

TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE HONGOS FITOPATÓGENOS



 ¿Qué muestrear?

 ¿Cuándo muestrear?

 ¿Cómo muestrear?

 ¿Cómo enviar la muestra?

Los hongos son organismos eucarióticos de tamaño microscópico que producen esporas. Estos organismos generalmente presentan ramificaciones y filamentos que carecen de clorofila, así como paredes celulares con quitina, celulosa o ambos componentes. La mayoría de las 100 000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprofitas, es decir, consumen y degradan únicamente la materia muerta (materia orgánica). Asimismo, un poco más de 8000 especies de estos hongos atacan tejido vegetal, generando la diversidad de enfermedades fúngicas que existen actualmente en las plantas. Todas las plantas son atacadas por algún tipo de hongo, y cada uno de los hongos parásitos ataca a uno o más tipos de plantas. A nivel mundial los hongos fitopatógenos constituyen el grupo más importante desde el punto de vista económico derivado de su frecuencia de aparición y daño potencial (Agrios, 2005). Estos hongos fitopatógenos además de ocasionar grandes pérdidas económicas y aumentar los costos de producción por la implementación de medidas de control, provocan pérdidas de la producción biológica, es decir, las plantas albergan el patógeno a través de la semilla y surgen durante su desarrollo (García, 2004; Agrios, 2005).

Los principales síntomas de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos son: necrosis (muerte del tejido), atrofia de ciertas partes o toda planta, e hipertrofia, es decir, cuando la planta crece de más (Waller *et al.*, 2001). Por lo tanto, Riley *et al.* (2002) menciona que los síntomas de las enfermedades ocasionadas por los hongos que atacan a las plantas pueden agruparse en:

- **Falta de desarrollo de tejidos y órganos.** Atrofia en las plantas (Figura 1A), entrenudos cortos, escaso desarrollo radical, malformación de las hojas, producción baja de clorofila y otros pigmentos, desarrollo pobre de frutos y flores.
- **Desarrollo anormal de tejidos y órganos.** Agallas en raíces, tallos y hojas (Figura 1B), proliferación anormal de hojas y flores en la planta.
- **Necrosis o muerte de partes de la planta.** Estos pueden ser algunos de los síntomas más notorios, especialmente cuando afectan a toda la planta, tal como el marchitamiento o la muerte regresiva. Otros ejemplos incluyen quemazones foliares y de retoños, manchas foliares (Figura 1C) y pudriciones de frutos.

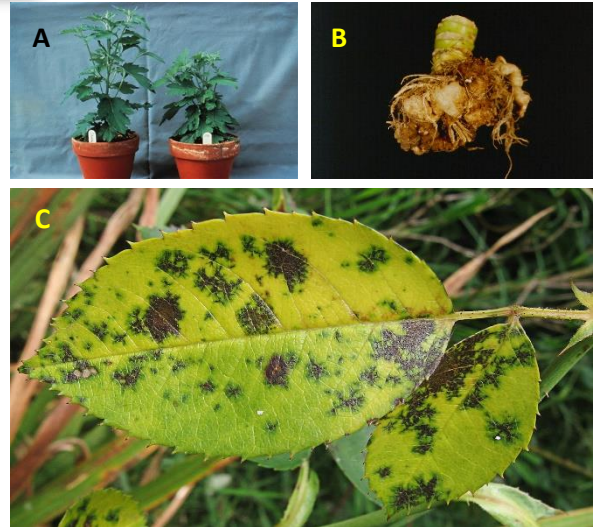


Figura 1. Principales síntomas de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos: A) Falta de desarrollo de tejidos y órganos en plantas de crisantemo; B) Agallas en el cuello del brócoli, y C) Necrosis en hoja del rosal (APS press, 2019).

PROCESO DEL MUESTREO

**¿Qué
muestrear?**

“Debemos examinar la planta entera para observar los síntomas característicos de la enfermedad y su avance en la planta”

Las plantas enfermas usualmente son infectadas por uno o más organismos patógenos y existen algunas enfermedades abióticas que no involucran a los patógenos de las plantas. Una sola planta como muestra puede no ser suficiente para realizar el análisis fitopatológico y diagnosticar el problema que está afectando a la planta (Riley *et al.*, 2002). Por lo tanto, es importante reunir varias plantas que presenten perfectamente el daño del patógeno o síntoma de la



Figura 2. Muestra de planta correctamente obtenida para el análisis de hongos fitopatógenos.



Figura 3. Muestra incorrecta para el análisis fitopatológico (Pudrición total del tejido). El deterioro avanzado de las hojas de jitomate favorece la incidencia de otros hongos en la muestra (hongos saprófitos) los cuales no son los agentes causales de la enfermedad del cultivo.

“No muestrear plantas muertas para el diagnóstico de enfermedades de hongos fitopatógenos”.

enfermedad, así como registrar todos los datos acerca del cultivo para poder realizar el diagnóstico.

El muestreo correcto de plantas o partes de la planta para su análisis fitopatológico considera:

1. Obtener muestras representativas de la enfermedad o daño que se está observando en las plantas (Figura 2).
2. Muestrear plantas tan completas como sea posible, cubriendo toda la diversidad de síntomas y colectando desde una planta sana hasta plantas con síntomas severos. Sin embargo, debemos evitar enviar muestras excesivas (con demasiadas hojas, tallos, plantas o suelo).
3. No enviar plantas totalmente podridas (Figura 3).

“El muestreo de órganos o planta completa con un daño considerable en los tejidos son inaceptables para su análisis fitopatológico, ya que han perdido los síntomas por los cuales se enviaron al laboratorio y probablemente los agentes fitopatógenos que afectaron a la planta ya no se encuentren en la muestra”

4. Siempre seleccionar muestras de plantas que aun tengan tejidos vivos y poner atención en plantas u órganos que presenten estadios tempranos de la enfermedad o están en proceso de secarse o morir, y no estén ya secos o muertos.

“No colecte o tome como muestra una planta muerta o demasiado dañada”

¿Cuándo muestrear?



Figura 4. Síntomas del ataque de hongos fitopatógenos en cebolla (Fertilab, 2018; SENASICA, 2015).

“Examine todos los órganos de la planta (raíces, tallos, hojas e inflorescencias) para buscar síntomas de la enfermedad”

“Se recomienda realizar el muestreo en los momentos de máxima actividad de la enfermedad, la cual coincide con la primavera y el otoño”

Las muestras de plantas para el análisis de hongos fitopatógenos deben colectarse toda vez que haya síntomas característicos de la enfermedad (Figura 4). Por lo tanto, deben realizarse periódicamente monitoreos en el lote de producción para identificar síntomas de enfermedades, especialmente cuando existen condiciones para su aparición y desarrollo como altas temperaturas y elevada humedad ambiental.

El muestreo debe dirigirse a la zona afectada en la planta, y siempre deberá muestrearse tejido sano y tejido infectado. Los patrones de distribución de las enfermedades ocasionadas por diversos patógenos pueden ser:

- ✓ En huertos o en césped, estas zonas suelen ser circulares.
- ✓ En algunos cultivos el patrón de distribución es siguiendo las filas o surcos.
- ✓ Raramente se produce un daño generalizado en toda una parcela.

No todos los síntomas de una enfermedad en particular pueden aparecer en una sola planta dentro de la parcela, y más de un órgano de la planta puede ser afectado por la enfermedad.

¿Cómo muestrear?

“Tomar únicamente muestras de plantas afectadas”

Las muestras de plantas para el análisis de agentes fitopatógenos deben contar principalmente con la siguiente información: ubicación y nombre de la parcela, fecha de muestreo, datos del técnico o dueño de la parcela (nombre, correo y número telefónico), nombre del cultivo y observaciones generales de los síntomas de la enfermedad en campo (Melanson, 2017). Se recomienda contar con toda la información requerida por el laboratorio para obtener una correcta interpretación de los resultados.



Figura 5. El muestreo de suelo o tejido vegetal para el análisis de hongos fitopatógenos debe considerar la ubicación de los síntomas o agente causal.

“Las muestras vegetales requeridas para el análisis de hongos son aquellos órganos de la planta que presentan los síntomas de la enfermedad”

Cuadro 1. Tipo de muestra y cantidad de muestra requerida para análisis de hongos fitopatógenos (Fertilab, 2018).

Muestra	Cantidad
Agua	100 - 500 mL.
Semillas de hortalizas	10 g (aprox. 400 semillas).
Tubérculo, Bulbo o grano	0.5 - 1 kg.
Suelo	0.5 - 1 kg.
Planta	3 - 5 plantas completas en trozos o en su caso, la parte de la planta con el síntoma específico que se quiere analizar.

“Se recomienda identificar las muestras claramente y con la información requerida por el laboratorio”

El muestreo correcto para el diagnóstico general de enfermedades en las plantas considera:

- ✓ Colectar plantas no estresadas, manteniéndolas frescas y alejadas de la luz del sol.
- ✓ Colectar los órganos de la planta donde los síntomas son evidentes: hojas, tallos, frutos, o en su caso la planta completa (Figura 5).
- ✓ En plantas con **alturas mayores de 1 m**, enviar al menos una planta en trozos, y en alturas menores de 1 m, enviar la planta en trozos separando la raíz.
- ✓ En etapas tempranas del cultivo es necesario coleccionar de 10 o 20 **plántulas**.
- ✓ En el caso de **pastos o césped**, se deben coleccionar plantas en superficies de 20 x 20 cm y a una profundidad de 5 a 10 cm, evitando remover el suelo adherido a las raíces.
- ✓ En el caso de **vegetales frescos**, frutas, hongos y tubérculos se recomienda obtener al menos 5 piezas con los síntomas de la enfermedad, los cuales deben envolverse en varias hojas de papel periódico seco.
- ✓ En el caso de **cancro o agallas en ramas**, se recomienda cortar la rama varios centímetros lejos de cada lado del cancro (Ver figura 6) incluyendo algo de tejido vivo en la muestra.
- ✓ Cuando sea necesario coleccionar **plantas con raíces** en campo o invernadero se recomienda cavar a una profundidad adecuada para evitar el daño de éstas, evitando retirar todo el suelo o sustrato adherido a las raíces para que la planta sobreviva. Estas raíces deben separarse de la planta y lavarse inmediatamente antes de enviarse al laboratorio, colocándolas en una bolsa de plástico debidamente etiquetada con la información necesaria.

¿Cómo envío la muestra?

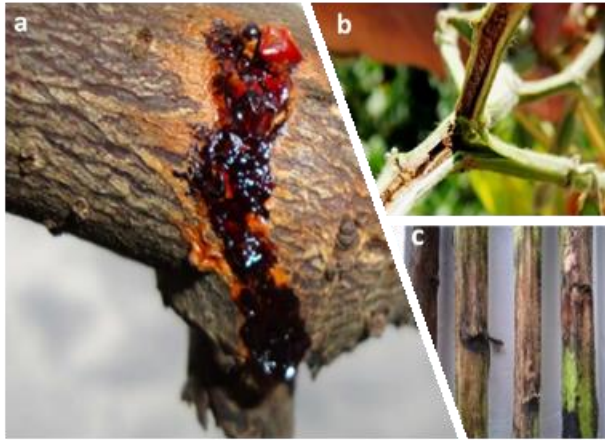


Figura 6. Síntomas de daño por cancro en tejido vegetal. a) Cancro en ramas de árboles frutales, b) Cancro en tallo de tomate y c) Cancro en tallos de pimienta.



Figura 7. La parte aérea de las plantas que se enviarán al laboratorio deberán envolverse en papel periódico sin humedecer y las raíces en bolsas de plástico debidamente selladas, y sin humedad.

“Las muestras colectadas deben enviarse el mismo día. En caso contrario, deberán conservarse en refrigeración y nunca exponerse a la radiación solar”

Después de realizar el muestreo es importante enviar la muestra inmediatamente al laboratorio. Durante este proceso se deben seguir las siguientes recomendaciones:

- ✓ Enviar plantas con síntomas y sin síntomas de manera separada e indicarlo en la etiqueta.
- ✓ En caso de no poder enviar la muestra el mismo día que se colecta, esta debe conservarse en refrigeración.
- ✓ Las muestras de **plántulas** deben considerar plantas completas con su cepellón en una bolsa de plástico correctamente sellada.
- ✓ En muestras de **pastos** se recomienda el uso de bolsas de plástico, ya que la muestra presenta cantidades significativas de suelo.
- ✓ Los **vegetales frescos, frutas, hongos o tubérculos** deben colocarse en varias hojas de papel periódico seco y nunca utilizarse bolsas de plástico. Estas muestras pueden enviarse en cajas de cartón con papel en exceso para evitar que la muestra sufra golpes durante su traslado al laboratorio.
- ✓ En muestras de **cancros o agallas en ramas** de árboles se recomienda el uso de bolsas de plástico bien selladas para el envío de la muestra.
- ✓ La determinación de hongos fitopatógenos en **plantas de campo** requiere que estas se envíen separando las raíces de la parte aérea.
- ✓ Las hojas de **oleaginosas** y **hortalizas** pueden envolverse en papel periódico o papel absorbente seco y colocarse en una bolsa de papel o plástico.
- ✓ En el caso de los **cereales (gramíneas)**, las hojas deben envolverse en papel periódico o absorbente seco y nunca deberán enviarse en bolsas de plástico. Siempre coloque la muestra encima del papel y nuevamente una hoja de periódico (Figura 7).



Recomendaciones

1. Utilizar material de protección desechable.
2. Limpiar las herramientas de muestreo con soluciones desinfectantes como alcohol al 70%, Hipoclorito de sodio (cloro) al 3-5% o sales cuaternarias.
3. Evitar el uso de bolsas negras.
4. No asolear las muestras y evitar el uso de hielo.

Referencias

Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5a. ed. Limusa editores. Gainesville, USA. 819 p.

APS press. 2019. Introduction to the major pathogen groups. Minnesota, USA.

Disponible en: <https://bit.ly/2FPiVcQ>

Fecha de consulta: 01-03-2019.

Fertilab. 2018. Manual de muestreo fitopatológico. Laboratorio de análisis agrícolas "Fertilab". 1a. ed. Celaya, Guanajuato, México. 11 p.

García, C. V. 2004. Introducción a la Microbiología. 2a. ed. Editorial EUNED. Costa Rica. pp: 103-107.

Melanson, R. A. 2017. How to collect and package plant disease specimens for diagnosis. M1562 Mississippi State University Extension. Mississippi, USA. 2 p.

Riley, M. B., R. W. Margaret, and M. Otis. 2002. Plant disease diagnosis. The plant health instructor. Minnesota, USA.

Disponible en: <https://bit.ly/2FPiVcQ>

Fecha de consulta: 28-01-2019.

SENASICA. 2015. Primer reporte de *Pantoea agglomerans* causando tizón en hojas y pudrición del bulbo en cebolla en Michigan, USA.

Disponible en: <https://bit.ly/2WDhm7s>

Fecha de consulta: 01-03-2019.

Waller, J. M., J. M. Lenné, and S. J. Waller. 2001. Plant pathologist's pocketbook. 3a. ed. CABI Publishing. New York. 527 p.

