

GERENCIA DE SANIDAD

PROTOCOLO PARA LA RECOLECTA Y ENVÍO DE MUESTRAS ENTOMOLÓGICAS

Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario Forestal



CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	2
CONSIDERACIONES GENERALES.....	2
MATERIAL DE CAMPO.....	3
TOMA DE MUESTRAS.....	6
ENVÍO DE MUESTRAS DE INSECTOS FORESTALES	9
FORMATO DEL REGISTRO DE MUESTRAS.....	13

INTRODUCCIÓN

La obtención o recolecta de ejemplares para su posterior determinación es una actividad que resulta necesaria cuando se desconoce la especie que estamos evaluando durante el proceso de diagnóstico fitosanitario. La correcta identificación de cualquier insecto o plaga que afecta a la vegetación forestal es indispensable para determinar las medidas más apropiadas para su control.

Por lo anterior, se integra la presente guía con objeto de reforzar los conocimientos del personal de Sanidad de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), señalando los aspectos principales en la adecuada recolecta y envío de muestras entomológicas de los insectos que atacan a las diferentes especies forestales de nuestro país.

Está conformada por una serie de pasos ilustrados para la mejor comprensión de cada una de las etapas a realizar en la toma de muestras y su posterior envío al laboratorio para la identificación.

La utilización de este protocolo permitirá la integración de una base de información de muestras recolectadas e identificadas a nivel nacional.

CONSIDERACIONES GENERALES

La recolecta entomológica es la actividad de capturar ejemplares de insectos, preservándolos para su estudio posterior, sin considerar los aspectos poblacionales de las especies obtenidas.

Para ello debemos definir ¿Qué es una muestra? y ¿Qué características deben tener éstas para su envío a laboratorio?

“Muestra” es una porción de material vegetal dañado o plantas con daño que representan una enfermedad o alteración en su morfofisiología, así como la cantidad mínima de ejemplares de insectos de una misma especie que representan un problema sobre una especie forestal.

Para poder tomar una muestra se debe de realizar un recorrido de campo en las zonas donde se está presentando el daño, y por medio de una evaluación localizar los puntos donde podamos obtener buenos ejemplares para la recolecta.

Los insectos con frecuencia muestran gran movilidad y complejos ciclos de vida que dificultan su localización para su recolecta e identificación. Aunado a esto, con frecuencia el daño causado por algunos insectos puede estar asociado con

enfermedades provocadas por hongos, bacterias, virus e inclusive con problemas causados por otros insectos. En consecuencia, es muy importante tomar correctamente las muestras del o de los insectos asociados al daño y si resulta necesario, obtener muestras representativas de la parte del hospedero afectado.

Una vez realizado el diagnóstico en el sitio de interés se procederá con la toma de muestras, para lo cual se deberá tomar en cuenta lo siguiente:

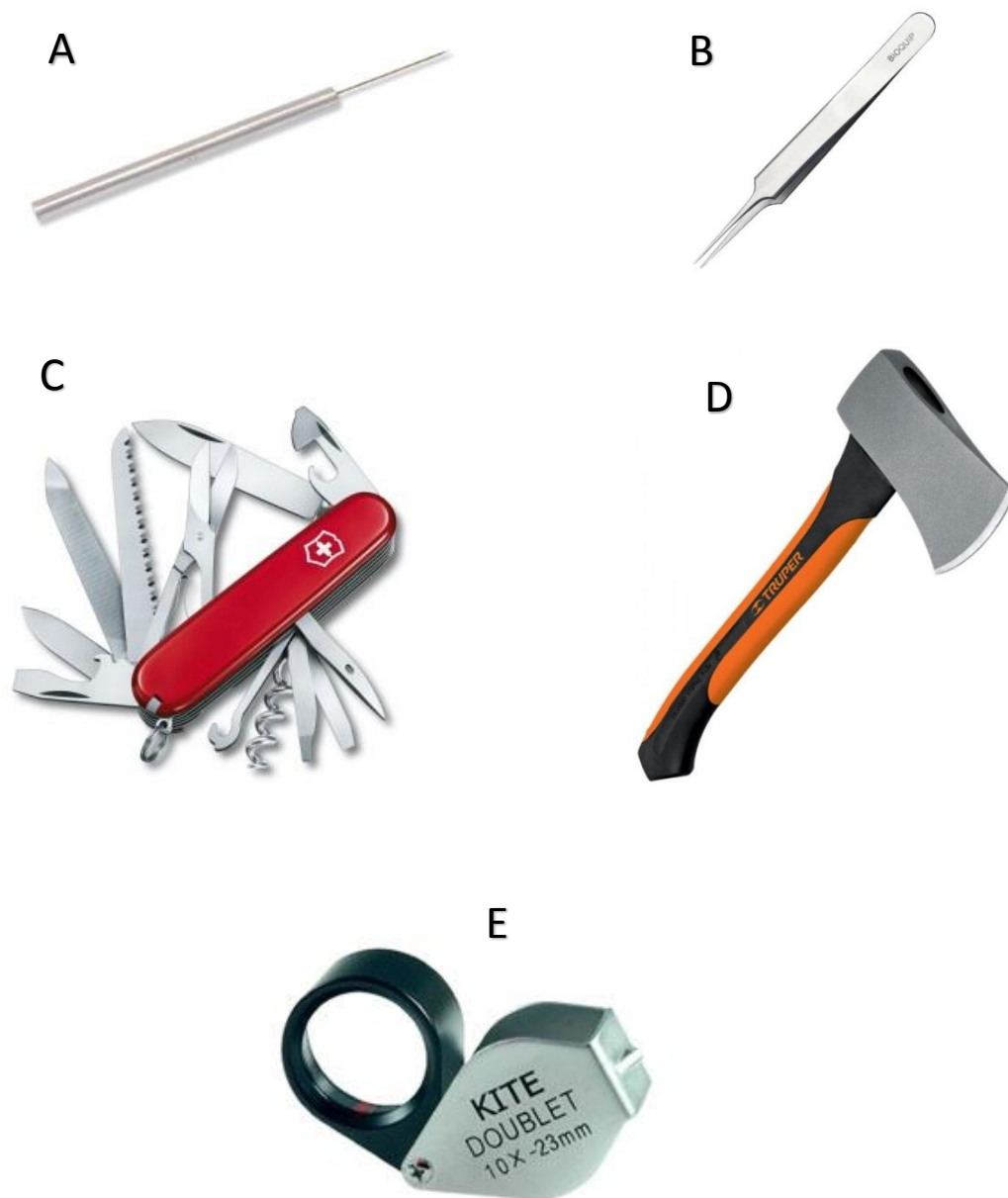
- Iniciar con la recolecta de ejemplares una vez realizada la evaluación del impacto del o los agentes causales de daño, evitar recolectar ejemplares que no representen un daño en la cubierta forestal (evitar enviar curiosidades).
- En el caso de los insectos observar cuál es su comportamiento en el lugar, si hay presencia de uno o más estadios de desarrollo (huevo, larva o ninfa, pupa y adulto) y tomar organismos completos ya que esto es muy importante.

MATERIAL DE CAMPO

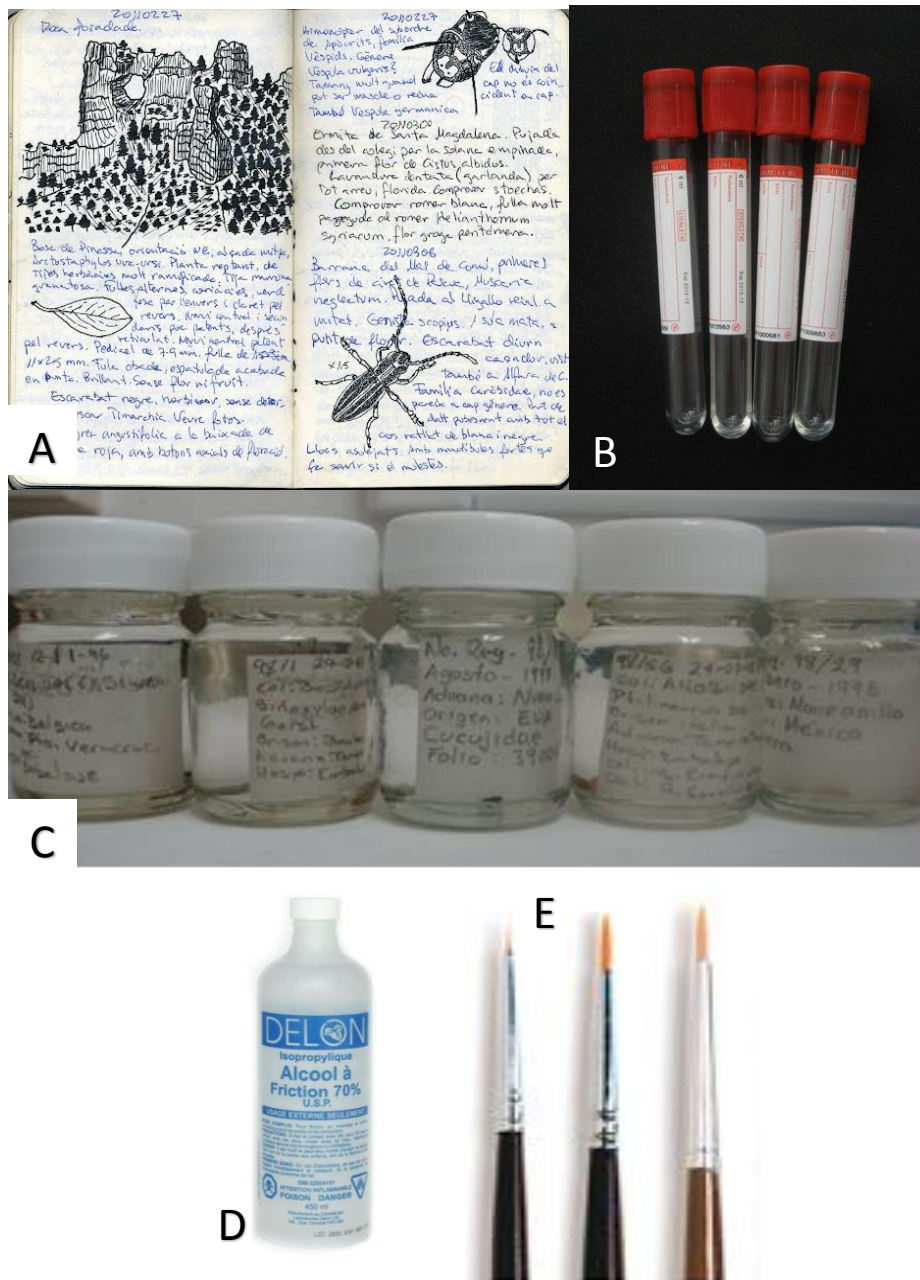
El equipo básico para la recolecta de insectos (especímenes) es el siguiente:

- Libreta de campo (bitácora)
- Lápiz
- Lupa
- Tijeras
- Hojas blancas (o cortadas para elaboración de etiquetas)
- Bolsas de cierre hermético
- Bolsas de papel
- Bolsas o sobres de papel Glasse.
- Pinzas entomológicas o de relojero
- Agujas de disección
- Tijeras de Jardinería
- Navaja
- Frascos de vidrio o viales
- Alcohol al 70%
- Hacha

- Cuña
- Pincel de cerdas finas



Lamina 1. Material de Campo: **A)** Aguja de disección, **B)** Pinzas entomológicas o de disección, **C)** Navaja de campo, **D)** hacha, tijeras de poda y **E)** lupa de campo.



Lamina 2.- Material para recolecta de insectos: A) Bitacora, B) Viales, C) Frascos, D) Alcohol y E) Pincel de cerdas finas.

TOMA DE MUESTRAS EN CAMPO

La recolecta de insectos requiere aplicar una amplia variedad de técnicas debido al gran número de especies y variedad de hábitos que presentan. Los insectos poseen formas y colores vistosos, los cuáles se encuentran distribuidos en gran parte del planeta, gracias a su gran capacidad de adaptación a la gran mayoría de hábitats.

Podemos encontrar insectos que brindan beneficios al ser humano, como es el caso de las abejas pero también podemos encontrar insectos dañinos que en algunas ocasiones pueden incrementar sus poblaciones de tal forma que pueden convertirse en una plaga, ocasionando la pérdida de bosques, selvas, manglares y vegetación de zonas áridas, afectando al ecosistema y los servicios que presta.

En este caso, cuando se detecta una afectación, producto de un proceso de diagnóstico, en la cual se determina que existe una incidencia considerable para determinar que dicho arbolado esta siendo atacado y no sé cuenta con las herramientas suficientes para determinar la especie, se procede a realizar la identificación del organismo, para lo cual se identifican los arboles hospederos para realizar una recolecta.

Recolecta Directa: Es aquella en la que el colector busca de manera activa a los organismos en su ambiente, en los sitios donde éstos se distribuyen. Las principales partes afectadas son:

Hojas

Cuando se observan hojas perforadas, comidas por los bordes, hojas arrugadas o enrolladas, con marchitez, hojas con crecimientos anormales (agallas). Se deben de cortar algunas de las hojas y buscar el agente causal para saber si se tratan de insectos adultos o inmaduros (larvas o ninfas).

Tallos, ramas y corteza

Cuando se observan tallos, ramas y cortezas barrenados, anillados o con heridas longitudinales, o ramas con crecimiento anormal (agallas). Se debera quitar un trozo de la corteza de manera que se pueda seguir la galeria hecha por el insecto. Tambien en el caso de las agallas, se deberan abrir estas estructuras con la finalidad de extraer al agente causal de daño para conocer al agente causal adulto o inmaduro (larvas o ninfas).

Raíces y tubérculos

Caundo no se observa un daño aereo visible, se deberán revisar las raíces si estan cortadas o barrenadas y localizar al agente causal adulto o inmaduro (larvas).

Conos y semillas

En campo con ayuda de una red de golpeo realizar un sacudido de los conos para observar si hay presencia de organismos adultos, de igual manera puede partir los conos para la revisión interna para descartar la existencia de presencia de organismos adultos o inmaduros.

Cuando se ha realizado una identificación previa en campo si se tratan de insectos adultos (excepto las mariposas) y ninfas; se recolectará la muestra de acuerdo con el siguiente punto.

- Se debe tener a la mano un frasco o vial previamente llenado en su totalidad con alcohol al 70%, remojar en este la punta del pincel de cerdas finas y acercarla al insecto con la finalidad de que este quede pegado y pueda depositarse en el frasco.
- Se recomienda el alcohol al 70% ya que permite la conservación del insecto además de la movilidad de ciertas estructuras como lo son las patas, antenas y elitros, ya que si utilizamos alcohol en una concentración mayor el cuerpo del organismo estaría muy rígido y quebradizo. Si la concentración del alcohol es en menor porcentaje no conservaría los tejidos del insecto, sino que lo pasaría a un estado de descomposición, provocando el desprendimiento de cada una de sus partes y generaría malos olores.

Por ejemplo en el caso de insectos descortezadores, se procede como a continuación se indica.

- Con el hacha o machete se remueve un trozo de corteza (espejeo) que deje al descubierto las galerías del descortezador o bien cortar trozos de madera en el caso de barrenadores. En ellas podemos encontrar insectos adultos, característicos por una coloración oscura (en ocasiones encontramos algunos de una coloración más clara o pálida estos son imagos o adultos recién emergidos de la pupa) (Lamina 3).
- Se debe tener a la mano un frasco o vial previamente llenado en su totalidad con alcohol al 70%, remojar en este la punta del pincel de cerdas finas y acercarla al insecto con la finalidad de que este quede pegado y pueda depositarse en el frasco.
- En el caso de encontrar solamente huevos, larvas y pupas y se requiere saber de qué especie se trata, enviar el estado inmaduro y parte del sustrato en donde se encontró. Por ejemplo, existen pupas de lepidoptera que se entierran en el suelo; entonces, se deberá recolectar una muestra de pupas con parte del sustrato para mantenerlas en cámara de cría y /o colocarlas en botes o trampas en donde una vez que aparezcan los adultos estos puedan ser identificados.

- 4.- En caso que se requiera tener material para conocer y representar el ciclo biológico de una especie (huevos, larvas y pupas), estos deberán ser tomados con el pincel húmedo y colocados en un tubo de vidrio con agua destilada o para beber, en donde con un encendedor o lata de alcohol solido se calentará la parte inferior del tubo hasta que hierva el agua y el tejido de estas fases de desarrollo queden cocidos, ya que de esta forma se previene que colapsen al entrar en contacto con el alcohol o se oscurezcan por la presencia de algunos patógenos. Esta proceso aplica para organismos inmaduros de los ordenes Coleoptera, Diptera, Hymenoptera y Lepidoptera principalmente.



Lamina 3.- Ejemplo de toma de muestras en campo. A) Detección del hospedero afectado. **B)** Realizar espejeo o desprendimiento de corteza del árbol hospedero. **C)** Detección del organismo dañino. **D)** Tomar muestras de los insectos con pinzas o pincel. (Fotografías tomadas durante la práctica del curso de Plagas y enfermedades forestales en el Nevado de Colima 2015 y en el curso de insectos ambrosiales en Tijuana, B. C. 2016).

Recolecta de indirecta.

Es aquella en la que se recolectan organismos utilizando algún tipo de atrayente y que no implica búsqueda directa en los sustratos donde éstos habitan.

Etiquetado

Este debe de ser de dos formas: una interna y otra externa, ambas deberán ser elaboradas a lápiz de grafito, indicando: fecha de recolecta, nombre común de la especie (nombre de la especie que se sospecha sea el agente causal de daño), hospedero (nombre científico y/o común de individuo sobre la que fue recolectada la muestra), localidad, municipio, entidad, coordenadas y nombre del recolector.

Fecha de recolecta. 4/Abril/2018 Hospedero: Posible agente causal de daño. Localidad: Municipio: Entidad: Coordenadas: Nombre del recolector.
--

ENVÍO DE MUESTRAS DE INSECTOS FORESTALES

Insectos (larvas, ninfas y adultos) y ácaros en alcohol etílico al 70%.

1.- Se deberán utilizar frascos viales o tubos de plástico (en caso de utilizar frascos de vidrio procurar su arreglo para que no se rompan durante su envío) con tapa de rosca de cierre hermético, el tamaño del recipiente deberá ser proporcional a la muestra a enviar (Lamina 4).



Lámina 4. Diferentes tamaños de frascos con tapa de rosca.

2.- El frasco o tubo debe estar etiquetado firmemente en la pared externa, que contenga los datos de hospedante, lugar y fecha de recolecta escritos con letra legible y que no se desvanezca (con lápiz de grafito).

3.- Dentro del frasco se debe incluir una etiqueta con los datos de la muestra escritos con letra legible y que no se desvanezca (con lápiz de grafito) tales como: Lugar de recolecta (País, Estado, Municipio), localidad, hospedante (nombre científico y/o común), fecha de recolecta, nombre del recolector y fecha de envío.

4.- Para el caso de larvas, se recomienda que se sometan a un adecuado proceso de matado y fijación evitando su colapso, ennegrecimiento y deterioro, de tal manera que facilite su determinación taxonómica.

5.- Para el matado de larvas se recomienda introducir el ejemplar en agua caliente a punto de ebullición (80°C) de 5 a 30 segundos para larvas pequeñas (1-4 cm por ejemplo de Curculionidos) y para larvas grandes, posteriormente dejarlas en agua caliente de 1 a 5 minutos, dependiendo del tamaño del espécimen (larvas de Lepidoptero y de gallina ciega). Finalmente se transfieren a alcohol al 70%.

En el caso de lepidopteros se pueden obtener muestras tanto de larvas como de adultos. Para las larvas pueden recolectarse en muestra vegetal si están sobre follaje, posteriormente estando en oficina o laboratorio hervir un poco de agua y colocar las larvas en agua caliente por unos 5 minutos, para posteriormente pasarlos a un recipiente con alcohol al 70% . Durante la manipulación de larvas se deberá utilizar la pinza entomológica para evitar el contacto con las setas.

Para los adultos estos pueden ser atrapados con una red de golpeo, una vez atrapadas las mariposas o palomillas se toman por la base de las alas con los dedos índice y medio a manera de pinza; colocarlos en sobres de papel encerado o papel albanene, nunca deberán colocarse en alcohol, ya que las escamas de las alas se desprenden y al sacar el organismo del alcohol, su cuerpo comenzará a colapsarse.

Envío de Lepidópteros capturados con red y trampas

1.- Se deberán enviar ejemplares completos y en buenas condiciones con las alas sin extender, en bolsitas o sobres (Lámina 5) de papel blanco y poroso (estas son bolsitas de papel convencional que se utiliza para cubrir paletas de hielo de las paleterías (se pueden conseguir en las tiendas donde venden las materias primas), que evitan la acumulación de humedad al guardarse en una caja contenedora y su descomposición, además de facilitar la relajación del insecto en cámara húmeda, para montarlo en alfiler y lograr extraer la genitalia, y lograr una adecuada determinación taxonómica.

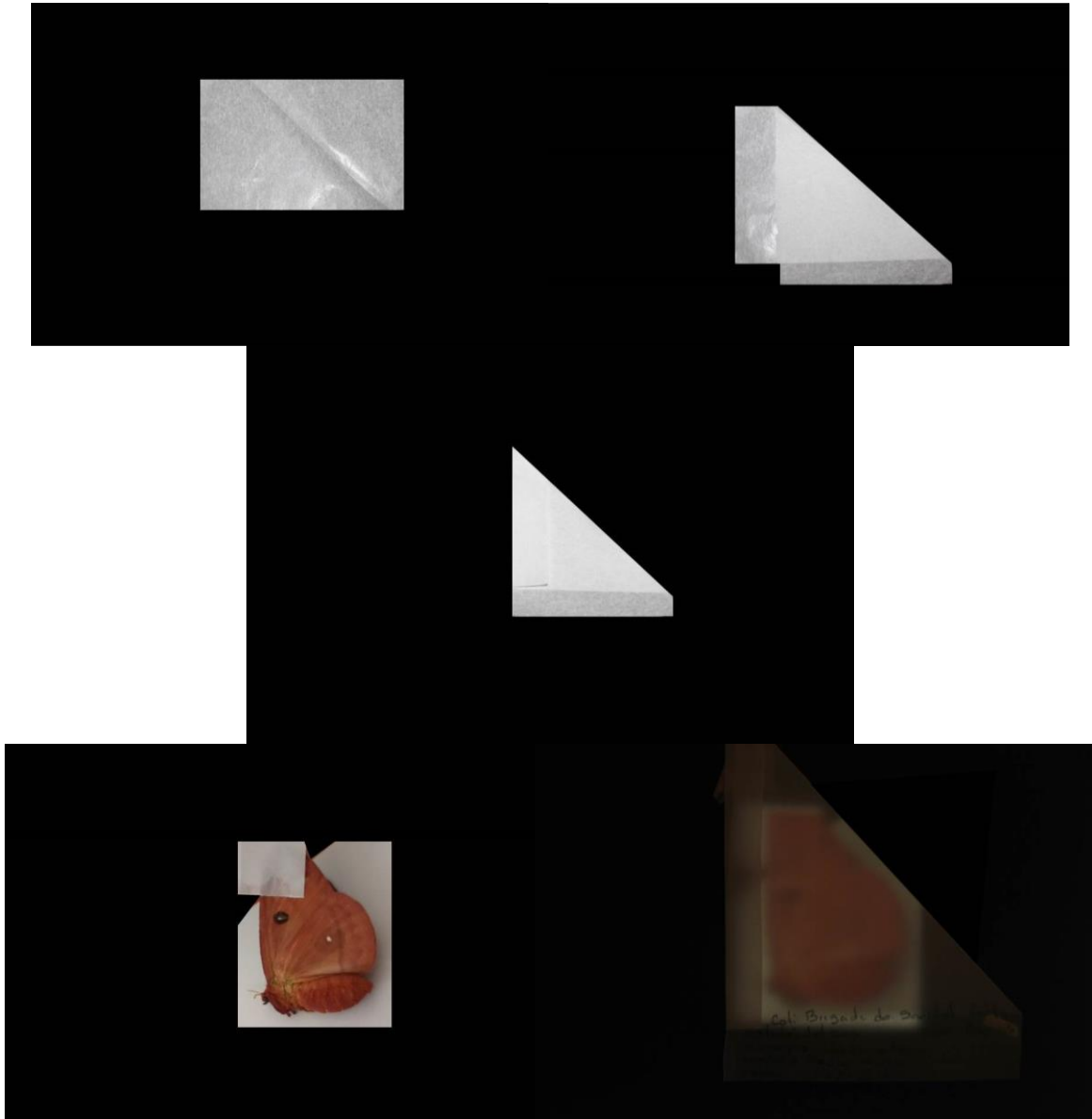


Lámina 5. Forma de envolver Lepidópteros en bolsa o sobre de papel poroso (en la última imagen se dejó el fondo blanco para la observación del ejemplar, ya que solo se introduce el insecto dentro del sobre).

2.- Cada bolsita debe tener escrito con lápiz de grafito los datos de recolecta como: Estado, Municipio, localidad, fecha de recolecta, hospedante, nombre del recolector y nombre común del insecto sobre el cual se tiene interés de su identificación.

3.- Los ejemplares en bolsitas, deberán ser enviados en una caja de material resistente al deterioro por probables golpes durante su manipulación y envío al laboratorio.

4.- **NO deben ser enviados organismos vivos, o material (muestras de ramas, conos con pupas para la obtención de adulto) sin ningún medio de preservación. Solo en casos de que se trate de un organismo de alto riesgo o impacto, se podrán recibir muestras de estos, vivos y con material vegetal del hospedero.**

5.- Muestras que no tengan la información requerida en las etiquetas y/o no se envíe el formato de registro, así como en los medios de preservación, serán destruidas o incineradas.

DIRECCIÓN

Laboratorio de Sanidad Forestal, ubicado en el Centro de Formación Forestal (CEFOFOR). Miguel Ángel de Quevedo # 350, Colonia El Campanario, Zapotlán El Grande, Ciudad Guzmán, C.P. 49060

LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO FORESTAL

REGISTRO DE MUESTRAS DE PROCEDENCIA NACIONAL

Formato LSAN-A001

FECHA DE ENVÍO DE MUESTRA:	QUIEN ENVÍA:	No. DE REGISTRO:
----------------------------	--------------	------------------

SOLICITANTE:	DOMICILIO:	TEL:	E-MAIL:
--------------	------------	------	---------

DATOS DEL SITIO DE RECOLECTA DE LA

ENTIDAD:	MPIO/DELEG:	LOCALIDAD:	ALTITUD:
----------	-------------	------------	----------

HOSPEDANTE:	PRODUCTO:	RECOLECTOR:	FECHA DE RECOLECTA: , ,
-------------	-----------	-------------	----------------------------

TIPO DE SITIO:

VIVERO RODAL NATURAL ANP ÁREA RECREATIVA

COORD. GEOGRÁFICAS: LAT ° ' " / LONG ° ' " DATUM WGS84

TIPO DE VEGETACIÓN:	TOPOGRAFÍA DEL SITIO: <input type="checkbox"/> % PENDIENTE <input type="checkbox"/> PENDIENTE EXPOSICIÓN: _____
---------------------	--

SUPERFICIE AFECTADA (Ha):	ETAPA DE CRECIMIENTO / EDAD APROX. DEL HOSPEDANTE:
---------------------------	--

DISTRIBUCIÓN DE LOS INDIVIDUOS AFECTADOS:

AISLADOS GRUPOS O MANCHONES FRANJAS OTRO: _____

PARTE AFECTADA DEL HOSPEDANTE:

RAIZ RAMAS YEMAS FLORES HOJAS/ACICULAS

AGENTE CUSAL / DAÑO:

INSECTO		PATOGENO	
<input type="checkbox"/> DESCORTEZADOR	<input type="checkbox"/> AGALLADOR	<input type="checkbox"/> CANCRO	<input type="checkbox"/> DAMPING – OFF
<input type="checkbox"/> DEFOLIADOR	<input type="checkbox"/> BARRENADOR	<input type="checkbox"/> PUDRICIÓN	<input type="checkbox"/> PLANTA PARÁSITA

FACTORES DE ESTRÉS ASOCIADOS:

INCENDIO SEQUÍA HELADA CONTAMINACIÓN OTRO: _____

OBSERVACIONES:

RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN

AGENTE CAUSAL (Nombre científico):

FECHA DE RECEPCIÓN:

OBSERVACIONES:

DETERMINÓ:

FECHA DE DETERMINACIÓN: