



SEMARNAT
SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE
Y RECURSOS NATURALES



CONAFOR
COMISIÓN NACIONAL FORESTAL

GERENCIA DE SANIDAD

PROTOCOLO ENVÍO DE MUESTRAS DE PATÓGENOS

Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario Forestal



CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	2
RECOMENDACIONES.....	3
MATERIAL.....	3
TOMA DE MUESTRAS EN CAMPO.....	4
ENVÍO DE MUESTRAS CON SOSPECHA DE ROYAS	6
ENVÍO DE MUESTRAS CON SOSPECHA DE BACTERIAS, VIRUS, VIROIDES Y FITOPLASMAS.....	7
ENVÍO DE MUESTRAS CON SOSPECHA DE HONGOS	8
ENVÍO DE MUESTRAS CON DAÑO EN CORTEZA.....	9
ENFERMEDADES DURANTE LA PRODUCCIÓN DE PLANTA.....	10
ENVÍO DE MUESTRAS DE SEMILLAS	11
ENVÍO DE MUESTRAS DE SUELO	11
ENVÍO DE MUESTRAS DE PLANTAS PARÁSITAS Y EPIFITAS.....	12
FORMATO DEL REGISTRO DE MUESTRAS.....	13

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades que afectan las especies leñosas que crecen en bosques naturales, plantaciones, áreas urbanas y viveros forestales, ocasionan pérdidas en el crecimiento, alteran el funcionamiento normal, dañan la estructura o forma, entre otros. El diagnóstico oportuno de cualquier enfermedad permitirá realizar la elección apropiada de las medidas fitosanitarias para contrarrestar determinada enfermedad.

Este documento está dirigido al personal que realiza actividades de Sanidad de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), y para toda persona que se interese en el conocimiento de envío de muestras de material vegetal al laboratorio, por presencia de daños ocasionados por agentes patógenos (bacterias, hongos, fitoplasmas, virus, viroides, etc.).

Es importante llevar a cabo cada una de las actividades como se solicita, para la posterior revisión de algún grupo de patógenos, ya que poseen características particulares, las muestras se deben enviar de acuerdo al posible patógeno del que se tenga sospecha, por lo que pueden ser, frescas, herborizadas, o sin exceso de humedad.

En este documento se enlista una serie de materiales que ayudarán a preparar las muestras para cualquier tipo de agente patógeno. Además se anexa el Formato de Registro de muestras para el Laboratorio de Sanidad Forestal y las etiquetas, para los diferentes tipos de muestra: Plantas (Ramas, corteza, follaje, raíz) con Patógenos, semillas y suelo.

RECOMENDACIONES

Antes de enviar cualquier tipo de muestra al laboratorio se debe de planear la logística teniendo en consideración los siguientes puntos:

- a) Tener todos los materiales necesarios para el envío de la muestra (asegurarse de contar con todo lo necesario).
- b) Contar con los datos del Laboratorio a donde se van a enviar las muestras (dirección, teléfono y correo electrónico).
- c) Notificar al laboratorio sobre el envío de la muestra.
- d) Verificar horarios de la compañía de paquetería.

MATERIAL

Para proseguir con la preparación de las muestras se deben tener los siguientes materiales:

Toallas de papel. La muestra recolectada se envuelve en una toalla de papel que sirve para absorber su humedad. En caso de no contar con estas se puede utilizar: papel higiénico, servilletas, pañuelos faciales, no es recomendable envolver en papel periódico debido a que la liberación de agua de la planta hace reacción con la tinta del mismo generando la presencia de patógenos.

Lápiz y marcador de tinta indeleble: Estas dos herramientas se utilizan en caso de haber algún tipo de derrame de líquido que pueda borrar las letras con las que se etiquetan las bolsas u etiquetas de las muestras.

Bolsas o sobres de papel. Las muestras de tejido infectado envueltas en las toallas de papel, se colocan en bolsas o sobres de papel. No se deben usar bolsas plásticas, debido principalmente a que contribuyen, a la acumulación de humedad en su interior; esta humedad favorece el crecimiento de diversos microorganismos saprofitos, los cuales dificultarán el aislamiento del patógeno perjudicial.

Etiquetas para las muestras. Es muy importante identificar claramente la muestra con la siguiente información: Lugar donde se toma la muestra (localidad, municipio, estado), fecha de recolección de la muestra, nombre del recolector y coordenadas geográficas del lugar en que se hizo la recolección. El rótulo debe quedar bien adherido en cada muestra.

Contenedor de Poliestireno (Unicel). Este servirá para el traslado de muestras frescas.

Bolsas de hidrogel. Con ellas se dará un efecto refrigerante en el interior del contenedor, asegurando que las muestras permanezcan frescas hasta su revisión en el laboratorio.

TOMA DE MUESTRAS EN CAMPO

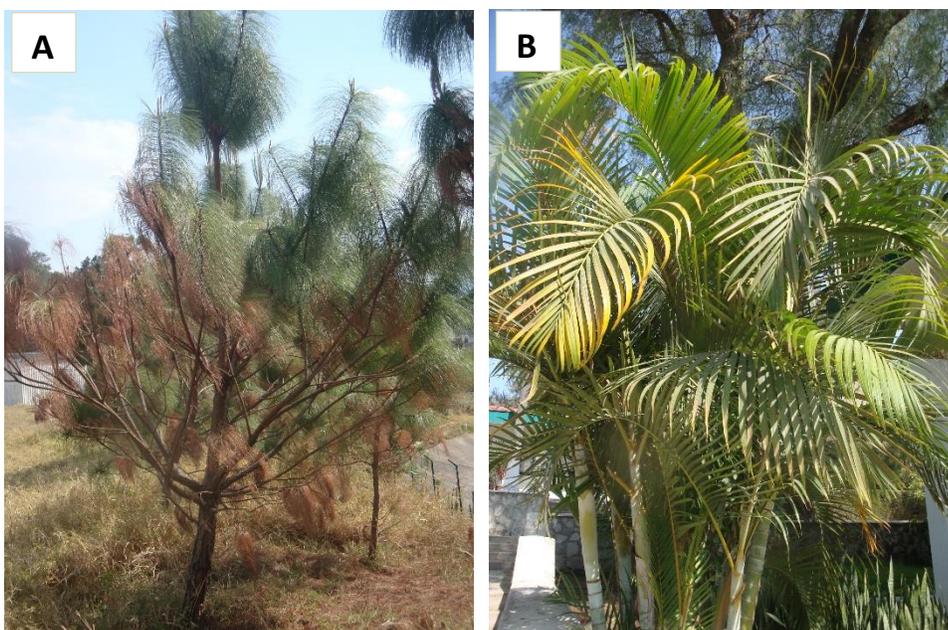
Para la toma de muestras se deben considerar muestras con diferentes grados de enfermedad:

- a) Tomar plantas, ramas, follaje y raíces asintomáticas
- b) Tomar plantas, ramas, follaje y raíces con ataque incipiente
- c) Tomar el mismo tipo de muestras con ataque intermedio y severo.

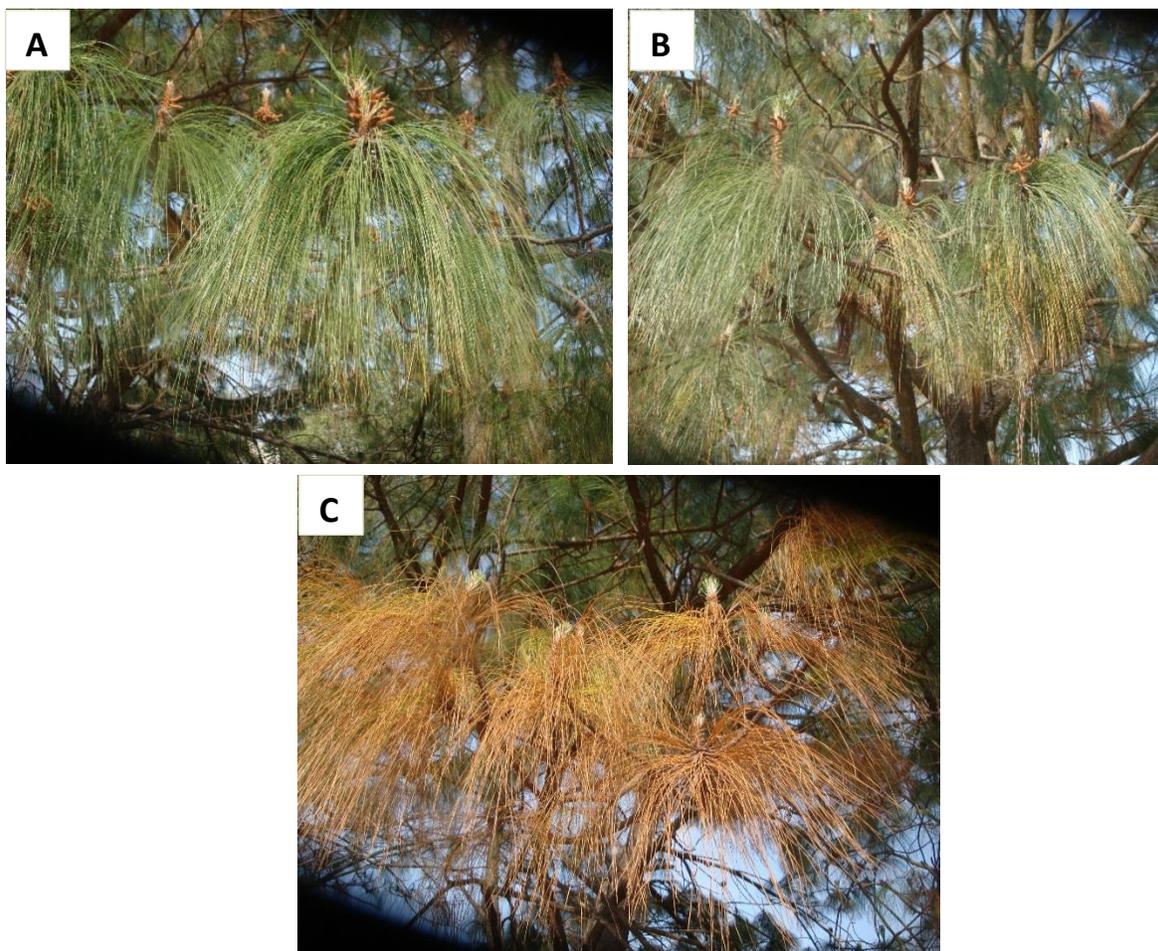
Se deben mantener separadas las muestras por especie y por grado de daño, por lo que se evitará mezclar hojas de especies diferentes y la combinación de hojas o acículas con diferente grado de daño para su envío al laboratorio.

Cuando se tomen muestras en campo se podrán colocar provisionalmente en bolsas de papel o en su defecto de plástico siempre y cuando el trayecto a su preparación de envío no sea de una gran distancia, anexando los datos de colecta y anotando en la bitácora de campo. Una vez que se llega al lugar en donde se van a preparar las muestras, se realizará lo siguiente:

- a) Si se tomaron muestras de ramas con acículas u hojas, se debe cortar la base en donde están las acículas agrupadas y envolverlas en toallas de papel absorbente. En el caso de latifoliadas, cortar las hojas con todo y pecíolo y envolverlas.
- b) Si la rama en donde se encontraban las hojas también cuenta con presencia de patógenos y su longitud es de 50-60 cm y con grosor de menos de 1.0 Cm, se deberá de cortar en varetas de 15-20 cm, que puedan cubrirse fácilmente con papel absorbente y colocarse después a una bolsa de papel o plástico según el análisis a realizar.



Lamina 1.- Especies con daño aparente en su follaje. A) Pino con acículas secas color rojizo. **B)** Palma con follaje amarillento.



Lamina 2. Diferentes grados de daño. A) Acículas con daño incipiente. **B)** Acículas con daño intermedio y **C)** Acículas con daño avanzado.

ENVÍO DE MUESTRAS CON SOSPECHA DE ROYAS

Para el análisis de estas muestras se requiere que el follaje contenga pústulas evidentes, el material debe estar seco y prensado.

Para este tipo de daño que suele presentarse, por ejemplo en especies de sauce y palmeras, se recomienda la herborización de los ejemplares mediante una prensa botánica o con la ayuda de cartón.

Se colocan las hojas cubiertas por periódico, el cual se cambiará cada tercer día hasta tener secas las muestras. Se anota la fecha en que se inició el secado para llevar su control. Una vez secas las hojas, estas se colocan dentro de un sobre de papel y por la parte externa se pega la etiqueta de la muestra, colocando los datos de colecta.

El número de muestras dependerá de los sitios evaluados, por ejemplo si en un sitio tienes 3 árboles con afectación, se pueden tomar 2 o más muestras de 12 a 20 hojas por árbol. Anotando todos los datos de colecta. Se enviara un sobre por muestra, estos sobres pueden enviarse dentro de un sobre más grande con los datos del remitente.



Lamina 3. Preparación de muestras con sospecha de Royas. **A)** Hoja de *Salix* con presencia de roya. **B)** Hojas de Teca con presencia de roya. **C)** Hoja de palma con daño, se debe cortar por la mitad. **D)** Cubrir con periódico para secar las hojas. **E)** Empleo de prensa botánica o cartones para realizar el secado de las muestras. **F)** Una vez secas las hojas se colocan en un sobre o bolsa de papel.

Nota: No enviar muestras sin herborizar, ni en bolsas de plástico, ya que de esta manera no se podrá realizar la revisión del material.

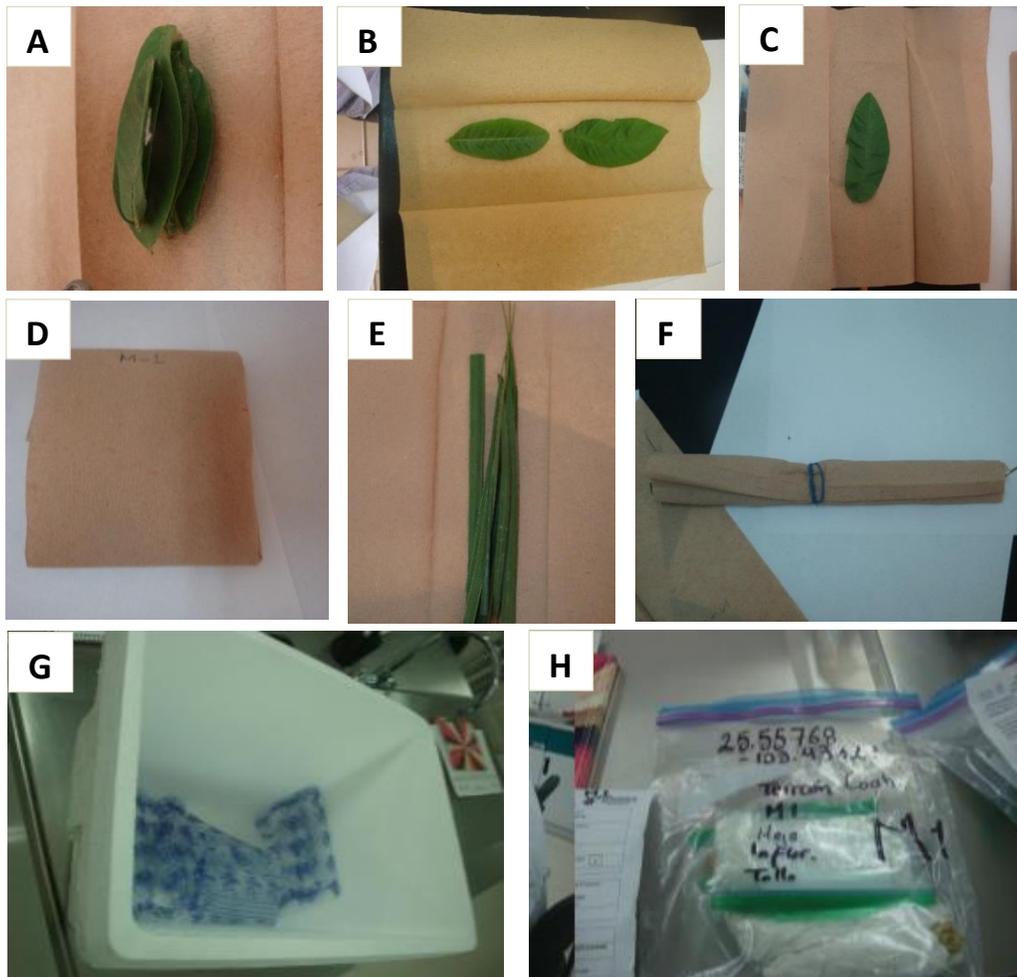
ENVÍO DE MUESTRAS CON SOSPECHA DE BACTERIAS, VIRUS, VIROIDES Y FITOPLASMAS.

Para este tipo de daño es necesario enviar material fresco.

El arreglo para el envío de estas muestras es diferente al anterior. Para ello es necesario un contenedor de poliestireno (hielera de unicel) y bolsas de hidrogel (o en su defecto contar con botellas de agua colocadas en el congelador). Como primer paso se colocan las muestras de follaje en toallas de papel absorbentes,

posteriormente se introducen en bolsas de cierre hermético en donde se coloca el número de muestra, fecha de recolecta, coordenadas del sitio donde se tomó la muestra.

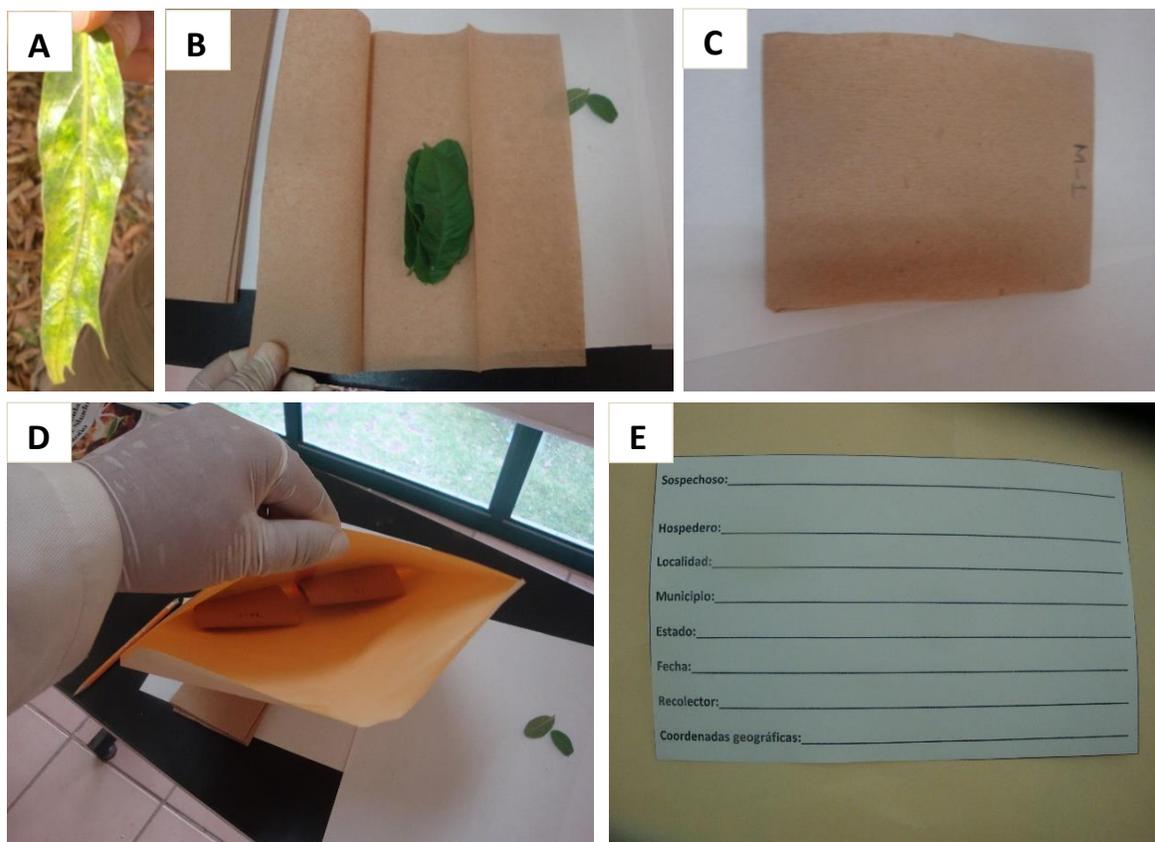
Una vez dentro de la bolsa se deben colocar dentro del contenedor con las bolsas de hidrogel (o botellas de agua congeladas) para mantenerlas lo más fresco posible hasta la llegada al laboratorio donde se procesará la muestra.



Lamina 4.- Preparación de material fresco.- A), B) y C) Arreglo de las hojas en el papel absorbente. D) Envoltura de las hojas. E) Arreglo de hojas de palma. F) Envoltura y sujetado del papel absorbente. G) Etiquetado de la bolsa de cierre hermético. H) Contenedor con bolsas de hidrogel en su interior.

ENVÍO DE MUESTRAS CON SOSPECHA DE HONGOS

A diferencia de las muestras de bacterias, virus y fitoplasmas, los hongos necesitan de un arreglo diferente, que permita a la muestra no tener exceso de humedad durante su traslado. Para ello el follaje deberá envolverse en toallas de papel absorbente, si es más de una muestra marcar en la servilleta el número correspondiente y colocarlas en una bolsa o sobre de papel, colocar la etiqueta al exterior del sobre o bolsa. Si se trata de muestras de especies diferentes enviar las muestras en sobres separados.

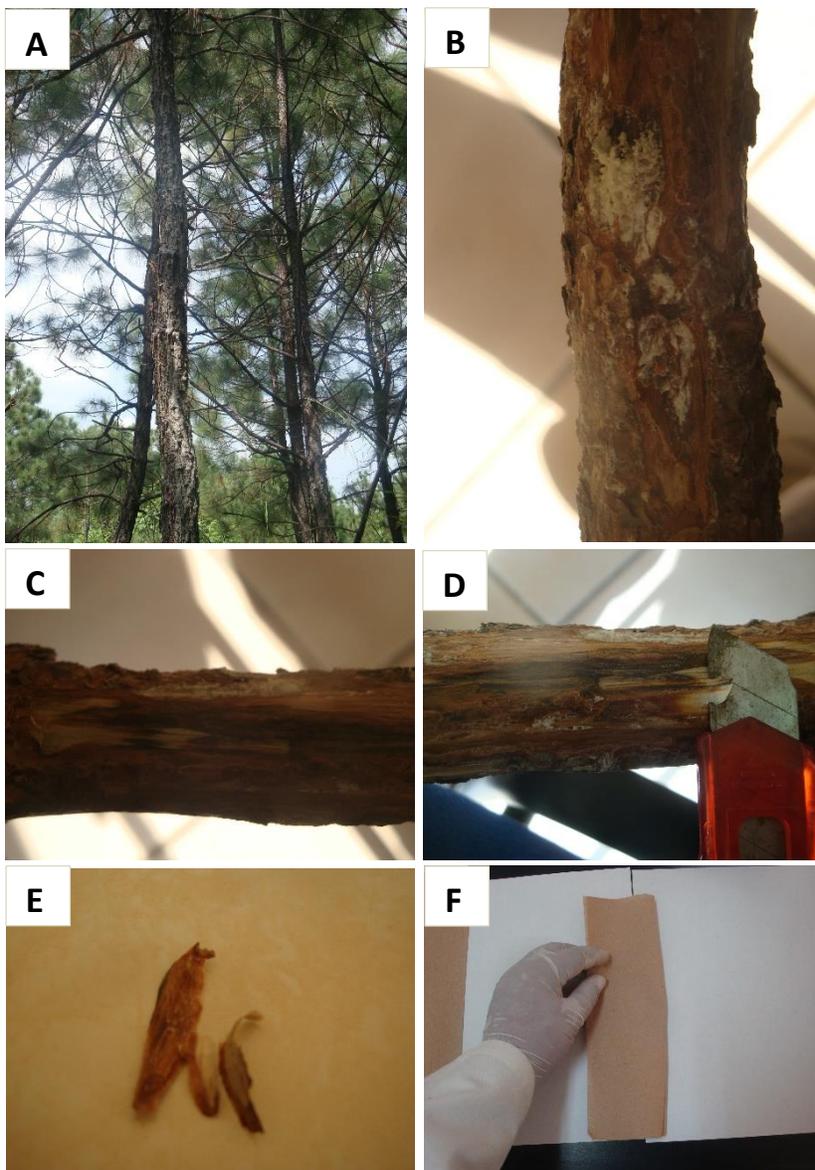


Lamina 5.-Preparación de muestras con hongos. **A)** Cortar las hojas con diferente grado de daño. **B)** y **C)** Arreglo de las hojas en papel absorbente. **D)** Colocación de las muestras en sobre de papel. **E)** Etiquetado externo de las muestras.

ENVÍO DE MUESTRAS CON DAÑO EN CORTEZA

En el caso de la corteza de ramas y fuste del árbol es necesario contar con un hacha o una navaja que nos permita realizar cortes delgados en donde exista escurrimiento de resina y manchado de madera por la presencia de hongos patógenos. Cortar 10-20 secciones de 10 cm de longitud con la navaja; envolver

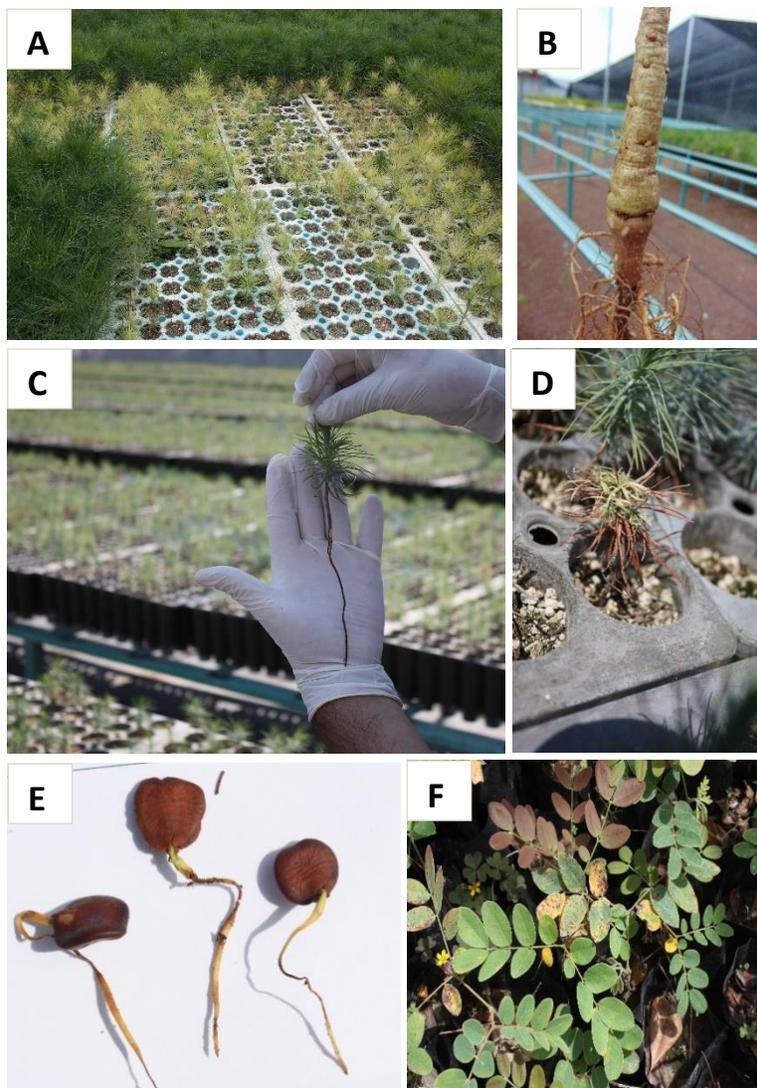
en papel absorbente; colocar en bolsa o sobre de papel e introducirlos al contenedor con bolsas de hidrogel.



Lamina 6.- Preparación de muestras de hongos en corteza y madera. A) Árboles con escurrimiento de resina. **B)** Tronco de un árbol con afectación de hongos. **C)** Madera manchada por hongos. **D)** Corte de secciones de manera longitudinal en donde se encuentra el daño sobre el tronco. **E)** Secciones obtenidas del tronco. **F)** Envoltura de las secciones en papel absorbente.

ENFERMEDADES DURANTE LA PRODUCCIÓN DE PLANTA.

En este caso cuando no se observa ningún tipo de síntoma o señales que nos indique que hay algún problema en la producción de planta, se pueden enviar de 12 a 20 plántulas de acuerdo al análisis del agente que se sospecha esté presente en la plantación, pudiendo ser hongos, bacterias, virus, después se va a envolver en papel absorbente cada árbol que se seleccionó para ser enviado y se colocaran en una bolsa de papel para evitar retención de agua.



Lamina 7.- Problemas en producción de planta. A) Crecimiento irregular en plántulas de Pino. **B)** Crecimiento irregular en la corona de la raíz. **C)** Plántula de pino sin desarrollo de raíces secundarias. **D)** Plántula de pino con crecimiento irregular. **E)** Plántulas de *Prosopis* en etapa de cerillo sin desarrollo de raíces secundarias. **F)** Plántulas de palo colorado con presencia de hongos.

ENVÍO DE MUESTRAS DE SEMILLAS

En el caso de análisis de semillas será necesario que se envíe 1 kg. Para los análisis correspondientes, puede utilizarse doble bolsa, para su envío. Colocar en una caja el número de muestras a enviar.



Lamina 8.- Preparación para el envío de semillas. A) Embolsado y etiquetado de muestras de semilla de *Dasyilirion cedrosanum*. **B)** Caja con bolsas de semillas enviadas al laboratorio.

ENVÍO DE MUESTRAS DE SUELO

Se requiere de 2 Kg de suelo para los análisis correspondientes. La muestra se toma a 20 cm de profundidad.

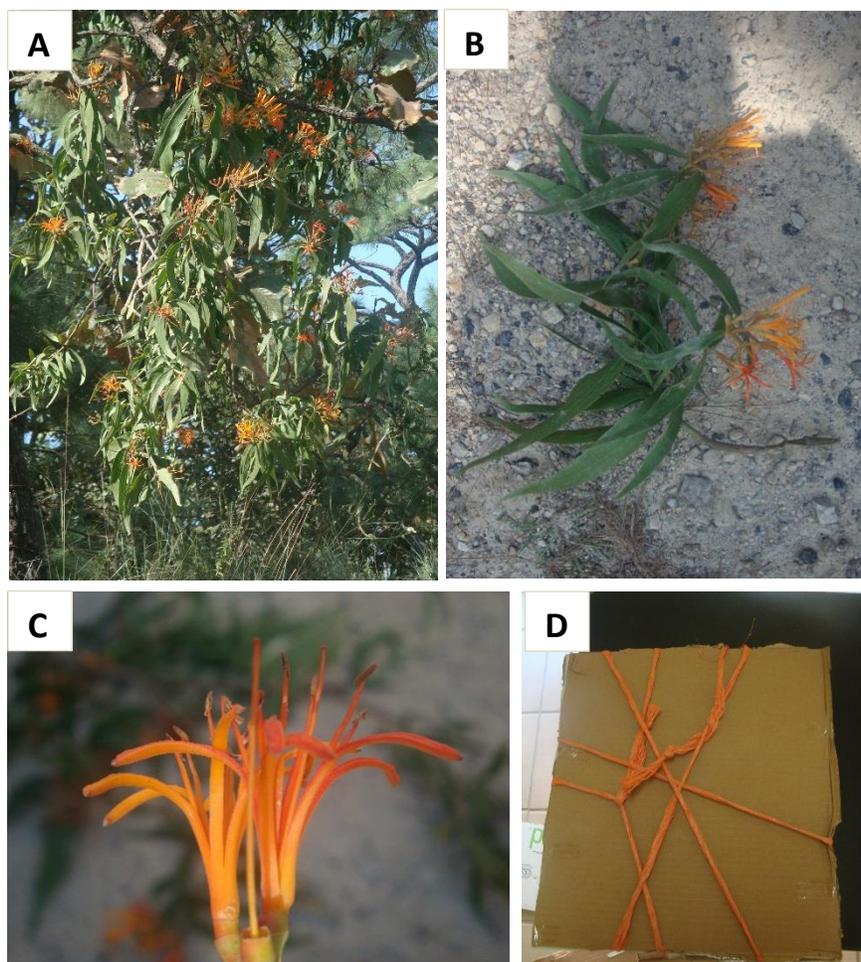


Lamina 9.-Toma de muestras de suelo. Integrar etiqueta dentro de la bolsa y marcar el exterior de la bolsa con el número de muestra y coordenadas.

ENVÍO DE MUESTRAS DE PLANTAS PARÁSITAS Y EPIFITAS.

Cortar la planta de muérdago de la rama en donde está establecida, escoger aquellas que presenten flores preferentemente. Para enviar este material al laboratorio se requiere de su herborización, pero en este caso antes de cubrir la planta con periódico, se tiene que colocar papel absorbente en las flores y cambiar cada vez que se cambie el periódico, procurando no maltratar el ejemplar.

En el caso de las epifitas que son más voluminosas se pueden enviar en una caja, cuidando que la inflorescencia no se maltrate. Es importante que cada muestra sea acompañada de fotografías.



Lamina 9.- Preparación de muestras de muérdago. A) *Psittacanthus calyculatus* en ramas. **B)** Corte de planta de *P. calyculatus*. **C)** Inflorescencia de *P. calyculatus*. **D)** Prensado de la planta.

ANEXO1. ETIQUETAS

Etiqueta para las muestras de patógenos.

Sospechoso: _____
Hospedero: _____
Localidad: _____
Municipio: _____
Estado: _____
Fecha: _____
Recolector: _____
Coordenadas geográficas: _____

Etiqueta para muestras de semilla.

Especie: _____
Lote _____
Localidad: _____
Estado: _____
Municipio: _____
Coordenadas geográficas: _____
Fecha de muestreo: _____
Fecha de envío: _____

Etiqueta para muestras de suelo.

Sospechoso: _____
Hospedero: _____
Localidad: _____
Municipio: _____
Estado: _____ Fecha: _____
Recolector: _____
Coordenadas geográficas: _____