

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	
		Rev. 4
		Hoja 1 de 19



LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA.

INSTRUCTIVO INT/FP/01

TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA.

Rev. 4

ELABORADO	REVISADO	REVISADO	APROBADO
Hernando Regalado García Analista de Fitopatología 3 (Responsable Técnico del Laboratorio de Fitopatología) C.I.: 1103440515	Silvia Fernanda Pachacama Gualotuña Directora de Diagnóstico Vegetal CI: 1717933608	Magaly Lucía Quishpe Quinchiguango Analista de calidad de Plaguicidas 3 (Analista de calidad) C.I: 1721854774	Silvia Fernanda Pachacama Gualotuña Directora de Diagnóstico Vegetal CI: 1717933608
Fecha: 17/11/2023			

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	
	Rev. 4	
		Hoja 2 de 19

HISTÓRICO DE MODIFICACIONES

REV. N°	PASA A REV. N°	FECHA	HOJA/S	CONTENIDO MODIFICADO
0	1	16/06/2014	11	Instructivo nuevo
1	2	15/07/15	4,6,8,10 11	4.1 Definiciones 5.1 Muestras de plantas o de partes de plantas 5.1.3. Envío de muestras al Laboratorio 3.1 Documentos utilizados en la elaboración. 3.2 Registros a utilizar en conjunto con el INT 6. ANEXO
2	3	22/01/2017	Todas	Cambio de logotipo institucional, por Cambio de Razón Social. Arreglos de forma, fondo y typeo general 3. Referencias 5. Procedimiento
3	4	16/11/2023	3-6, 12-19	3.1 Documentos utilizados en la elaboración 3.2 Documentos y registros a utilizar conjuntamente con el INT 5.4. Recolección de muestras de suelo y agua para análisis de <i>Ralstonia spp.</i> - Muestra de suelo ✓ Muestreo en terreno abierto. ✓ Muestreo en plantaciones. ✓ Embalaje, preservación, etiquetado y envío de muestras de suelo. - Muestra de agua. ✓ Muestreo en canales de agua de riego, drenaje a cielo abierto, acequias. ✓ Muestreo en estanques o reservorios. ✓ Embalaje, preservación, etiquetado y envío de muestras de agua.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 3 de 19

INDICE

1. OBJETO	4
2. ALCANCE	4
3. REFERENCIAS	4
3.1. Documentos utilizados en la elaboración	4
3.2. Documentos y Registros a utilizar conjuntamente con el INT	5
4. GENERAL	5
4.1. Definiciones	5
4.2. Abreviaturas	6
4.3. Materiales.	6
4.4. Preparación de material.	7
5. PROCEDIMIENTO	7
5.1. Recolección de muestra de plantas o partes de plantas	7
5.2. Recolección de muestras de suelo y abonos sólidos	9
5.3. Recolección de muestras líquidas (agua de riego y abono líquido)	10
5.4. Recolección de muestras de suelo y agua para análisis de <i>Ralstonia spp.</i>	12
6. ANEXOS	15

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 4 de 19

1. OBJETO

Establecer instrucciones de toma de muestras de material vegetal, suelo, abonos orgánicos y agua de riego y describir su adecuada preservación y requisitos de envío al Laboratorio de Fitopatología de AGROCALIDAD con la finalidad de obtener muestras representativas de especímenes o muestras que presenten sintomatología de enfermedad y que permitan aislar e identificar microorganismos fitopatógenos.

2. ALCANCE

Este instructivo es de aplicación para clientes o usuarios internos y externos, para programas establecidos de muestreo o casos particulares de sospecha de existencia de sintomatología que indiquen el ataque de microorganismos fitopatógenos que afecten a plantas o cultivos. De esta manera, se establece un criterio para la recolección, preservación y envío de material vegetal (hojas, tallos, raíz, frutos, flores, cormos, tubérculos, etc.), suelo, abonos orgánicos y agua de riego al Laboratorio de Fitopatología por parte de inspectores fitosanitarios (cliente o usuario interno) y cliente o usuarios externos.

3. REFERENCIAS

Se utiliza la versión vigente de los siguientes documentos:

3.1. Documentos utilizados en la elaboración

- DOCE/FP/48. Ley de Sanidad Vegetal y su reglamento, Codificación 8, Registro Oficial Suplemento 315 de 16 de Abril del 2004, República de Ecuador.
- DOCE/FP/47. Norma CODEX CAC/GL 33, Métodos de muestreo recomendados para la determinación de residuos de plaguicidas a efectos del cumplimiento de los LMR, CAC/GL 33 Anexo I.
- FAO 1990; revisado FAO, 1995; Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, CIPF, 1997.
- DOCE/FP/06: NIMF No. 3 Directrices para la exportación, el envío, la importación y liberación de agentes de control biológico y otros organismos benéficos.
- DOCE/FP/08. NIMF No. 27. Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas.
- PGC/LA/01 Procedimiento General de Calidad de Gestión de la Documentación.
- PGT/LA/06: Recepción, Ingreso y Entrega de Muestras.
- MGC/FP/01: Manual de Calidad
- DOCE/FP/69. OBREGON, M. et all. 2011. SUPERVIVENCIA DE RALSTONIA SOLANACEARUM EN SUELO Y TEJIDO DE PLANTAS DE BANANO EN URABÁ, COLOMBIA. Fitosanidad, vol. 15, núm. 2.
- DOCE/FP/70. GALAN, D. 2018. Metodología para la Toma de Muestra de Microorganismos Altamente Patógenos en Las Matrices Ambientales Aire, Agua y Suelo/Sedimento. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 5 de 19

- DOCE/FP/71. --- . ---. MUESTREO DE AGUAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. Green Lab.
- DOCE/FP/72. ---- 1998, AGUA. CALIDAD DEL AGUA. MUESTREO. MANEJO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2 169:98. Ed I.

3.2. Documentos y Registros a utilizar conjuntamente con el INT

- PGC/LA/03-FO07. Orden de Trabajo
- Etiqueta de identificación de muestras – clientes internos

4. GENERAL

4.1. Definiciones

- **Muestreo:** Es la obtención de una muestra representativa que permita disponer de todos los elementos de valor que permitan diagnosticar e identificar al microorganismo causal de la enfermedad. Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, p. 14.
- **Muestra:** “Una o más unidades seleccionadas entre una población de unidades, o una porción de material seleccionada entre una cantidad mayor de material. Al efecto de estas recomendaciones, la intención de una muestra representativa es ser representativa del lote, la muestra a granel.” Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, pág. 14.
- **Tamaño de la muestra:** “Número de unidades, o cantidad de material, que constituyen la muestra”. Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, pág. 14.
- **Unidad:** “La parte discreta más pequeña de un lote que deberá extraerse para formar la totalidad o parte de una muestra primaria” Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, p. 12.

Las unidades se delimitarán como se indica a continuación:

- Frutas y hortalizas frescas. Cada fruta, hortaliza o racimo natural de estas (por ejemplo entero constituirá una unidad, salvo en el caso de que sea pequeño. Las unidades de productos pequeños envasados podrán delimitarse según se indica en el apartado d) Cuando se puede utilizar un instrumento de muestreo sin dañar el material, podrán crearse unidades por este medio. Las frutas u hortalizas frescas no deberán cortarse ni romperse para obtener unidades. Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, pág. 15.
- Material envasado. “Se tomarán como unidades los envases discretos más pequeños. Cuando los envases más pequeños sean muy grandes, serán objeto de un muestreo a granel, según se indica en el apartado e) Cuando los envases pequeños sean muy pequeños, un conjunto de envases podrá formar una unidad.” Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, pág. 15.
- **Muestra de laboratorio:** “Muestra enviada al laboratorio o recibida por éste. Cantidad representativa de material extraído de la muestra (sitio de muestreo).” Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, pág. 13.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 6 de 19

- **Muestra analítica:** El material destinado al análisis a partir de la muestra de laboratorio separando la porción del producto que ha de analizarse y luego mezclando, triturando, cortando finamente, para poder prescindir de porciones analíticas con el mínimo error de muestreo. “La preparación de la muestra analítica deberá reflejar el procedimiento utilizado para establecer la identificación del patógeno.” Norma CODEX CAC/GL 33, Anexo I, pág. 13.
- **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).
- **Lote:** “Conjunto de unidades de un solo producto básico, identificable por su composición homogénea, origen, etc., que forma parte de un envío” (FAO, 1990).
- **Parásito:** “Organismo que vive dentro o sobre un organismo mayor, alimentándose de éste” (NIMF N° 3, 2005).
- **Diagnóstico de plaga:** “Proceso de detección e identificación de una plaga” (NIMF N° 27, 2006).
- **Sitio de muestreo:** Lugar, predio, sitio de embarque, sitio de desembarque, puerto o aeropuerto, etc. en el cual se va a inspeccionar y posteriormente se van a tomar muestras, las mismas que serán trasladadas al laboratorio para su análisis.
- **Personal técnico de muestreo:** Se considera personal técnico de muestreo en el caso de Cliente Interno a los Inspectores Fitosanitarios y en el Caso de Cliente externo a las personas que muestrean por designación de cada cliente.

4.2. Abreviaturas

RT: Responsable Técnico

A: Analista

NA: No aplica

4.3. Materiales.

- Tijeras podadoras.
- Machete.
- Sierra manual.
- Barreno o pala excavadora.
- Material de empaque y rotulación: Papel absorbente, fundas plásticas y de papel, marcador indeleble, cajas térmicas, gel refrigerante recipientes de plástico o vidrio.
- Equipo de geo referenciación.
- Desinfectante (cloro, alcohol, etc.)

	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 7 de 19

4.4. Preparación de material.

El personal técnico de muestreo deberá asegurarse de disponer de todas las herramientas necesarias para ejecutar su trabajo. El material deberá encontrarse limpio antes de proceder al muestreo y desinfectarse entre cada espécimen muestreado.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Recolección de muestra de plantas o partes de plantas

El personal técnico de muestreo (técnicos de laboratorio, inspectores fitosanitarios, personal de control y vigilancia, o personal técnico autorizado) debe acudir al sitio de toma de muestra de acuerdo a la planificación o a la solicitud de requerimiento de la inspección debiendo observar las condiciones en las cuales se encuentra el área de cultivo, huerta, vivero, embarque, contenedor, bodega, punto de acopio, muelle, barco, puntos de control.

El personal técnico de muestreo, deberá observar la sintomatología (signos y síntomas) de la planta(as) o partes de la planta(as), con la finalidad de dar un pre diagnóstico que se registrará en la Orden de Trabajo, PGC/LA/03-FO07 vigente.

El personal técnico responsable de muestreo, debe tomar la muestra de acuerdo a la referencia que se cita en la Tabla 1.

Tabla 1: Cantidad de muestras de plantas o partes de plantas a recolectar. Laboratorio de Fitopatología

MUESTRA	PARTE AFECTADA	CANTIDAD	OBSERVACIONES
Planta de altura menor a 15 cm	Hoja Tallo Raíz	Mín. 5 Mín. 3 Mín. 1	Es importante que se tomen muestras con características iniciales e intermedias de la enfermedad. Tallo: incluir muestras de la porción terminal del tallo con yemas laterales, hojas y flores en condición identificable. Raíces: es necesario considerar que debe recolectarse también con aprox. 500 g de suelo o sustrato y deberá enviarse al laboratorio como una sola muestra.
Planta mayor a 15 cm de altura	Hoja Tallo Raíz	Mín. 5 Mín. 1 Mín. 200g	Es importante que se tomen muestras con características iniciales e intermedias de la enfermedad. Tallo: incluya muestras de la porción terminal del tallo con yemas laterales, hojas y flores en condición identificable Raíces: es necesario considerar que debe recolectarse también con aprox. 500 g de suelo o sustrato y deberá enviarse al laboratorio como una sola muestra.
Plantas herbáceas	Planta completa	Mín. 2	Estas plantas tendrán la tendencia a deshidratarse y secarse. Envíe la planta completa, y especímenes mostrando síntomas iniciales, con raíces y sustrato de crecimiento adyacente si está incluido en el

	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 8 de 19

			envío.
Plantas leñosas o semi-leñosas con síntomas de marchitez	Ramas con marchitez activa	Mín. 2	Se recolectan ramas con marchitez activa, pero NO totalmente muertas. Se envuelven en una funda de papel para regular la humedad, se recolectan de la misma forma raíces (por separado) y se colocan dentro de una en una bolsa plástica la misma que se cierra herméticamente con la finalidad de no dejar escapar la humedad del interior.
Árboles	Hojas Tallo Raíz	Mín. 5 Mín. 1 Mín.200g	Es importante que se tomen muestras con características iniciales e intermedias de la enfermedad.
Frutas	fruta	Mín. 100 g	Considerar que estas deben ser colocadas en fundas de papel y luego dentro de una bolsa plástica la misma que se cierra herméticamente con la finalidad de no dejar escapar la humedad del interior.
Tubérculos	tubérculo	Mín. 500 g	Es importante que se tomen muestras con características iniciales y medias de la enfermedad

El colector de la muestra (analista de laboratorio, inspectores fitosanitarios, personal de control y vigilancia, personal técnico de muestreo) es responsable de la toma, envío y preservación de la muestra recolectada.

El personal técnico de muestreo deberá registrar en el formato PGC/LA/03-FO07 Orden de Trabajo vigente, la información de muestreo como: datos del cliente, datos de la muestra, tipo de muestra a enviar, actividad de origen de muestreo, tipo de análisis requerido, entre otra información adicional que describe el formato mencionado.

- **Conservación de la muestra.**

Las muestras una vez recolectadas, deben ser envueltas en papel absorbente seco, funda de papel o papel periódico libre de tinta, posteriormente deben colocarse dentro de una funda plástica la misma que se cierra herméticamente con la finalidad de mantener la humedad adecuada en la muestra, con esto se logra de que material vegetal altamente húmedo (como por ejemplo tallos de cucurbitáceas o frutos) disminuyan su humedad a niveles adecuados. Por otro lado hay que considerar de qué ramas y hojas de plantas con tendencia a desecarse deberán envolverse en papel absorbente ligeramente humedecido.

La muestra debe ser protegida de la humedad externa, por este motivo es importante colocar la funda de papel con la muestra en una funda plástica, y preservarla en cadena de frío a 4°C. **Por ningún motivo de deberá agregar agua a la muestra**, esto acelera el deterioro de la misma.

Para cliente o usuario interno, etiquetar la muestra con la ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS – CLIENTES INTERNOS descrita en el PGT/LA/06: Recepción, Ingreso y Entrega de Muestras. ANEXO I y para clientes o usuarios externos la etiqueta de la muestra deberá contener al menos la siguiente información:

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	
		Rev. 4
		Hoja 9 de 19

- Código de la muestra
- Localización: Provincia, Cantón, Parroquia
- Coordenadas
- Cultivo
- Tipo de análisis solicitado
- Nombre del cliente y/o Recolector
- Fecha de toma de muestra

- **Envío de la muestra al laboratorio.**

La muestra recolectada, debidamente envuelta y conservada en cadena de frío deberá ser receptada por el Laboratorio de Fitopatología hasta 48 horas luego de la colección, en caso de llegar o no la muestra en el tiempo indicado, será el laboratorio de fitopatología quien dé el aval de muestra viable para ser legalizada e ingresada al laboratorio, caso contrario la muestra será rechazada.

Para usuarios o clientes internos, adjuntar a la muestra la respectiva Orden de Trabajo, PGC/LA/03-FO07 vigente y la solicitud de análisis y en el caso de usuarios o clientes externo la muestra deberá ser trasladada a la oficina de recaudación para el respectivo pago del análisis y posterior llenado de la información por parte del cliente en la Orden de Trabajo.

5.2. Recolección de muestras de suelo y abonos sólidos

El personal técnico de muestreo debe acudir al sitio de muestreo de acuerdo a la planificación o a la solicitud de requerimiento de la inspección debiendo observar las condiciones en las cuales se encuentra el área de cultivo, huerta, vivero, embarque, contenedor, bodega, punto de acopio, muelle, barco, puntos de control.

El personal técnico de muestreo, debe tomar la muestra de acuerdo a la referencia que se cita en la Tabla 2.

Tabla 2. Cantidad de muestras de suelo y abono sólidos a recolectar -Laboratorio de Fitopatología

MUESTRA	CANTIDAD
Suelo	Min. 1 kg
Abonos sólidos	Min. 1 kg

El colector de la muestra (analista de laboratorio, inspectores fitosanitarios, personal de control y vigilancia, personal técnico de muestreo) es responsable de la toma, envío y preservación de la muestra recolectada.

	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 10 de 19

El personal técnico de muestreo deberá registrar en el formato de Orden de Trabajo, PGC/LA/03-FO07” vigente, la información de muestreo como: datos del cliente, datos de la muestra, tipo de muestra a enviar, actividad de origen de muestreo, tipo de análisis requerido, entre otra información adicional que describe el formato mencionado.

- Conservación de la muestra

La muestra debe ser colocada en una funda plástica limpia y que no permita el derramamiento de muestra, luego debe ser colocado en una segunda funda plástica y entre la primera funda y la segunda colocar la etiqueta correspondiente, luego preservar la muestra en cadena de frío a 4°C.

Para cliente o usuario interno etiquetar la muestra con la ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS – CLIENTES INTERNOS descrita en el PGT/LA/06: Recepción, Ingreso y Entrega de Muestras. ANEXO I, para clientes o usuarios externos la etiqueta de la muestra deberá contener al menos la siguiente información:

- Código de la muestra
- Localización: Provincia, Cantón, Parroquia
- Coordenadas
- Cultivo
- Tipo de análisis solicitado
- Nombre del cliente y/o Recolector
- Fecha de toma de muestra

- Envío de la muestra al laboratorio

La muestra recolectada, debidamente envuelta y conservada en cadena de frío deberá ser receptada por el Laboratorio de Fitopatología hasta 48 horas luego de la colección, en caso de llegar o no la muestra en el tiempo indicado, será el laboratorio de fitopatología quien dé el aval de muestra viable para ser legalizada e ingresada al laboratorio, caso contrario la muestra será rechazada.

Para usuarios o clientes internos, adjuntar a la muestra la respectiva Orden de Trabajo, PGC/LA/03-FO07 vigente y la solicitud de análisis y en el caso de usuarios o clientes externo la muestra deberá ser trasladada a la oficina de recaudación para el respectivo pago del análisis y posterior llenado de la información por parte del cliente en la Orden de Trabajo.

5.3. Recolección de muestras líquidas (agua de riego y abono líquido)

El personal técnico de muestreo debe acudir al sitio de muestreo de acuerdo a la planificación o a la solicitud de requerimiento de la inspección debiendo observar las

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	
		Rev. 4
		Hoja 11 de 19

condiciones en las cuales se encuentra el área de cultivo, huerta, vivero, embarque, contenedor, bodega, punto de acopio, muelle, barco, puntos de control.

El personal técnico de muestreo, debe tomar la muestra de acuerdo a la siguiente tabla de referencia.

Tabla 3. Cantidad de muestra de agua de riego y abono líquido, a recolectar. Laboratorio de Fitopatología

MUESTRA	CANTIDAD
Agua	Mín. 500 ml
Abono líquido	Mín. 500ml

- Conservación de muestra:

La muestra debe ser recolectada en un recipiente plástico (botella) que no haya sido usado en bebidas (coca cola, refresco, jugos) o utilizar frasco de vidrio esterilizado.

El recipiente debe ser llenado de manera completa sin dejar espacios de aire y tapar herméticamente e inmediatamente después de tomada la muestra. Etiquetar y preservar la muestra en cadena de frío a 4°C.

Para cliente o usuario interno etiquetar la muestra con la ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS – CLIENTES INTERNOS descrita en el PGT/LA/06: Recepción, Ingreso y Entrega de Muestras. ANEXO I, para clientes o usuarios externos la etiqueta de la muestra deberá contener al menos la siguiente información:

- Código de la muestra
- Localización: Provincia, Cantón, Parroquia
- Coordenadas
- Cultivo
- Tipo de análisis solicitado
- Nombre del cliente y/o Recolector
- Fecha de toma de muestra

- Envío de la muestra al laboratorio

La muestra recolectada, debidamente envuelta y conservada en cadena de frío deberá ser receptada por el Laboratorio de Fitopatología hasta 48 horas luego de la colección, en caso de llegar o no la muestra en el tiempo indicado, será el laboratorio de fitopatología quien dé el aval de muestra viable para ser legalizada e ingresada al laboratorio, caso contrario la muestra será rechazada.

Para usuarios o clientes internos, adjuntar a la muestra la respectiva Orden de Trabajo, PGC/LA/03-FO07 vigente y la solicitud de análisis y en el caso de usuarios o clientes

	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 12 de 19

externo la muestra deberá ser trasladada a la oficina de recaudación para el respectivo pago del análisis y posterior llenado de la información por parte del cliente en la Orden de Trabajo.

5.4. Recolección de muestras de suelo y agua para análisis de *Ralstonia spp.*

Técnica de muestreo que puede ser aplicado para la recolección de muestras de suelo y agua para el aislamiento y posterior identificación de *Ralstonia solanacearum* en el Laboratorio y *Ralstonia solanacearum* Raza 2 (Complejo de especies de *Ralstonia solanacearum* *Filotipo II*) con laboratorios de apoyo.

- Muestra de suelo

✓ Muestreo en terreno abierto.

- El personal técnico de muestreo debe acudir al sitio de muestreo de acuerdo a la planificación o a la solicitud de requerimiento de la inspección debiendo observar las condiciones en las cuales se encuentra el área a muestrear identificando los diferentes tipos de suelos en el sector, así como los límites del terreno que usualmente se define por la pendiente del terreno, material parental, uso, manejo, etc.
- Cada tipo de suelo se considerará como un terreno homogéneo e independiente (unidad de muestreo), que debe ser identificado con base en las características mencionadas.
- La muestra obtenida será representativa de cada unidad de muestreo y es esencial para obtener datos válidos, se recomienda muestrear en zigzag cada 2 a 5 m (dependiendo de la extensión de unidad de muestreo) o al azar, el número de muestras y/o sub-muestras lo determinará el técnico de campo a cargo del muestreo.
- En cada punto de muestreo, retire la capa superficial del suelo (aproximadamente 5 cm) y deseche cualquier material vegetal o residuos que se encuentre.
- Utilizar un pala o barreno para recolección de sub-muestras de suelo a una profundidad de 10 a 25 cm, debido a que en esa zona se localiza la mayor abundancia y actividad microbiana, por la gran heterogeneidad que presenta el suelo, es necesario extraer sub-muestras que juntas conformarán la muestra a analizar.
- Tomar las sub-muestras necesarias por unidad de muestreo, homogenizar en un recipiente limpio (recipiente plástico o bolsa plástica desechable) para así obtener una muestra representativa de la unidad.
- La cantidad de muestra de suelo a enviar al laboratorio, es de 500 a 1000 g.

✓ Muestreo en plantaciones.

- El personal técnico de muestreo debe acudir al sitio de muestreo de acuerdo a la planificación o a la solicitud de requerimiento de la inspección debiendo observar las condiciones en las cuales se encuentra el área a muestrear, identificar el foco de la enfermedad (planta enferma).
- En cada punto de muestreo, retire la capa superficial del suelo (aproximadamente 5 cm) y deseche cualquier material vegetal o residuos que encuentre.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 13 de 19

- Tomar aproximadamente 500 g de suelo constituidas por seis sub-muestras distribuidas alrededor de la base de la planta en un radio de 30 cm alrededor de la planta y a una profundidad de 10 a 25 cm.
- Homogenizar, en un recipiente limpio desechable, las sub-muestras colectadas para así obtener una muestra representativa.
- La cantidad de muestra de suelo a enviar al laboratorio, es de 500 a 1000 g.

✓ **Embalaje, preservación, etiquetado y envío de muestras de suelo.**

- La muestra debe ser colocada en una funda plástica limpia y que no permita el derramamiento de muestra, luego debe ser colocado en una segunda funda plástica y entre la primera funda y la segunda colocar la etiqueta correspondiente, luego preservar la muestra en cadena de frío (4°C).
- Etiquetar la muestra con la ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS – CLIENTES INTERNOS descrita en el Procedimiento General técnico: Recepción, Ingreso y Entrega de Muestras. (PGT/LA/06 ANEXO I), la misma que indica Código de la muestra, Localización (Provincia, Cantón, Parroquia), Coordenadas, Cultivo, Tipo de análisis solicitado, Nombre del cliente y/o Recolector, Fecha de toma de muestra.
- El personal técnico de muestreo deberá registrar en el formato de Orden de Trabajo, PGC/LA/03-FO07” vigente, la información de muestreo.
- La muestra recolectada, debidamente envuelta y conservada en cadena de frío deberá ser receptada por el Laboratorio de Fitopatología hasta 48 horas luego de la colección, en caso de llegar o no la muestra en el tiempo indicado, será el laboratorio de fitopatología quien dé el aval de muestra viable para ser legalizada e ingresada al laboratorio, caso contrario la muestra será rechazada.

- **Muestra de agua.**

✓ **Muestreo en canales de agua de riego, drenaje a cielo abierto, acequias.**

- El personal técnico de muestreo debe acudir al sitio de muestreo de acuerdo a la planificación o a la solicitud de requerimiento de la inspección debiendo observar las condiciones en las cuales se encuentra el sitio a muestrear.
 - Seleccionar un sitio en lo posible libre de vegetación, con cause de agua y profundidad regular.
 - Determinar la profundidad de la corriente en el punto medio del cauce o en su lugar una distancia interior de un metro desde la orilla.
 - Recoger una muestra a una profundidad no superior al 10% de la profundidad total o hasta 10 cm por debajo de la superficie del agua, esto para recoger microorganismos aerobios como el caso de cepas de *Ralstonia* spp.
 - Introducir el recipiente tapado, destapar debajo del agua con el fin de recoger la muestra.
- Nota: La muestra puede ser única o compuesta: para la segunda, se deberá seleccionar en el sitio de muestreo hasta tres puntos de recolección repitiendo el paso anterior hasta obtener el recipiente lleno.

	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 14 de 19

- La cantidad de muestras estará determinada por el técnico quien realiza el muestreo.
- El volumen de agua (muestra) a enviar será de 500 a 1000 ml

✓ Muestreo en estanques o reservorios.

- El personal técnico de muestreo debe acudir al sitio de muestreo de acuerdo a la planificación o a la solicitud de requerimiento de la inspección debiendo observar las condiciones en las cuales se encuentra el sitio a muestrear.
- Seleccionar un sitio en lo posible libre de vegetación o residuos de vegetación y demás contaminantes que puedan intervenir en la actividad de recolección de la muestra.
- Fijar un sitio de muestreo una distancia interior de un metro desde la orilla del estanque o reservorio.
- Recoger una muestra a una profundidad de 0 a 10 cm por debajo de la superficie del agua, esto para recoger microorganismos aerobios como el caso de cepas de *Ralstonia* spp.
- Introducir el recipiente tapado, destapar debajo del agua con el fin de recoger la muestra.
Nota: La muestra puede ser única o compuesta: para la segunda, de deberá seleccionar hasta tres puntos de recolección repitiendo el paso anterior hasta obtener el recipiente lleno.
- La cantidad de muestras estará determinada por el técnico quien realiza el muestreo.
- El volumen de agua (muestra) a enviar será de 500 a 1000 ml

✓ Embalaje, preservación, etiquetado y envío de muestras de agua.

- La muestra debe ser recolectada en un recipiente (botella) plástica que no haya sido usado en bebidas (coca cola, refresco, jugos) o utilizar frasco de vidrio esterilizado.
- El recipiente debe ser llenado de manera completa sin dejar espacios de aire y tapar herméticamente e inmediatamente después de tomada la muestra. Etiquetar y preservar la muestra en cadena de frío (4°C).
- Etiquetar la muestra con la ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS – CLIENTES INTERNOS descrita en el Procedimiento General técnico: Recepción, Ingreso y Entrega de Muestras. (PGT/LA/06 ANEXO I), la misma que indica Código de la muestra, Localización (Provincia, Cantón, Parroquia), Coordenadas, Cultivo, Tipo de análisis solicitado, Nombre del cliente y/o Recolector, Fecha de toma de muestra.
- El personal técnico de muestreo deberá registrar en el formato de Orden de Trabajo, PGC/LA/03-FO07” vigente, la información de muestreo.

La muestra recolectada y debidamente envasada será conservada en cadena de frío y deberá ser receptada por el Laboratorio de Fitopatología hasta 48 horas luego de la recolección, en caso de llegar o no la muestra en el tiempo indicado, será el laboratorio de fitopatología quien dé el aval de muestra viable para ser legalizada e ingresada al laboratorio, caso contrario la muestra será rechazada.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/FP/01
	TOMA DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA	Rev. 4
		Hoja 15 de 19

6. ANEXOS

- Fig. 1. Referencial para sintomatología fúngica: manchas foliares característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.
- Fig. 2. Referencial para sintomatología fúngica: necrosamientos internos característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.
- Fig. 3. Referencial para sintomatología bacteriana: Pudriciones característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.
- Fig. 4. Referencial para sintomatología virológica: rayados, mosaicos, arrugamientos, enanismos característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.

Anexo I.



Síntomas enfermedad fúngica.

- Inicialmente lesiones pequeñas levemente hundidas. Incremento de tamaño hasta 12 mm con anillos concéntricos.
- Centro de la lesión con color café y/o con aspecto moteado.
- Hojas con lesiones pequeñas, circulares de color castaño con halos amarillos.

Fig. 1. Referencial para sintomatología fúngica: manchas foliares característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.

Anexo 2



Síntomas enfermedad fúngica

- Podredumbre seca de parte superior de la raíz y cuello volviéndose rojizo y presentando necrosis en raíces.
- Disminución de vigor en parte aérea de la planta y decremento de la producción.
- Raíces con lesiones color castaño, reducción de tamaño y pudrición en raíces.

Fig. 2. Referencial para sintomatología fúngica: necrosamientos internos característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.

Anexo 3

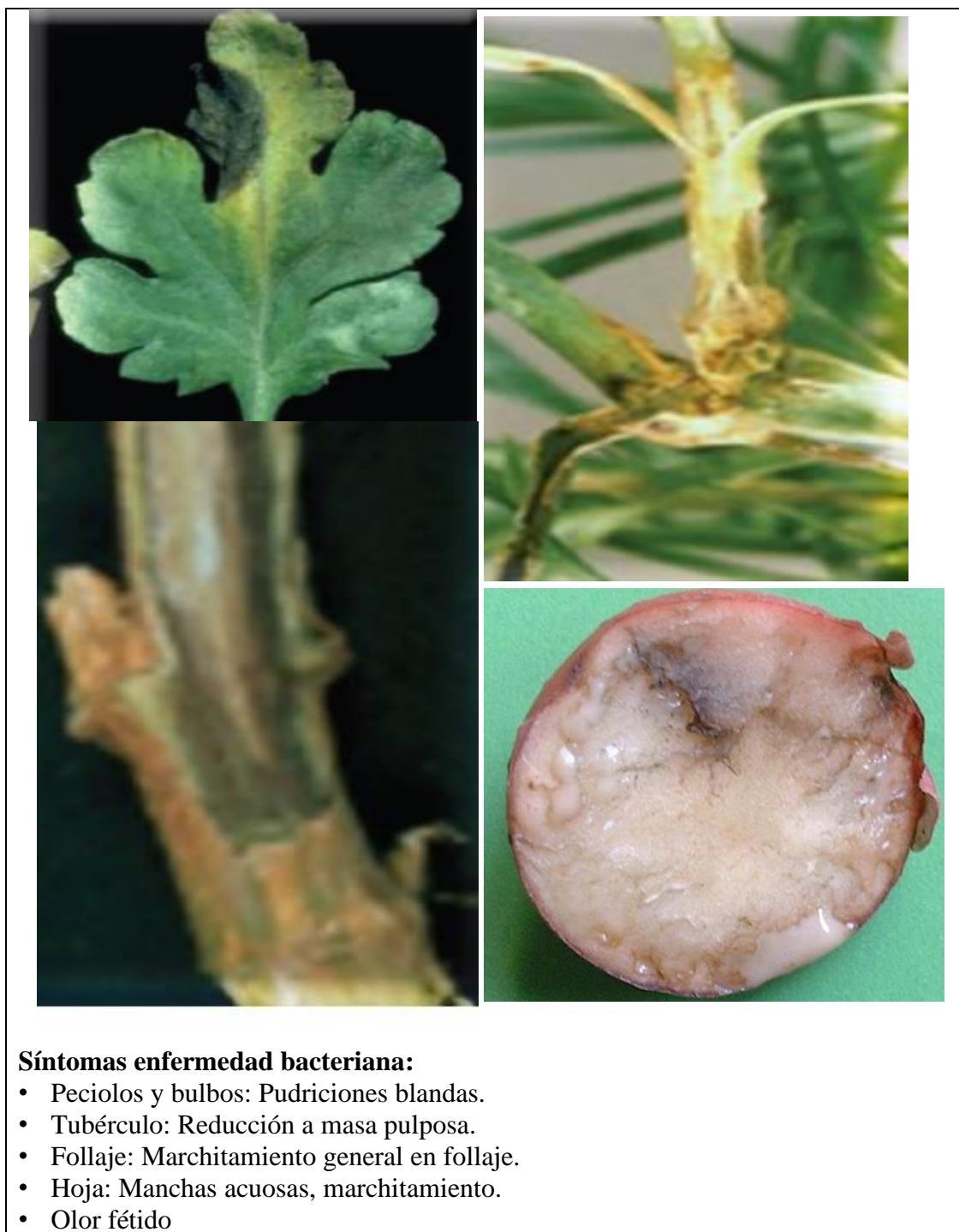


Fig. 3. Referencial para sintomatología bacteriana: Pudriciones característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.

Anexo 4



Fig. 4. Referencial para sintomatología virológica: rayados, mosaicos, arrugamientos, enanismos característica de algunas enfermedades en algunos cultivos.