podar las hojas donde se encuentran las ninfas más grandes (de último instar) (ver Anexo N°1 e Figura 20)
4. Colocar las hojas dentro de una funda de papel y luego dentro de una funda plástica.
5. Etiquetar la muestra con el código correspondiente
6. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
7. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

5.2.8. Muestreo de minadores de hojas en estado Larval.



Figura 3. Hoja con galerías producidas por minadores

1. Recorrer el cultivo detectando plantas que presenten galerías en las hojas (Figura 3).
2. Cortar las hojas o tallos con galerías frescas, en las que generalmente se observan larvas en su interior (Anexo N°1 e Figura 18 y 19).
3. Colocar las hojas y/o tallos dentro de una funda de papel y luego dentro de una funda plástica, es importante colocar las hojas afectadas en medio de varias hojas sanas para protegerles y evitar que se mueran las larvas (al menos 5 hojas de cada lado).
4. Etiquetar la muestra con el código correspondiente.
5. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
6. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

5.2.9. Muestreo de minadores en estado adultos.

Existen 2 formas de coleccionar adultos de minadores, que generalmente son de los órdenes díptera o lepidóptera, estos métodos se utilizan de preferencia cuando se conoce las características morfológicas del estado adulto de los minadores.


	INSTRUCTIVO	INT/E/07
	“MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	Rev. 3
		Hoja 14 de 24



Figura 4. Uso de succionador personal para colecta de minadores

Mediante succionador de uso personal.

1. Localizar moscas u otros minadores posados sobre las hojas,
2. Apuntar con la manguera succionadora y aspirar (**Figura 4**).
3. Colocar los adultos en un frasco con alcohol al 75%.


Mediante aspiradora.

Este es un método mecánico de muestreo, en el que se utiliza una aspiradora a motor, para aspirar los insectos voladores de las plantas que se conoce son hospedantes de moscas u otros insectos minadores.

1. Aspirar con la aspiradora sobre las plantas que se desea muestrear.
2. Colocar el producto del aspirado en frascos de cristal o plástico con alcohol al 75%. Debe considerarse que en este tipo de muestreo se colectarán también otro tipo de insectos.
3. Cerrar el frasco herméticamente y etiquetarlo con el código correspondiente.
4. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
5. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

5.2.10. Muestreo de trips

1. Recorrer el cultivo en zig-zag, en X o de forma aleatoria.
2. Sacudir suavemente las flores o el follaje de las plantas sobre una superficie de color blanco con el objeto de que los trips caigan sobre ella (Anexo N°1 e Figura 21).
3. Tomar con un pincel N° 000 humedecido los especímenes que caigan sobre la tabla y trasladarlos a un frasco pequeño de cristal o plástico con tapa hermética o a un tubo épendor (el tamaño no importa) que contenga alcohol al 75% o solución AGA (ver su composición en Anexo N°4)
4. Cerrar bien el frasco y etiquetar con el código correspondiente.
5. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
6. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 15 de 24

5.2.11. Muestreo de mariposas

1. Este método es de utilidad para la captura de mariposas de tamaño medio o grande que permanecen activas durante el día.
2. Recorrer el cultivo con una red entomológica y atrapar las mariposas haciendo bandeos con la red de derecha a izquierda y viceversa.
3. Matar las mariposas presionando ligeramente el tórax.
4. Colocar las alas en posición de reposo y colocar las mariposas dentro de un sobre de papel encerado (forma de elaborar el sobre **Figura 5**) cerrarlo con cinta adhesiva y etiquetar con el código correspondiente (**Figura 6**).
7. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
5. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

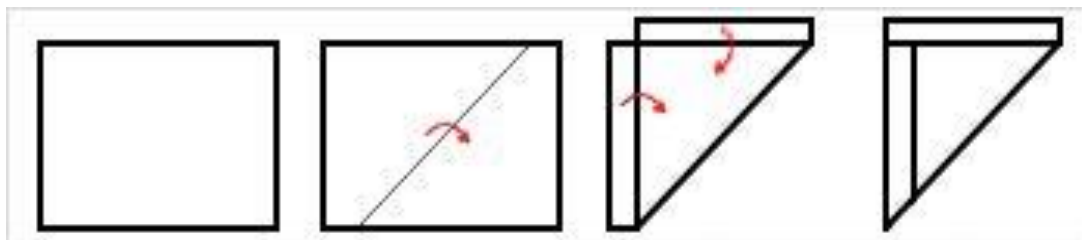


Figura 5. Elaboración de sobres para envío de Mariposas.

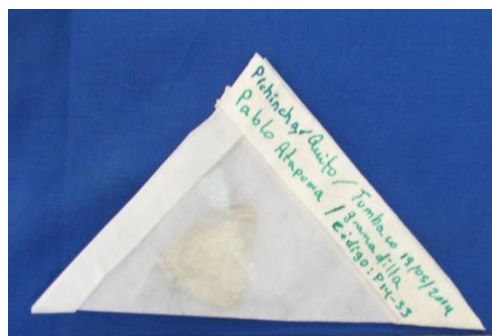



Figura 6: Sobre con mariposa

5.2.12. Muestreo de lavas o estados inmaduros:

1. Examinar el cultivo o producto vegetal ubicando larvas o insectos inmaduros (Anexo N°1 Figura 14 y 15).
2. Tomar la(s) larva(s) con pinzas suaves.
3. Colocar las larvas dentro de un frasco plástico de tapa ancha, en donde previamente se ha colocado un pedazo de papel absorbente y material vegetal del cual se alimenta, el tamaño del frasco debe permitir al insecto moverse libremente en su interior, con el fin de que llegue(n) vivo(s) al Laboratorio.
4. Cerrar el frasco y si el traslado de las muestras va a tardar más de 24 horas es necesario hacer pequeños agujeros en las tapas, para que les permita respirar a las larvas.

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 16 de 24

5. Etiquetar las muestras con el código correspondiente.
6. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
7. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).

En vista que la mayoría de insectos necesitan encontrarse en estado adulto para poder ser identificados. Las muestras en estados inmaduros deben enviarse vivas para que en el laboratorio puedan culminar su ciclo de vida, para ello se debe considerar lo siguiente:

- Seleccionar las larvas más grandes, o en lo posible coleccionar pupas.
- Las larvas deben disponer del alimento suficiente para culminar su ciclo de vida.
- En el caso de los minadores no se deben destapar las galerías.
- Enviar la mayor cantidad posible de individuos, ya que no todos consiguen llegar al estado adulto (entre 20 a 50 individuos).
- Asegurarse que no les falte aire a los insectos, para eso pueden realizarse pequeños orificios de las tapas de los recipientes.

Varios insectos inmaduros pueden encontrarse en el interior de diferentes partes de las plantas, por lo tanto pueden enviarse al laboratorio: raíces, tallos, hojas, frutos, tubérculos, semillas, etc. que se encuentren afectados por insectos que en estado inmaduro.


5.2.13. Muestreo de Hormigas Arrieras.

Para la identificación taxonómica de hormigas arrieras, se requieren los soldados. Para la colecta de los mismos se debe proceder de la siguiente manera:

1. Ubicar un nido de hormigas arrieras, se puede conseguir con facilidad siguiendo el camino de las hormigas que llevan hojas.
2. Introducir una rama larga y delgada en el agujero del nido, y esperar que salgan "los soldados", mismos que se les puede reconocer con facilidad debido a su mayor tamaño.
3. Colectar los soldados con pinzas, es importante el uso de estas herramientas, para evitar heridas que pueden causar las hormigas si son colectadas directamente.
4. Colocar en alcohol al 75% durante unos 15 segundos cada hormiga colectada y luego transferirle al frasco definitivo, con alcohol al 75%. Además de los soldados es importante que se coleccionen varias obreras, las muestras debe estar formadas de al menos 20 hormigas 50% soldados y 50% obreras.
5. En el caso de cliente Interno; escribir los datos de la muestra en el Formato de Orden de Trabajo vigente, en el caso de cliente externo adjuntar a la muestras un documento con la información de la muestra y datos del cliente.
6. Colocar las muestras y órdenes de trabajo dentro de un cartón o coolers, y enviar. (si las muestras será enviadas por correo, anotar siempre que se trata de material frágil).
7. Etiquetar y enviar.

5.3. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra dependerá de la situación en la que se realice el muestreo. Por ejemplo, en muestreos realizados en los cultivos o productos almacenados no destinados a la exportación, la cantidad de especímenes que pueden ser colectados es generalmente alta (20-50). Mientras que en

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 17 de 24

muestreos realizados en productos de importación o exportación la cantidad de especímenes que pueden ser colectados es generalmente reducida (1-5).

Para los procesos de identificación taxonómica de insectos a nivel de especie se requiere un número suficiente de especímenes (20-50). Es importante conocer que varios tipos de insectos deben pasar por un procesamiento previo a su identificación y pueden sufrir daños durante estos tratamientos, además los especímenes de algunas muestras son destinados al museo entomológico, esta es una de las razones por las que se necesita que una muestra cuente con un considerable número de especímenes.

5.4. Documentos requeridos para el envío de muestras.

En el caso de Clientes Internos que comprenden todas las dependencias de AGROCALIDAD, las muestras deben enviarse con las respectivas órdenes de trabajo y el Memorando de solicitud de análisis en donde se indique el número de muestras y se solicite la exoneración de pago.

En el caso de Clientes externos (personas o empresas particulares), las muestras deben enviarse con un documento en donde se indique los datos generales del cliente y del cultivo (ver ANEXO N°2), además del certificado de depósito bancario (los valores puede consultarlos en el tarifario).

5.5. Conservación y transporte


Con el fin asegurar la adecuada conservación de las muestras, previamente al envío deberán ser colocadas en cajas de cartón o espuma flex debidamente etiquetadas, en donde se indique que se trata de material frágil para evitar que sufran daños mecánicos durante el transporte.

En el caso del envío de insectos vivos o de muestras compuestas por material vegetal, estas deben llegar al laboratorio en un tiempo máximo de 48 horas, por tal razón no es apropiado realizar envío los días viernes o feriados.

Nota: En todos los casos las muestras deben enviarse en recipientes apropiados para evitar que los insectos se dañen durante el transporte. Cuando las muestras sean enviadas vía correo es necesario colocar una nota indicando que se trata de material frágil además de enviarlas en cartones o coolers (cajas térmicas de espuma flex) a prueba de golpes

6. ANEXOS

- 6.1. ANEXO N°1:** Descripción de los principales grupo de plagas de importancia agrícola.
- 6.2. ANEXO N°2:** Modelo de Etiquetas para el envío de muestras.
- 6.3. ANEXO N°3:** Intensidad de muestreo para granos almacenados.
- 6.4. ANEXO N°4:** Composición de la solución AGA para el envío de trips

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 18 de 24

ANEXO N°1: Descripción de los principales grupo de plagas de importancia agrícola.

1) Ácaros:



Figura 7: Ácaros fitófagos

Artrópodos de la clase Arachnida, algunos de ellos son importantes plagas de varios cultivos, son muy pequeños, por lo que resulta de utilidad el uso de una lupa de 20X para poder observarlos, viven en colonias generalmente en el envés de las hojas (**Figura 7**), en altas poblaciones pueden tejer un tipo de ceda que cubre parte o toda la planta.

2) Áfidos:




Figura 8: Áfidos (pulgones)

Mejor conocidos como pulgones, constituyen una familia de insectos del orden de los hemípteros (antes considerados homópteros). Son plagas importantes de varios cultivos (**Figura 8**)

3) Cochinillas:



Figura 9: Cochinilla

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 19 de 24

Son de cuerpo blando y de aspecto algodonoso, generalmente de color blanco, crema o rosado, tienen patas funcionales, generalmente presentan filamentos serosos, viven en colonias que pueden ubicarse en cualquier parte de la planta (**Figura 9**), los machos son alados y cambian de aspecto durante su ciclo de vida.

4) Escamas blandas:



Figura 10: Escama blanda


Son de cuerpo blando, pueden presentar varios colores, comúnmente no son de apariencia algodonosa, se caracterizan porque las hembras son inmóviles, permanecen adheridas a las plantas a través de su pico insertado en los tejidos vegetales (**Figura 10**).

5) Escamas con armadura:



Figura 11: Escama con armadura

Se caracterizan porque la hembra es inmóvil y produce una sustancia cerosa que la cubre a modo de “armadura”, el insecto se encuentra bajo la cubierta protectora adherido la planta a través de su pico (**Figura 11**), tienen varias formas, muchas especies son plagas importantes de varios cultivos

	INSTRUCTIVO	INT/E/07
	“MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	Rev. 3
		Hoja 20 de 24

6) Plagas de granos almacenados:



Figura 12 : Polilla



Figura 13: Gorgojo

Más conocidos como polillas y gorgojos, son insectos del orden de los coleópteros lepidóptera respectivamente cuyas larvas se alimentan de granos secos almacenados o de harinas (**Figura 12** e **Figura 13**).

7) Insectos inmaduros:



Figura 14: Larva de Lepidóptero




Figura 15: Ninfa de Hemíptero

Se conoce como insectos inmaduros a todos aquellos insectos que aún no han alcanzado el estado adulto, dependiendo del tipo de metamorfosis los insectos inmaduros pueden encontrarse en los siguientes estados de desarrollo: huevo, larva (**Figura 14**), ninfa (**Figura 15**) y pupa. El caso de los ácaros también encontramos estados inmaduros como: huevos, larvas y ninfas.

8) Insectos rizófagos:



Figura 16: Taladrador de raíces

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 21 de 24

Son insectos que se alimentan de raíces, comprenden principalmente larvas de coleópteros (escarabajos), lepidópteros (mariposas y polillas) y dípteros (moscas y sancudos). Dichos insectos construyen galerías al interior de las raíces (**Figura 16**).

9) Minadores:



Figura 17: Minador de hojas



Figura 18: Minador de hojas

Son pequeños insectos, que en el estado larval construyen galerías en hojas y tallos de las plantas, generalmente pertenecen al Orden Diptera o Lepidóptera (**Figura 17 e Figura 18**).

10) Moscas blancas:




Figura 19: Adulto de mosca blanca



Figura 20: Ninfa de mosca blanca

Conocidas vulgarmente como “moscas blancas”, son pequeños insectos que pertenecen al orden de los hemípteros (antes considerados homópteros), los adultos tienen alas de color blanco y poseen una cubierta cerosa (**Figura 19**). Los últimos estados ninfales son inmóviles (**Figura 20**), y se localizan generalmente en el envés de las hojas, atacan varios cultivos de invernadero y de campo abierto.

	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 22 de 24

11) Trips:



Figura 21: Trips adulto


Insectos muy pequeños y delgados que pertenecen al orden Thysanoptera, si bien en las zonas tropicales existen especies de tamaño medio, los que se encuentran en los cultivos andinos son muy pequeños y resulta difícil observarles a simple vista (**Figura 21**). Generalmente se localizan en las flores y brotes tiernos.

12) Hormigas arrieras.



Figura 22: Soldado y obrera de hormigas arrieras

Son plagas de importancia en varios cultivos tropicales, pudiendo defoliar completamente las plantas atacadas. Viven en grande colonias (nidos), con diferentes castas, comúnmente conocidas como: obreras, soldados (**Figura 22.**) y reina.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/E/07
	“MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	Rev. 3
		Hoja 23 de 24

ANEXO N°2: Modelo de Etiquetas para el envío de muestras.

 AGROCALIDAD <small>AGENCIA ECUATORIANA DE ASESORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</small>	LABORATORIO: _____		
Código de campo de la muestra:			
Ubicación			
Provincia:	Cantón:	Parroquia:	
Coord X:	Coord Y:	Altitud:	
Cultivo:			
Identificación de la muestra:			
Tipo de Análisis:			
Fecha de Recolección:			
Fecha de envío:			
Recolector:			
Observaciones:			


 AGROCALIDAD <small>AGENCIA ECUATORIANA DE ASESORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</small>	LABORATORIO: _____		
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:			
PROVINCIA:	CANTÓN:	PARROQUIA:	
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA:			
FECHA DE MUESTREO:			
FECHA DE ENVÍO:			
MUESTREADO POR:			
OBSERVACIONES:			

Etiquetas para muestras enviadas en recipientes grandes/ medianos.

Cod. Muestra: _____ Finca: _____ Cantón _____ Cultivo _____ Tipo de Análisis: Entomológico Fecha de Recolección: _____ Recolector : _____
--

Etiqueta para muestras pequeñas (tubos 20ml)



	INSTRUCTIVO “MUESTREO PARA EL LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA”	INT/E/07
		Rev. 3
		Hoja 24 de 24

ANEXO N°3: Intensidad de muestreo para granos almacenados, de acuerdo a los criterios de toma de muestras del Laboratorio de Semillas, y que deben ser aplicados para el monitoreo de plagas de granos almacenados.

TABLA N°1: Intensidad de muestreo para granos almacenados en saco de 5 A 100 kg

NÚMERO DE SACOS	NUMERO DE MUESTRAS PRIMARIAS A TOMAR
Hasta 4 sacos	Se toman tres (3) muestras primarias por cada saco
De 5 a 8 sacos	Se toman dos (2) muestras primarias de cada saco
De 9 a 15 sacos	Se toman una (1) muestra primaria de cada saco
De 16 a 30 sacos	Se toman 15 muestras primarias en total
De 31 a 59 sacos:	Se toman 20 muestras primarias en total
De 60 ó más sacos:	Se toman 30 muestras primarias en total

ANEXO N°4: Composición de la solución AGA para el envío de Trips al Laboratorio de Entomología.

COMPOCICIÓN DE LA SOLUCIÓN AGA:

Alcohol al 70%..... 8 partes
 Acido acético al 99%1 parte
 Glicerina.....1 parte
 Agua destilada5 partes