

MUESTREO DE TEJIDO VEGETAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE VIRUS



¿Qué muestrear?



¿Cuándo muestrear?



¿Cómo muestrear?



¿Cómo enviar la muestra?

Las enfermedades causadas por virus fitopatógenos tienen un impacto importante en la productividad de los cultivos agrícolas, ya que causan una reducción de hasta un 80%, debido a que estos "organismos" tienen la habilidad de infectar a la planta local y sistémicamente; en esta última, el virus entra a la célula, se replica y luego se mueve hacia el floema hasta colonizar toda la planta (Robles *et al.*, 2010).

Un virus puede provocar o inducir diferentes síntomas en diferentes cultivares de la misma especie. Una sola planta puede infectarse por más de un virus y esta mezcla de virus causan síntomas que son claramente diferentes a las causadas por cualquiera de los virus de forma individual. Asimismo, los síntomas de enfermedades causadas por virus pueden ser similares a los síntomas de deficiencias nutricionales y los daños por herbicidas, por lo que es difícil diagnosticar las enfermedades virales basándose solamente en la sintomatología.

La mayoría de los virus vegetales son transmitidos en forma activa de una planta infectada a otra sana por un organismo vivo, llamado vector. Los artrópodos herbívoros, nematodos, y hongos fitófagos son los principales tipos de vectores de virus vegetales. Entre ellos, los áfidos y las moscas blancas tienen la capacidad de transmitir el mayor número de especies de virus (Ver Figura 1). La mayoría de los virus se transmiten activamente por vectores a plantas sanas en cuestión de segundos, horas o días (Gergerich y Dolja, 2006).



Figura 1. Vectores de virus fitopatógenos.

PROCESO DEL MUESTREO

¿Qué
muestrear?



Figura 2. Muestra no aceptable para análisis

Las determinaciones de virosis en plantas se realizan en plantas vivas, debido a que el patógeno se replica en las células vegetales. Por lo tanto, la muestra puede ser cualquier parte del cultivo, siempre y cuando el tejido aún se encuentre vivo.

“No se debe tomar muestras en lotes con plantas muy afectadas o muertas”

La muestra vegetal colectada debe conservarse en las mejores condiciones posibles ya que el diagnóstico es casi imposible cuando las muestras están marchitas o en estado de pudrición avanzado (Ver figura 2).

El muestreo para análisis fitopatológico debe realizarse en una zona donde los cultivos presentan un crecimiento y desarrollo anormal, es decir, las plantas presentan daños físicos, crecimiento lento o dejan de crecer, amarillamiento o ennegrecimiento, u otra característica que no es propia del cultivo (Ver figura 3).

¿Cuándo muestrear?



Figura 3. Síntomas de virosis en cultivo.

El muestreo de tejido vegetal para análisis de virus puede hacerse en cualquier época del año dependiendo de la incidencia de los vectores y condiciones del clima, sin embargo, el recorrido, la ubicación y toma de muestra debe ser realizado por una sola persona para disminuir riesgo de dispersión a otras áreas de producción que no presenten síntomas de enfermedad por virosis.

“El muestreo del tejido vegetal debe realizarse cuando las plantas se encuentran sin presencia de humedad por lluvia o rocío para evitar el desarrollo de hongos y bacterias”

Los patrones de distribución de las enfermedades ocasionadas por patógenos en las plantas pueden ser:

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

¿Cómo muestrear?



Figura 4. Muestreo de tejido vegetal.

Los síntomas locales en las hojas como lesiones cloróticas o necróticas de tamaño y tipos diferentes dependen del huésped. Por lo tanto, se recomienda coleccionar una cantidad suficiente de muestra, partes vegetales con el síntoma observado y partes asintomáticas o no enfermas (Cuadro 1). Algunos aspectos que se deben considerar al momento del muestreo de tejido vegetal son:

- ✓ Las muestras deben ser representativas del problema fitopatológico que se observa en el cultivo (Ver Figura 4).
- ✓ Los órganos o partes de la planta colectados deben mostrar los síntomas característicos de la enfermedad en diferentes estados o grados de desarrollo de la enfermedad.

Cuadro 1. Tipo de tejido vegetal y muestra requerida.

Tipo de tejido	Muestra
Plántula (15 a 20 cm de altura)	Colectar la planta entera, es decir, parte aérea y raíces (con todo y cepellón) con síntomas visibles de virosis.
Hojas, ramas, flores, yemas, tallos	Colocar la muestra vegetal (en trozos o entera) en papel absorbente o papel periódico no humedecido, dentro de bolsas dobles de plástico.

- ✓ Nunca se debe mezclar diferentes tipos de muestra en la misma bolsa, aunque provengan de la misma planta o lote. Por ejemplo, se deben separar hojas o tallos, frutos separados de hojas, etc.
- ✓ Finalmente, es indispensable identificar correctamente la muestra antes de enviarse al laboratorio, dentro y fuera del empaque, pero sin que tenga contacto con la muestra.

¿Cómo envío la muestra?



Figura 5. Ejemplo de bolsa plástica para envío de muestras vegetales.

“La muestra no debe exponerse al sol y debe transportarse en una hielera a baja temperatura o durante la noche”

Después de realizar el muestreo es importante enviar la muestra inmediatamente al laboratorio. En caso contrario, la parte vegetal y el patógeno muestreado se deben guardar por un máximo de 2 días a temperatura de refrigeración. En el cuadro 2, se menciona la cantidad de muestra requerida según el tipo de muestra.

Cuadro 2. Tipo y cantidad de muestra

Tipo de muestra	Cantidad de muestra
Plántula (15 a 20 cm de altura)	Tomar de 15 a 20 plántulas completas, asegurando una muestra vegetal con un peso aproximado de 100 a 150 g.
Hojas, ramas, flores, yemas, tallos	Al menos 5 hojas compuestas con o sin flor. Al menos 2 o 3 frutos.

La etiqueta debe llenarse con lápiz de carbón o cera, evitando el uso de tinta de lapicero. Se recomienda enviar la muestra en doble bolsa plástica (Ver Figura 5) y colocar la etiqueta en medio de ellas.



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.
5. Utilizar gel refrigerante envuelto en papel secante para mantener un ambiente fresco en las muestras.
6. De ser posible enredar el material vegetal por separado en papel periódico o secante completamente seco.

Referencias

Fertilab. 2018. Manual de muestreo Fitopatología. Laboratorio de análisis agrícolas.

Gergerich, R.C. y V. V. Dolja. 2006. Introducción a los Virus Vegetales, el Enemigo Invisible. DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0122-01.

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

Fecha de consulta: 18/12/2018.

Robles H. L., F. A. González, L. E. Gill, M. L. Pérez y D. J. López. 2010. Virus Fitopatógenos que afectan al cultivo del chile en México y análisis de las técnicas de detección. Revista Tecnociencia Chihuahua 4(2): 72-86.