

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE
MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y
REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO
OFICIAL EN VIVEROS**

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN
DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES
Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO
OFICIAL EN VIVEROS**

Tabla de Contenidos

Contenido	Página
1. OBJETIVOS Y ALCANCE	3
2. REFERENCIAS NORMATIVAS	3
3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS	4
4. REQUISITOS	5
4.1 Requisitos de infraestructura, equipos, materiales y reactivos	5
4.1.1 Requisitos de infraestructura	5
4.1.2 Requisitos de equipos, materiales y reactivos	5
4.2 Requisitos de personal	6
4.3 Requisitos específicos	6
4.4 Medios de verificación de requisitos	6
5. ANÁLISIS/ENSAYO	7
5.1 Incorporación como usuario a SISVEG	7
5.2 Captación y envío de la muestra	7
5.3 Traslado o envío de muestras desde el vivero	7
5.4 Recepción y manejo de la muestra/contramuestra	8
5.5 Metodología	8
5.5.1 Nematodos fitoparásitos en formas móviles	8
5.5.2 Nematodos fitoparásitos en formas enquistadas	8
5.5.3 Nematodos en raicillas	8
5.6 Cálculo y expresión de resultados	9
6. REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS	9
7. SUPERVISIÓN	10
8. SANCIONES	10
9. ANEXO: Protocolo toma muestra suelo/sustratos/raíces para detección de nematodos fitopatógenos en viveros	11
10. FORMULARIOS	32

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

1. OBJETIVOS Y ALCANCE

El objetivo de este documento es establecer los requisitos que deberán cumplir los interesados que postulen a ser laboratorios autorizados para labores de muestreos de suelos/sustratos/raíces y análisis para la determinación de nematodos fitopatógenos de formas móviles y de formas enquistadas en muestras provenientes de viveros.

La cobertura del diagnóstico de muestras de suelo/sustrato/raíces tendrá alcance nacional.

Por el contrario, la cobertura de muestreo será desde la Región de Valparaíso hasta la Región del Maule. En estas regiones y en forma obligatoria, los laboratorios autorizados deberán realizar el muestreo de suelos/sustratos, asociado al proceso de establecimiento de los viveros y de suelos/sustratos/raíces, toda vez que algún vivero haya quedado condicionado por el SAG a demostrar la sanidad de las plantas, cuando las tolerancias definidas para la etapa de establecimiento fueron superadas. Este muestreo deberá realizarse previo a la cosecha o comercialización de las plantas.

En el resto de las regiones (XV, I, II, III, IV, VIII, IX, XIV, X, XI y XII), los Inspectores del SAG colectarán las muestras para posteriormente enviarlas al laboratorio autorizado seleccionado por el viverista para su diagnóstico.

La cobertura de muestreo podrá ampliarse en función de la disponibilidad de nuevos laboratorios autorizados que se instalen en regiones.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

- Decreto Ley N° 3.557 de 1980, del Ministerio de Agricultura, que establece disposiciones generales sobre Protección Agrícola.
- Resolución Exenta N° 529 de 2012, del Servicio Agrícola y Ganadero, que norma el Sistema Nacional de Autorización de Terceros.
- Resolución Exenta N° 90 de 2014, del Servicio Agrícola y Ganadero, que aprueba el Reglamento Específico para la Autorización de Laboratorios de Análisis/Ensayo.
- Resolución Exenta N° 981 de 2011, del Servicio Agrícola y Ganadero, que establece normas para viveros y depósitos de plantas.
- Resolución Exenta N° 8.908 de 2014, del Servicio Agrícola y Ganadero, que modifica la Resolución N° 981 de 2011.
- Christie, J. y Perry G. 1951. Removing nematodes from soil. Proceeding of the Helminthological Society of Washington. 18 (2) : 106-108
- Coolen, W.A. & D'Herde, C.J. 1972 A method for quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ministry of Agriculture. Ghent, Belgium. Agricultural Research Administration, State Agricultural Research Centre, 77 pp
- Fenwick, D. W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* Schmidt from soil. Journal Helminthology 18 : (155-172). 1940.
- J. Van Bezooijen. Practical in nematology, 2000. International course in integrates pest management.
- Sadek M. Ayoub. 1980. Plant Nematology an Agricultural Training Aid. NemaAid Publication.
- Southey, 1986. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

Laboratorio Oficial:	Laboratorio perteneciente al Departamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias del SAG.
Laboratorio Autorizado:	Laboratorio autorizado por el Servicio, para ejecutar uno o más análisis/ensayos determinados, en el marco de los programas oficiales del SAG, bajo condiciones definidas por el Reglamento Específico para la Autorización de Laboratorios e Instructivos Técnicos correspondientes.
Muestreo oficial:	Muestreo para análisis nematológico realizado por personal SAG o Laboratorio Autorizado.
Muestra de Laboratorio:	Porción de un producto o de especímenes, tomadas al azar o en forma dirigida, que representa o se encuentra asociada a un lote, embarque o actividad oficial, con la finalidad de realizar los análisis/ensayos correspondientes.
Análisis Oficial o Diagnóstico Oficial:	Operación técnica que consiste en determinar con detalle la presencia, ausencia, frecuencia, recuento y/o títulos de un(os) determinado(s) componente(s) u organismo(s) en un producto y que es efectuado por un laboratorio oficial o por un laboratorio autorizado por el SAG.
Informe de Resultados:	Documento que expresa un dictamen técnico emitido por un laboratorio autorizado para tal efecto.
Responsable Técnico:	Persona designada por un laboratorio autorizado para actuar como contraparte del SAG, en temas técnicos asociados a su actividad y que cumple con el perfil definido por el SAG para este cargo.
Cámara de doble decantación:	Corresponde a una estructura, idealmente de hormigón, que consta de dos cámaras. La primera cámara es receptora de los residuos líquidos que provienen de las instalaciones del laboratorio de nematología, y al llenarse, produce un sobrenadante que cae a la segunda cámara. Desde la segunda cámara, los líquidos pueden evacuarse al desagüe. Las dimensiones de la cámara dependen del volumen de muestras del laboratorio.
Fumigación:	Tratamiento con un agente químico que alcanza al producto básico completamente o primordialmente en estado gaseoso (FAO, NIMF 5, 2002).
Nematodos:	Gusanos redondos, de simetría bilateral, no segmentados, incoloros (transparentes) y circulares. Tanto el macho como la hembra tienen una forma típica de verme, pero en algunas especies hay dimorfismo sexual (fusiforme).
Nematodos fitoparásitos:	Aquellos que se alimentan, se desarrollan, se reproducen sobre el hospedante y viven a expensas de él, produciendo una enfermedad.

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

Nematodos endoparásitos:	Aquellos que penetran totalmente a las raíces/ hojas, desarrollan su ciclo biológico en ellas, multiplicándose en forma sexual o partenogenética (<i>Meloidogyne</i> spp., <i>Pratylenchus</i> spp.).
Nematodos semiendoparásitos:	Aquellos que penetran parcialmente dentro de la raíz (<i>Tylenchulus semipenetrans</i> , <i>Globodera rostochiensis</i> y <i>Globodera pallida</i>).
Nematodos ectoparásitos:	Aquellos que se alimentan de las raíces de las plantas a través de un estilete, desarrollando su ciclo biológico fuera de ellas (suelo), (<i>Xiphinema</i> spp., <i>Trichodorus</i> spp., <i>Longidorus</i> spp.).
Nematodos fitopatógenos:	Aquellos que ocasionan pérdidas económicas a las plantas cultivadas, cuando se encuentran en niveles dañinos para ellas.
Período de Reingreso:	Período mínimo que se debe esperar, después de haberse aplicado un pesticida, para el ingreso de personas y/o animales al área tratada.
Speedling:	Bandeja de propagación, de amplio uso en la agricultura, corresponde a una bandeja de plumavit (preferentemente) formada por pequeños alvéolos, en donde se deposita el sustrato.
Sustrato:	Todo material sólido, distinto de suelo, natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico, que colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el "anclaje" del sistema radicular de la planta.
Servicio o SAG:	Servicio Agrícola y Ganadero.
TMPN:	Tabla de muestreo para problemas nematológicos.

4. REQUISITOS

4.1 Requisitos de infraestructura, equipos, materiales y reactivos

4.1.1 Requisitos de infraestructura

El laboratorio debe contar con la infraestructura que garantice la correcta ejecución de la metodología de análisis a desarrollar.

El laboratorio debe contar con una sala de lavado de muestras, la que debe estar conectada a un sistema de eliminación de suelo y agua de lavado consistente en una cámara de doble decantación. Asimismo, para la eliminación de restos de muestras y contramuestras debe contar con un sistema adecuado y seguro de eliminación de éstas.

4.1.2 Requisitos de equipos, materiales y reactivos

El laboratorio debe contar con los equipos y materiales necesarios que garanticen el correcto desarrollo de la metodología de análisis a desarrollar. A continuación se detallan los equipos y materiales con los que debe contar el laboratorio que postule a la autorización:

- Equipos de microscopía con resolución 50 y 100X, apropiada para la identificación de nematodos.
- Cámara de conteo de nematodos.

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

- Equipo de Refrigeración (rango entre 4 y 12°C).
- Balanza analítica con sensibilidad de 1 gramo.
- Aparato de FENWICK e instrumental para la extracción de quistes.
- Set de embudos lisos con vástago (Baermann).
- Tamices de acero inoxidable con mallajes (250, 200, 150, 63, 53 y 30 mesh μm .) de acero inoxidable, nylon o teryleno. También en forma opcional se pueden usar tamices de PVC con la malla apropiada en mesh.
- Centrífuga (obligatoria sólo para los laboratorios que realicen análisis de raíces).

4.2 Requisitos de personal

El laboratorio deberá contar con el personal técnico en cantidad acorde al número de análisis y diagnósticos a realizar:

- a) El laboratorio deberá designar un responsable técnico, quien será la contraparte ante el SAG en temas asociados a su actividad como laboratorio autorizado. El perfil del responsable técnico se describe en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos.
- b) Analistas, que deben contar con título profesional correspondiente a una carrera del área biológica o afín, de al menos seis (6) semestres académicos de duración, y con experiencia laboral en la extracción e identificación de nematodos fitoparásitos, que será comprobada mediante examen de competencia por especialistas del SAG.
- c) Personal para la realización de las labores de muestreo, el cual debe contar con título técnico de una carrera afín (áreas de biología o ciencias agronómicas), y contar con experiencia demostrable en esa tarea. El equipo de muestreo estará formado por una o más personas.

Cualquier modificación en el personal técnico, debe ser informada al SAG en los términos y plazos establecidos en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos.

4.3 Requisitos específicos

Para dar cumplimiento a la normativa legal vigente en relación a control obligatorio de viveros, los laboratorios deberán realizar los análisis de nematodos fitoparásitos en formas móviles como también análisis de nematodos en formas enquistadas.

4.4 Medios de verificación de requisitos

El laboratorio postulante debe adjuntar a la solicitud de autorización, además de los antecedentes establecidos en el numeral 6.1 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo del Servicio Agrícola y Ganadero, los documentos que a continuación se detallan y que dan cuenta del cumplimiento de los requisitos establecidos por el SAG en este capítulo:

- i) Formulario de identificación del personal que se desempeña como analista indicando nombre completo, cédula de identidad y firma, formulario F-GF-CGP-PT-124.
- ii) Certificado de título de los analistas o fotocopia legalizada ante notario, y documentos

que acrediten su experiencia laboral en la extracción e identificación de nematodos fitoparásitos.

- iii) Formulario de identificación del personal que se desempeña como muestreador, indicando nombre completo, cédula de identidad y firma, formulario F-GF-CGP-PT-125.
- iv) Certificado de título de los muestreadores o fotocopia legalizada ante notario, y documentos que acrediten su experiencia laboral en labores de muestreo de suelos.
- v) Lista de equipos.
- vi) Lista de materiales y reactivos.
- vii) Croquis del laboratorio donde se detalle ubicación del sistema de desagüe de lavado de suelo.

5. ANÁLISIS/ENSAYO

5.1 Incorporación como usuario al SISVEG

El SAG incorporará al laboratorio autorizado como usuario del Sistema de Información de Sanidad Vegetal (SISVEG), o de otro sistema informático que el SAG determine, y le proporcionará los nombres de usuarios y las contraseñas correspondientes para la correcta gestión del ingreso de muestras, recepción, seguimiento e ingreso y autorización de los diagnósticos.

El Sistema SISVEG cuenta con los siguientes módulos a los que acceden los usuarios de acuerdo a su perfil, para ingresar u obtener información de la muestra:

1. **Módulo protocolo envío muestras:** Se ingresan los datos de la muestra captada en terreno y el sistema le asigna un número de identificación. Permite también realizar una mantención de los datos ingresados.
2. **Módulo laboratorio:** En este módulo se realiza la recepción de la muestra y también el diagnóstico fitosanitario. El diagnóstico fitosanitario tiene dos etapas: ingreso del resultado del análisis y autorización de la publicación del análisis.

5.2 Captación y envío de la muestra

La metodología para la captación y las condiciones para el envío de muestra se encuentran descritas en Protocolo toma de muestra suelo/sustrato/raíces para detección de nematodos fitopatógenos en viveros, correspondiente al Anexo del presente Instructivo.

Todo muestreo oficial programado por un laboratorio autorizado, debe ser informado a la Oficina SAG correspondiente al Vivero, con un plazo máximo de dos (2) días hábiles antes de la toma de muestra, mediante formulario Aviso de muestreo nematológico en viveros, F-GF-CGP-PT-126.

5.3 Traslado o envío de muestras desde el vivero

El despacho o traslado de la(s) muestra(s) será de responsabilidad del laboratorio autorizado a cargo del muestreo. Sin perjuicio de lo anterior, podrá utilizar los servicios de una empresa de transporte de encomiendas o courier reconocida a nivel nacional, y establecida legalmente, y que garantice el envío en el tiempo y las condiciones de temperaturas adecuadas, no mayores a 7°C.

5.4 Recepción y manejo de la muestra/contramuestra

El ingreso de los datos de la muestra al Sistema (SISVEG u otro sistema que esté operando) debe realizarse como máximo al día hábil siguiente de la fecha de muestreo. En caso de operar con SISVEG, los datos se ingresarán en el módulo **protocolo envío muestras**.

La siguiente etapa corresponde a la recepción de la muestra y el plazo para recepcionarla en el sistema no debe superar los tres (3) días, contados desde la fecha de muestreo. En el sistema SISVEG, se realiza en el módulo **laboratorio/recepción muestras**.

Posteriormente, el responsable técnico del laboratorio deberá evaluar la aptitud de la muestra para el análisis, cuando se incluyen muestras vegetales, considerándose como muestra apta, aquella que no presenta signos evidentes de deshidratación y/o descomposición (raíces), además de ser representativa en cantidad y tamaño. Si la muestra presenta condiciones de embalaje inadecuadas o no aptas para análisis, ésta debe ser rechazada y los informes deben contestarse como muestras no aptas/descompuestas.

Una vez que el laboratorio autorizado ha verificado lo anterior y considerado que la(s) muestra(s) son apta(s) para su análisis, quedan disponibles para efectuar el análisis. Las muestras deberán ser conservadas, hasta el momento del análisis, refrigeradas a una temperatura entre 4-8°C.

El laboratorio deberá almacenar las contramuestras de suelo (500 gramos) en condiciones adecuadas por un tiempo mínimo de dos meses a contar de la fecha de emisión del informe de resultados de análisis.

El laboratorio debe mantener un registro electrónico o manual con las muestras recepcionadas y su correspondiente diagnóstico. Este registro es de libre diseño, sin embargo los datos mínimos que deben considerarse son: nombre del vivero, ubicación, tipo de muestra, hospedante vegetal cuando corresponda, fecha de muestreo y resultado.

5.5 Metodología

Los métodos de extracción de nematodos fitoparásitos desde muestras de suelo que podrán ser utilizados por los laboratorios autorizados son los siguientes:

5.5.1 Nematodos fitoparásitos en formas móviles:

Método tamizado modificado de Cobb y embudo de Baermann. Esta metodología permite obtener ejemplares en buenas condiciones para realizar las identificaciones taxonómicas requeridas.

5.5.2 Nematodos fitoparásitos en formas enquistadas:

Método de la jarra Fenwick. Posee un buen porcentaje de recuperación, alrededor de 70% de los quistes.

En caso de detectarse nematodos enquistados de los géneros ***Heterodera*** y ***Globodera***, el laboratorio autorizado deberá informarlo al SAG a la brevedad, en un plazo no mayor a tres (3) días hábiles, para que el Servicio ratifique su estatus cuarentenario.

5.5.3 Nematodos en raicillas:

El método de extracción de nematodos fitoparásitos desde muestras de raicillas será el método de la centrifugación de Coolen & D'Herde, por ser la metodología más eficiente al extraer también los estadíos inactivos y no móviles.

5.6 Cálculo y expresión de resultados

Los resultados de los análisis nematológicos deberán expresarse en relación a 250 gramos de suelo, tanto para nematodos de formas móviles como para nematodos de formas enquistadas.

La identificación debe realizarse a nivel de especie, excepto para las muestras del género ***Pratylenchus*** que presenten un número inferior o igual a 20 ejemplares por 250 gramos de suelo, donde los resultados podrán expresarse a nivel de género.

Los resultados de los análisis nematológicos en raíces, deberán expresarse en relación a 10 gramos de raicillas.

Si en el resultado de las muestras analizadas se detecta una especie cuarentenaria o existe sospecha de que lo sea, el resultado debe informarse al SAG, al supervisor del Laboratorio de SAG Central, y no podrá revelarse el resultado al viverista hasta que el SAG lo indique.

6. REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos del análisis de muestras procedentes de viveros, deberán estar disponibles en el sistema de información de sanidad vegetal SISVEG u otro, en un plazo máximo de diez (10) días hábiles, desde la fecha de recepción de la(s) muestra(s) por parte del laboratorio autorizado. Cualquier atraso en el tiempo de respuesta, deberá ser informado por el responsable técnico del laboratorio autorizado, con dos (2) días hábiles de anticipación a la fecha límite de respuesta, vía correo electrónico, al Encargado de Supervisión SAG de ese laboratorio.

Si se utiliza sistema SISVEG, los resultados se ingresarán en el módulo **laboratorio/diagnóstico fitosanitario/ingreso**.

Posterior al ingreso del diagnóstico, le corresponderá al responsable técnico autorizar la publicación de los resultados en el módulo **laboratorio/diagnóstico fitosanitario/autorización**.

Los informes fitosanitarios pueden ser impresos o almacenados como archivo digital y deberán ser informados y enviados por el laboratorio autorizado al contratante del servicio, en un plazo no superior a un (1) día hábil después de publicado el resultado en el sistema y paralelamente, informados al SAG Sectorial en copia digital.

El SAG es el encargado de notificar al viverista la condición del suelo/sustrato o de las plantas y las medidas de control cuando corresponda, por medio del Acta de Fiscalización de Viveros y Depósitos de Plantas, formulario F-FYS-FIS-PA-004, adjuntando una copia del Informe Fitosanitario emitido por el laboratorio autorizado.

El laboratorio autorizado debe enviar mensualmente, las copias de los informes de los análisis oficiales del vivero al Departamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias del SAG, o bien, el listado de los folios asociados a los informes.

Por otro lado, el laboratorio debe enviar semanalmente el listado de folios de las muestras recepcionadas y copia de los informes de resultados o listado de folios, a la Oficina Sectorial del Servicio Agrícola y Ganadero correspondiente al vivero.

El formato del informe de emisión de resultados estará dado por el Sistema Informático en uso y debe estipular con claridad los resultados del diagnóstico nematológico (formas móviles y formas enquistadas).

7. SUPERVISIÓN

Todo laboratorio autorizado será supervisado por personal del Laboratorio del SAG en cuanto a evaluar el sistema de diagnóstico, al menos una (1) vez al año. Asimismo, durante la ejecución del muestreo también podrá recibir supervisiones de parte del personal del SAG, de las oficinas SAG de regiones o del Nivel Central, al menos una (1) vez al año, por cada Oficina en donde se encuentre el vivero muestreado.

La supervisión corresponde a la evaluación práctica de la ejecución de las metodologías descritas en este instructivo, con lo cual el SAG podrá coleccionar muestras en forma paralela a las que colecciona el laboratorio autorizado o realizar diagnóstico a muestras analizadas por éstos.

Los resultados de la supervisión del muestreo serán registrados en el Acta de supervisión terceros autorizados muestreo nematológico, formulario F-GF-CGP-PT-127 del presente Instructivo. En el caso de no haber concordancia con los resultados, se programará una visita de supervisión para verificar la conducción del ensayo.

Si producto de las acciones de supervisión, el SAG detecta faltas en el desempeño del laboratorio, que pongan en riesgo el resultado del Programa Oficial, se podrá instruir el cese inmediato de actividades asociadas a su autorización a través de un Jefe de Oficina o Director Regional o Jefe del Departamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias, ante lo cual el laboratorio autorizado se obliga a suspender la ejecución de dichas acciones a nivel nacional y hasta que el SAG resuelva en definitiva su caso.

8. SANCIONES

Las medidas por incumplimientos se establecen en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos. Sin perjuicio de lo anterior:

- Las **faltas** producidas al momento del muestreo, que pueden determinar la instrucción del **cese inmediato de actividades** asociadas a la autorización son:
 - a. Muestreador no autorizado ejecutando la actividad.
 - b. Muestreo realizado sin considerar las indicaciones del Instructivo.

- Las **faltas leves** conducirán a una suspensión cuando se **acumulen tres en el periodo de un año**:
 - a. Falta de materiales necesarios para realizar la actividad, incluyendo el plano de muestreo.
 - b. No cumplir con la desinfección de herramientas.
 - c. No cumplir aspectos administrativos: avisos de muestreo, informes, etc.

- Las **faltas** que podrían dar origen a **suspensión, en el proceso de análisis** son:
 - a. Inconsistencia en análisis nematológico: no detección de algún nematodo fitoparásito de relevancia como **Meloidogyne** o **Pratylenchus** a niveles detectables, presencia de géneros de nematodos no presentes en la muestra de verificación a niveles detectables, identificación errada de especies de **Pratylenchus**, variación anormal en las poblaciones detectadas.
 - b. No conformidades de gestión: no informar la detección de especies nuevas o de carácter cuarentenario, no envío en el plazo estipulado de informes fitosanitarios (o sus listados).

9. ANEXO: PROTOCOLO TOMA DE MUESTRA SUELO/SUSTRATO/RAÍCES PARA DETECCIÓN DE NEMATODOS FITOPATÓGENOS EN VIVEROS

1. Objetivo

Detectar la presencia de nematodos fitopatógenos utilizando métodos de muestreos dirigidos a suelo/sustratos/raíces en viveros y depósitos de plantas.

2. Alcance

Este documento se aplicará en viveros toda vez que se requiera tomar una muestra dirigida a la detección de nematodos fitopatógenos presentes en suelo/sustratos/raíces, para determinar la aptitud del suelo/sustrato al establecimiento del vivero; para verificar situación sanitaria del suelo/sustrato posteriormente al establecimiento y para verificar sanidad de raíces de las plantas de vivero.

3. Descripción de actividades

3.1 Antecedentes generales

A. Época y cobertura

El laboratorio autorizado debe considerar que las poblaciones de nematodos fitopatógenos fluctúan a lo largo del año, atendiendo a condiciones de humedad y temperatura. Dentro de este contexto se debe considerar especialmente las condiciones de humedad presentes en el suelo/sustrato al momento de realizar el muestreo, para esto el suelo/sustrato debe estar:

- En capacidad de campo.
- Drenado, después de haber precipitado o de realizado un riego.

Bajo ningún punto de vista debe realizarse muestreo de suelo/sustrato que se encuentre inundado, seco o congelado.

El muestreo deberá realizarse previo a la cosecha o comercialización de las plantas.

B. Fumigación

Los suelos/sustratos que han sido sometidos a fumigación deben ser muestreados a lo menos transcurridos cuarenta y cinco (45) días desde el momento que se aplicó el fumigante, en el caso de tratamientos realizados en otoño los muestreos deben efectuarse al cabo de sesenta (60) días.

C. Materiales

- Balde plástico o bolsa para coleccionar la muestra compuesta
- Bolsas plásticas de 20 x 30 cm., de 0,8 mm. de espesor.
- Caja Conservadora.
- Elemento para cerrar las bolsas plásticas (ej., corchetera, cinta adhesiva).
- Guantes desechables.
- Ice- pack.
- Pala/ pala de jardín.
- Papel absorbente.
- Plumón indeleble.
- Solución desinfectante (Hipoclorito de sodio).

- Tijeras.

D. Desinfección

Las herramientas que se utilicen en la toma de muestra deben ser desinfectadas después de la extracción de cada una de ellas, para evitar la contaminación de las muestras extraídas con posterioridad.

3.2 Muestreo al establecimiento del vivero

Debe realizarse a solicitud del(la) viverista, toda vez que éste(a) desee establecer un vivero o cambiar de ubicación el vivero.

3.2.1 Tipos de muestreo

De acuerdo al tipo de sustrato y a las condiciones en que se establecerá el vivero se pueden definir, los siguientes tipos de muestreo:

- Suelo, directamente sobre el terreno.
- Sustrato dispuesto en pilas o montículos.
- Sustrato almacenado en sacos.

3.2.2 Muestreo de suelo, directamente sobre el terreno

Corresponde al tipo de muestreo que se realiza directamente sobre el terreno/superficie que va a sustentar las plantas del vivero, ver fotografía N° 1.

Para llevar a cabo este tipo de muestreo el terreno debe estar en barbecho o a lo más con restos de vegetación del cultivo anterior, siempre y cuando no impidan el libre desplazamiento del(la) muestreador(a).



Fotografía N° 1: Barbecho, suelo preparado, previo a plantación o siembra
(gentileza Oficina Maipo, R.M.)

El muestreo de suelo debe corresponder a un área representativa y con confiabilidad estadística. Se deben separar lotes según cultivo anterior y sistema de riego.

Una vez que se ha definido la superficie a muestrear y atendiendo a los tópicos indicados con anterioridad, se debe establecer la siguiente relación:

$\frac{1}{2}$ ha = 1 muestra = 25 submuestras

A. Procedimiento:

La superficie total a muestrear debe ser dividida en unidades de 0,5 ha (+0.1 ha), sobre la cual se debe realizar el siguiente procedimiento de toma de muestra:

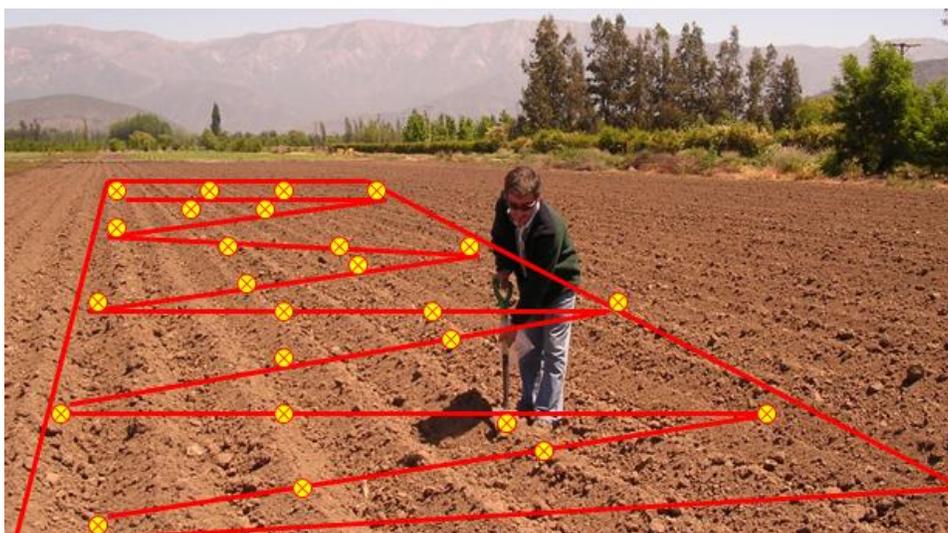
A.1 Hacer un croquis de la unidad a muestrear (0.5 ha), en caso de no existir croquis de muestreo elaborado por un Inspector SAG, y registrar los principales puntos de referencia tales como canales, cercos, construcciones, caminos, etc., de tal forma de poder individualizar claramente el terreno del cual se está extrayendo la muestra. Para realizar el croquis, usar el formulario F-GF-CGP-PT-128 del presente documento.

Croquis debe ser enviado al SAG junto con los resultados del análisis.

Las unidades muestreadas pueden identificarse por medio de carteles o estacas, para lo cual el muestreador debe gestionar con el viverista la implementación de mecanismos o los materiales necesarios para la identificación de las parcelas.

Cabe señalar que el croquis de muestreo puede estar definido previamente por el inspector/fiscalizador del SAG en el documento Acta de Fiscalización de Viveros y Depósitos de Plantas, F-FYS-FIS-PA-004, que es de uso exclusivo SAG, donde se indica el número y distribución de muestras, georreferencia del predio/muestra y que debe revisar el muestreador del laboratorio autorizado para realizar la actividad. Si ello es así, el muestreador debe coleccionar las muestras en el número y lugar que se indica en ese documento.

A.2 Recorrer la unidad de muestreo/terreno, siguiendo una línea imaginaria en forma de zig-zag, y cada 15 a 20 pasos o metros extraer 1 submuestra de suelo, ver fotografía N° 2, la cual es depositada en un balde o bolsa plástica.



Fotografía N° 2 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

A.3 Extraer cada submuestra enterrando la pala a una profundidad de 15 a 20 cm., ver fotografía N° 3, colectando alrededor de 40 gramos de suelo que se encuentre adherido a ésta en su extremo inferior, eliminando suelo ubicado en las zonas laterales y superior de la pala (Ver fotografía N°17).



Fotografía N° 3 (gentileza Oficina Maipo, R.M.).

A.4 Agitar el balde o la bolsa plástica utilizada para acopiar las 25 submuestras, de tal forma de homogenizar el suelo que éste contiene.

A.5 Separar 1 Kg. de suelo y depositarlo en una bolsa plástica de 20 x 30 cm., ver fotografía N° 4, la bolsa debe ser cerrada completamente para que la muestra no pierda su humedad y colocada en una caja conservadora para evitar la solarización de la muestra.



Fotografía N° 4 (gentileza Oficina Maipo, R.M.).

A.6 Identificar cada muestra, directamente sobre la bolsa plástica con un plumón de tinta indeleble o sobre una etiqueta. La información mínima que debe contener es: fecha de muestreo, nombre y registro del vivero, predio, sector muestreado, especie a cultivar.

A.7 Trasladar la muestra de suelo al laboratorio de nematología autorizado.

B. Otras consideraciones:

B.1 Se debe incorporar a la muestra de suelo restos de raíces del material que exista en el terreno, al momento de efectuar el muestreo.

B.2 Las muestras de suelo deben ser conservadas con la humedad que tenían al momento de realizar la toma de muestra; al mismo tiempo, deben ser mantenidas en condiciones de temperatura apropiadas (inferiores a 7° C), considerando el período involucrado desde su extracción hasta su envío al laboratorio (traslado/transporte y almacenamiento). Para tal efecto, durante su período de:

- Traslado/transporte: debe hacerse uso de caja aislapol o conservadora e ice- pack (Ver fotografía N° 5).



Fotografía N° 5 (gentileza Oficina Maipo, R.M.).

- Almacenamiento: debe ser mantenida en condiciones refrigeradas (fotografía N° 6).



Fotografía N° 6 (gentileza Dirección Regional VI Región)

3.2.3 Muestreo de sustrato dispuesto en pilas o montículos

Este muestreo corresponde al que se realiza sobre sustratos que se encuentran dispuestos o acopiados en pilas/rumas, los cuales corresponden a partidas de materiales provenientes de otros lugares. (Ver fotografía N° 7).



Fotografía N° 7: Pila, ruma o montículo de sustrato
(gentileza Oficina Maipo, R.M.).

En general, cuando el sustrato está dispuesto o acopiado en pilas/rumas, se debe coleccionar 1 muestra de sustrato por cada pila. No obstante lo anterior, varias pilas de tamaño menor pueden ser muestreadas como una sola partida, siempre y cuando correspondan a:

- un volumen no superior a 30 m³.
- un mismo tipo de sustrato.
- un mismo origen/ procedencia.
- un tiempo entre una partida y la siguiente no superior a los 3 meses (manteniéndose los puntos anteriores sin variación).
- una misma metodología de preparación (Ej. compostaje, humificación, etc.).

Una vez que se ha definido la pila a muestrear y atendiendo a lo indicado en el párrafo precedente, se debe establecer la siguiente relación:

1 pila/ruma = 1 muestra = 25 submuestras

A. Procedimiento:

A.1 Hacer un croquis de la unidad/pila a muestrear, para lo cual debe registrarse la ubicación del objeto de muestreo, indicando posibles puntos de referencia, de forma tal de poder individualizarla en todo momento, usando el croquis de muestreo del vivero, formulario F-GF-CGP-PT-128. El croquis debe ser enviado al SAG junto con los resultados del análisis.

Cabe señalar, que el croquis de muestreo podría estar definido previamente por el Inspector/Fiscalizador del SAG en el documento Acta de Fiscalización de Viveros y Depósitos de Plantas, F-FYS-FIS-004, que es de uso exclusivo del SAG, donde se indica el número y distribución de muestras, georreferencia del predio/muestra y que debe revisar el muestreador del laboratorio autorizado para realizar la actividad. Si ello es así, el muestreador debe coleccionar las muestras en el número y lugar que se indica en ese documento.

- A.2 Para facilitar su identificación, se debe gestionar con el(la) viverista, la disposición de señalética que indique "MUESTREO OFICIAL" y la fecha de la toma de muestra.
- A.3 Extraer 25 submuestras, que conforman la muestra, de diferentes zonas/profundidad de la pila.
- A.4 Extraer cada submuestra enterrando la pala a una profundidad de alrededor de 15 a 20 cm., evitando coleccionar de las zonas superficiales que pueden tener niveles poblacionales de nematodos alterados dado las condiciones climatológicas imperantes en el lugar de acopio, de esta forma se logra obtener una muestra representativa de la partida, coleccionando alrededor de 40 gramos de suelo que se encuentre adherido a ésta en su extremo inferior, eliminando suelo ubicado en las zonas laterales y superior de la pala (Ver fotografía N°17).
- A.5 Seguir el mismo procedimiento indicado en 3.2.2 Muestreo directamente a terreno, A.4 a A.7.

B. Otras consideraciones:

Las muestras de sustrato deben ser identificadas, conservadas y trasladadas de acuerdo a lo indicado en 3.2.2, B.2.

3.2.4 Muestreo de sustrato almacenado en sacos

Se debe realizar este tipo de muestreo cuando el sustrato se encuentre dispuesto en contenedores tipo saco, fardos de turba o similares (Ver fotografía N° 8), de acuerdo a lo indicado en 3.3.4 Plantas establecidas en contenedores (bolsas, macetas), exceptuando las condiciones para definir el lote a muestrear, las cuales deben ser:

- Recinto donde se encuentran dispuestos/acopiados los contenedores (sacos), al momento de la inspección del personal del Servicio.
- Tipo sustrato/mezcla utilizada (compost, humus, tierra de hojas, etc.).
- Volumen del contenedor (saco).
- Origen/ procedencia del sustrato/ mezcla.
- Tiempo entre una partida y la siguiente no mayor a 3 meses.



Fotografía N° 8 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

Una vez establecidos los anteriores criterios, el(la) muestreador(a) debe usar la tabla de muestreo para problemas nematológicos, para determinar el tamaño de la muestra a extraer, de acuerdo a lo señalado en 3.3.4.

A. Procedimiento:

Se realiza el procedimiento descrito en 3.3.4, A.1 a A.5.

B. Otras consideraciones:

Considerar las señaladas en 3.2.2, B.2.

3.3 Muestreo de suelo, cuando hay desarrollo de plantas en el vivero

Corresponde a un muestreo tardío de establecimiento del vivero, cuando las plantas ya están dispuestas en el terreno y no se realizó la toma de muestras antes de que se plantara o sembrara el terreno. También esta situación se puede aplicar al muestreo de verificación de la sanidad de las plantas que han sido sometidas a tratamientos de control, después de que el resultado del muestreo de establecimiento dejó condicionada la producción de plantas.

El criterio más importante a considerar al momento de tomar una muestra para determinar presencia de nematodos fitopatógenos es realizar una inspección dirigida a plantas que presenten síntomas atribuibles a ataque de nematodos, tales como:

- Clorosis.
- Detención del crecimiento.
- Defoliación.

Se debe revisar la zona radicular de las plantas que presenten los síntomas indicados con antelación, para ver posibles daños radiculares (quistes, heridas) identificados con problemas nematológicos.

La muestra debe siempre incluir la zona radicular afectada y el sustrato asociado a ésta (Ver fotografía N° 9).



Fotografía N° 9

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

De no detectarse sintomatología asociada a nematodos, se deben coleccionar muestras atendiendo a las siguientes consideraciones:

- i. Sistema de producción utilizado y disposición espacial de los materiales vegetales presentes en el vivero: el(la) muestreador(a) debe definir el sector del vivero que será sometido a muestreo (invernadero, sombreadero, camas de propagación, canchas de producción en potrero con plantas establecidas directamente sobre el suelo, etc.).
- ii. Tipo de contenedor en que se encuentren los materiales vegetales/sustratos. Dentro de este contexto la muestra podrá consistir en:
 - Raíces con sustrato: cuando existan especies vegetales sobre el sustrato a muestrear, independiente si este se encuentre dispuesto directamente sobre terreno (suelo) o en contenedores (camas de propagación, sacos, macetas, bolsas, speedling, etc.).
 - Sustrato/suelo: debe ser incluido en toda muestra, a excepción de que las plantas se encuentren a raíz desnuda (previo a la venta, principalmente en el caso de frutales de hoja caduca).

3.3.1 Situaciones de muestreo en viveros establecidos

- Plantas establecidas en hilera, platabanda, espaldera, directamente sobre terreno.
- Plantas establecidas en camas de propagación.
- Plantas establecidas en bolsas, macetas (independiente de su capacidad).
- Plantas establecidas en speedling / bandejas de propagación.
- Plantas a raíz desnuda/ previo a la venta (viveros frutales).

3.3.2 Plantas establecidas directamente en terreno

Este muestreo de suelo debe llevarse a cabo cuando las plantas estén siendo producidas directamente sobre el terreno, dispuestas en un sistema de hilera, espaldera, platabanda.

Para sistema de producción tradicional es posible aplicar el criterio de superficie, si el origen de aguas de riego es similar. Otro criterio de selección de lotes, en este mismo ítem, puede ser por tipo de especies presentes en el vivero, ya que el resultado de los análisis afecta en forma distinta a cada grupo, en relación a las especies reguladas por el SAG. Podrán constituir distintos lotes de plantas frutales, ornamentales y plantas forestales.

El muestreo de suelo debe corresponder a un área representativa para lo cual debe considerarse:

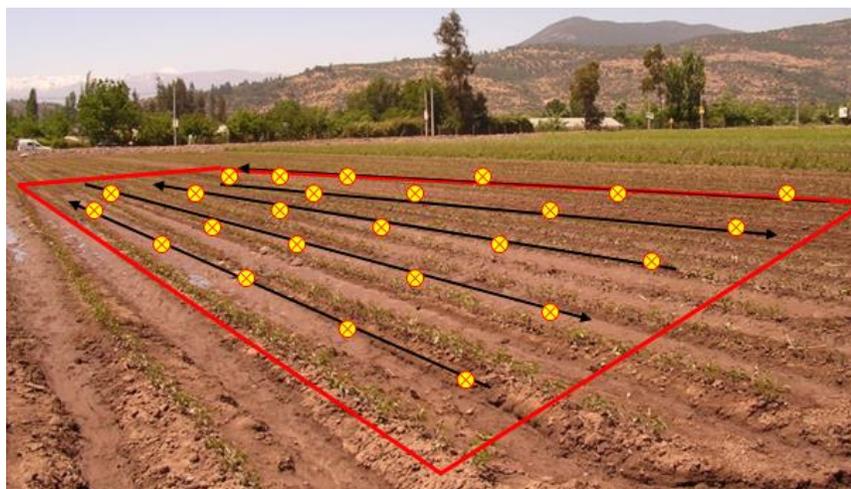
- Diferencias estructurales de suelo: franco, arcilloso, arenoso.
- Diseño de plantación (hilera, platabanda, hilera con sistema de conducción en espalderas), necesario para diseñar desplazamiento.
- Especie vegetal, necesaria para identificar posibles zonas en que deban aplicarse medidas de control ante resultados positivos.
- Sistema de riego y origen de las aguas.

Una vez considerados los puntos indicados con antelación, la superficie a muestrear debe dividirse en unidades de 0,5 ha (+-0.1 ha), manteniendo la siguiente relación:

$$\frac{1}{2} \text{ ha} = 1 \text{ muestra} = 25 \text{ submuestras}$$

A. Procedimiento:

- A.1 Seguir procedimiento similar al descrito en 3.2.2 Muestreo de suelo directamente sobre el terreno, A.1, a excepción del recorrido, el que se realiza conforme lo permita el sistema de producción.
- A.2 Recorrer la unidad de muestreo/ terreno, siguiendo una línea imaginaria coincidente con la dirección de la hilera de plantas/ surco de riego y cada 15 a 20 pasos/ metros extraer 1 submuestra de suelo (fotografía N° 10), la cual es depositada en un balde o bolsa plástica grande.
- A.3 Al terminar una hilera, se debe empezar con la segunda, a una distancia de 8 a 10 pasos/ metros de la anterior y así sucesivamente hasta completar la unidad de muestreo (0,5ha).



Fotografía N° 10 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

- A.4 Extraer cada submuestra de suelo/raicillas de la zona de proyección de la parte aérea de la planta, que sería coincidente con el área de exploración radicular y a una profundidad en que se encuentre la mayor densidad de raicillas, alrededor de 15 a 30 cm., dependiendo de la edad y desarrollo vegetativo de las plantas establecidas (Ver fotografías N° 11 y 12).



Fotografía N° 11 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)



Fotografía N° 12 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

Seguir indicaciones para el manejo de la muestra, identificación y traslado establecidos en 3.2.2 A.4 a A.7.

B. Otras consideraciones:

Considerar las señaladas en 3.2.2, B.2.

3.3.3 Plantas establecidas en camas de propagación

Este muestreo se aplica cuando las plantas se encuentran dispuestas dentro de camas de propagación, independiente de las dimensiones de éstas.

La unidad de muestreo, dependiendo principalmente del recinto donde se encuentre ubicada e independiente del número de camas existentes, debe ser considerada en base a:

- especie vegetal (variedad, atendiendo al universo de plantas presentes).
- sustrato/ mezcla utilizada.
- fecha de establecimiento, considerando un período no mayor a 15 días.
- en el caso de volúmenes importantes (alto número de camas de propagación) en que sean coincidentes los aspectos enumerados con anterioridad, se debe considerar adicionalmente variedad.

En base a lo anteriormente indicado, se debe considerar siempre la siguiente relación:

Cama(s) de propagación = 1 muestra = 25 submuestras

A. Procedimiento:

A.1 Para facilitar su identificación, se debe gestionar con el (la) viverista, la disposición de señalética que indique "MUESTREO OFICIAL" y la fecha de la toma de muestra.

A.2 El (la) Muestreador (a) debe confeccionar un croquis de muestreo, para identificar posteriormente los lugares positivos y negativos, usando el formulario F-GF-CGP-PT-128, el cual debe ser enviado al SAG junto con los resultados del análisis.

Cabe señalar, que el croquis de muestreo podría estar definido previamente por el Inspector/Fiscalizador del SAG en el documento Acta de Fiscalización de Viveros y Depósitos de Plantas F-FYS-FIS-PA-004, donde se indica el número y distribución de muestras, georreferencia del predio/muestra y que debe revisar el muestreador

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

Autorizado para realizar la actividad. Si ello es así, el muestreador debe coleccionar las muestras en el número y lugar que se indica en ese documento.

- A.3 Extraer 25 submuestras, que conforman la muestra de sustrato/raicillas, de diferentes sectores de la cama y de cada una de las camas que conforman la unidad de muestreo, si corresponde (Ver fotografía N° 13).



Fotografía N° 13

- A.4 Las submuestras deben ser extraídas a partir de todos los lados de la cama de propagación, a una profundidad de alrededor de 10 a 15 cm. (de acuerdo a las dimensiones de cada unidad), considerando el brazo del(la) muestreador(a) como referencia del área máxima a cubrir.
- A.5 La muestra de sustrato debe incluir raicillas provenientes de las plantas producidas en la(s) cama(s) muestreada(s) (Ver fotografía N° 14).



Fotografía N° 14

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE
MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y
REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO
OFICIAL EN VIVEROS**

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

A.6 Seguir procedimiento descrito en 3.2.2 Muestreo directamente a terreno, desde A.4 a A.7.

B.2 Otras consideraciones:

Considerar las señaladas en 3.2.2, B.2.

3.3.4 Plantas establecidas en contenedores (bolsas, macetas)

Este muestreo se aplica cuando las plantas están siendo producidas en bolsas o macetas, independiente de su capacidad.

El(la) muestreador(a) debe definir el material vegetal que será sometido a muestreo, atendiendo a:

- recinto donde las especies vegetales están siendo producidas/ acopiadas.
- sustrato/ mezcla utilizada.
- tipo de contenedor.
- especie vegetal/ variedad (separar frutales de ornamentales y forestales).
- fecha de establecimiento, un mismo lote de muestreo podría contener aquellas plantaciones de período no mayor a 30 días.

Una vez aplicados los criterios descritos con anterioridad, el(la) muestreador(a) debe usar la tabla de muestreo para problemas nematológicos, para determinar el tamaño de la muestra a extraer.

TABLA DE MUESTREO PARA PROBLEMAS NEMATOLÓGICOS-TMPN (*)

TAMAÑO LOTE Cantidad (contenedores, atados, bandejas)	TAMAÑO MUESTRA Cantidad (contenedores, atados, bandejas)
2 - 8	2
9 - 15	3
16 - 25	5
26 - 40	7
41 - 65	10
68 - 110	15
111 - 180	25
181 - 300	35
301 - 500	50
501 - 800	75
801 - 1.300	110
1.301 - 3.200	150
3.201 - 8.000	225
8.001 - 22.000	300
22.001 - 110.000	450
110.001 - 550.000	750
550.001 - y superiores	1.500

FUENTE

State of California, Department of Agricultura, 05 de enero de 1962, Gilbert L. Scout, Chief, Bureau of Plant Pathology, Prepared by: Alex M. French, Plant Pathologist, Ref.: Dr. A. French (USA)

A. Procedimiento:

- A.1 El(la) viverista, debe disponer de señalética que identifique la partida muestreada, indicando "MUESTREO OFICIAL", especie/variedad, número de contenedores que conforman el lote/partida y la fecha de la toma de muestra. Esta información debe ubicarse en la cabecera de cada lote muestreado.
- A.2 Las submuestras que conformarán la muestra deben ser extraídas desde la cantidad de contenedores indicados en la TMPN, de acuerdo al tamaño del lote. Cada contenedor debe generar una submuestra, cuyo volumen estará definido por el número total de contenedores a muestrear y la capacidad de éstos (Ver fotografía N° 15).



Fotografía N° 15 (gentileza Oficina Maipo, R.M. y Oficina Antofagasta, II Región)

- A.3 El(la) muestreador(a) debe extraer la submuestra en forma aleatoria y a partir de contenedores que se encuentren dispuestos en diferentes zonas del lote/ partida (Ver fotografía N° 16).



Fotografía N° 16 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

- A.4 Cada submuestra es obtenida enterrando la pala (u otra herramienta adecuada al tamaño del contenedor, ej: cucharas, sacabocados, etc.) a una profundidad relacionada con la capacidad del contenedor a muestrear y seleccionando el sustrato que se encuentre adherido a la pala en la zona inferior de ésta. (Ver fotografía N° 17).

MUESTRA



Fotografía N° 17 (gentileza Oficina Maipo. R.M.)

A.5 Seguir con el procedimiento descrito en 3.2.2 Muestreo directamente a terreno, desde A.4 a A.7. Ver fotografía N° 18.



Fotografía N° 18 (gentileza Oficina Maipo y Vivero Blue Berries, R.M.)

A.6 Cuando se realice el muestreo de plantas en contenedor, siempre se debe incluir raicillas, las cuales se depositan directamente en la bolsa que contendrá la muestra de sustrato definitiva.

B.2 Otras consideraciones:

Considerar las señaladas en 3.2.2, B.2.

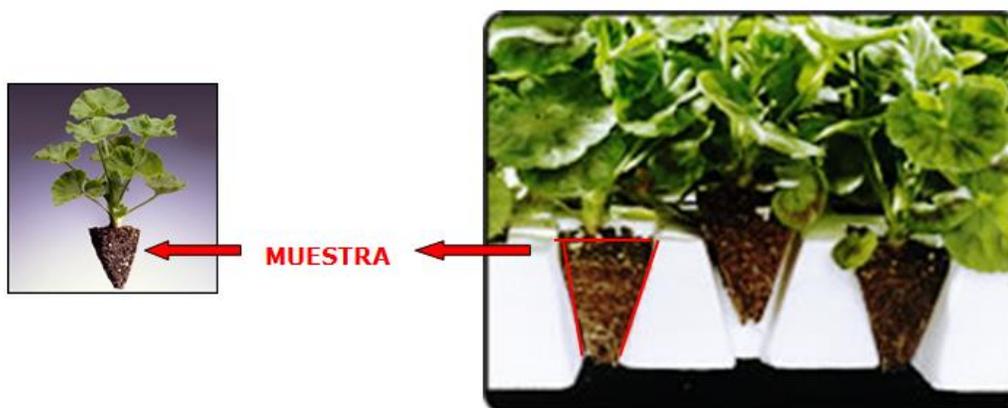
3.3.5 Plantas establecidas en speedling/ bandejas de propagación

Este muestreo se aplica cuando las plantas están siendo producidas en bandejas de propagación, independiente del número de alvéolos que las bandejas tengan y la capacidad de cada uno de ellos.

El(la) muestreador(a) debe seguir las mismas indicaciones descritas en 3.3.4, con las siguientes excepciones:

- Tamaño del lote: se define considerando que cada bandeja equivale a una unidad, por lo que es asimilable a un contenedor (maceta, bolsa).

- Para selección de submuestras, utilizar la TMPN. Cada submuestra debe corresponder a una fracción/totalidad del contenido de un alvéolo (sustrato/raicillas), dependiendo de los volúmenes a muestrear y las dimensiones de los alvéolos, de la cual se excluirá la parte aérea de la planta en desarrollo (Ver fotografía N° 19).



Fotografía N° 19

A. Procedimiento:

El (la) Muestreador (a) debe llevar a cabo el procedimiento descrito en 3.3.4 plantas establecidas en contenedores (bolsas, macetas), desde A.1 a A.4.:

A.1 Se debe extraer a lo menos una submuestra por cada bandeja que forma parte de la muestra. En caso de grandes volúmenes de bandejas a muestrear, se debe hacer prevalecer este criterio, sacando una fracción del contenido del alvéolo, de forma tal que la muestra tenga un peso de 1,0 kg. (Ver fotografía N° 20).

A.2 Continuar con el procedimiento descrito en 3.2.2 Muestreo de suelo directamente sobre el terreno, desde A.4 a A.7.

B.2 Otras consideraciones:

Considerar las señaladas en 3.2.2, B.2.





Fotografía N° 20

3.3.6 Plantas a raíz desnuda/ previo a la venta (viveros frutales)

Este muestreo se aplica cuando las plantas se encuentran a raíz desnuda, previo a la venta, y se mantiene sobre ellas una restricción respecto a su condición nematológica generada durante el período de producción de las mismas. Producto de esta situación, el(la) viverista debe someter al suelo afectado/parte radicular de las plantas a tratamientos de control de nematodos, situación que debe ser conocida por el personal que muestrea, para no sobreexponerse a dichos productos.

Este tipo de muestreo se caracteriza porque se extraen sólo raicillas y de preferencia las plantas deben encontrarse ya establecidas en las canchas definitivas, a partir de las cuales van a ser despachadas a los adquirientes. Esta precaución debe mantenerse, en el sentido de minimizar las recontaminaciones de la zona radicular al estar en contacto con sustratos de los cuales se desconoce su condición nematológica.

El(la) muestreador(a) debe definir el lote de muestreo, atendiendo a:

- Cancha/ barbecho donde las especies vegetales están siendo producidas/ acopiadas.
- Especie vegetal/ variedad, asociada a suelo/ sustrato con problemas nematológicos durante su producción.
- Fecha de establecimiento/ acopio, considerando un período no mayor a 10 días.
- Tipo de tratamiento nematicida utilizado y/o modo de acción de los productos químicos utilizados.

Una vez aplicados los criterios descritos con anterioridad, el(la) muestreador(a) debe usar la TMPN, para determinar el tamaño de la muestra a extraer (Ver 3.3.4).

A. Consideraciones Generales:

El(la) muestreador(a) debe tener presente las siguientes situaciones antes de proceder al muestreo de una partida:

- Identificar las especies vegetales que se encuentran asociadas a sectores comprometidos con problemas nematológicos, producto de muestreos previos.
- Identificar claramente el lugar donde se mantienen acopiadas las plantas muestreadas.

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

- La contraparte del vivero debe llevar un registro de cosecha, tratamientos, barbechos y despachos de las plantas afectadas/ muestreadas.
- No muestrear materiales vegetales que no hayan cumplido con el período de reingreso, después de haber sido sometidos a tratamientos con productos químicos.

B. Tipo de muestra:

Para realizar el muestreo dirigido a la extracción de raicillas, se debe tener presente que:

- La muestra consiste en 10 gr. de raicillas, pelillos finos, dado que los más gruesas no sirven.
- Las plantas muestreadas no necesariamente son destruidas, dado que se extrae una fracción de su sistema radicular.
- La muestra de raicillas debe ser protegida inmediatamente del calor y la desecación, guardada en frío hasta su despacho al laboratorio y enviada lo más pronto posible a éste.

C. Procedimiento:

C.1 Registrar el lugar donde se ubica(n) la(s) plantas/atados de plantas a muestrear, identificando claramente el sitio donde se encuentran, usar formato de croquis indicado en formulario F-GF-CGP-PT-128. El croquis debe ser enviado al SAG junto con los resultados del análisis.

Cabe señalar, que el croquis de muestreo podría estar definido previamente por el Inspector/Fiscalizador del SAG en el documento Acta de Fiscalización de Viveros y Depósitos de Plantas, F-FYS-FIS-004, donde se indica el número y distribución de muestras, georreferencia del predio/muestra y que debe revisar el muestreador del laboratorio autorizado para realizar la actividad. Si ello es así, el muestreador debe colectar las muestras en el número y lugar que se indica en ese documento.

C.2 Para facilitar su identificación, el(la) viverista, debe disponer de señalética que indique "MUESTREO OFICIAL/ RETENIDO", especie/variedad, número de plantas/atados de plantas y la fecha de la toma de muestra.

C.3 Extraer las submuestras, que conforman la muestra de raicillas, de los atados previamente seleccionados al azar (Ver fotografía N° 21).



Fotografía N° 21 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE
MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y
REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO
OFICIAL EN VIVEROS**

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

C.4 Las submuestras estarán constituidas sólo por raicillas de menor diámetro, las cuales deben ser retiradas de la zona radicular de la planta haciendo uso de una tijera (Ver fotografías N° 22 y 23).



Fotografía N° 22 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

Las raicillas colectadas (sobre 10 gramos), deben ser colocadas en papel absorbente humedecido, de forma tal que las cubra completamente, después de lo cual deben ser ubicadas dentro de bolsas de polietileno, cerrándolas completamente, para que la muestra no pierda su humedad (Ver fotografía N°24).



Fotografía N° 23 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)



Fotografía Nº 24 (gentileza Oficina Maipo, R.M.)

C.6 Continuar con el procedimiento descrito en 3.2.2, A.6 y A.7

D. Aplicación de la tabla de muestreo para problemas nematológicos:

Ejemplo 1:

D.1 Tamaño del lote a muestrear: 400.000 vides (8.000 atados/ 50 vides por atado)

D.2 Número de plantas a muestrear: Consultar tabla de muestreo para problemas nematológicos, columna tamaño lote y ver que muestra le corresponde:

<u>Tamaño del lote</u>	<u>Tamaño de la muestra</u>
110.001 – 550.000 vides	750 plantas de vides

D.3 Número de atados a muestrear (8.000): Consultar nuevamente tabla de muestreo para problemas nematológicos, columna tamaño lote y ver que muestra le corresponde:

<u>Tamaño del lote</u>	<u>Tamaño de la muestra</u>
3.201 – 8.000 atados	225 atados de plantas

D.4 Procedimiento:

- Seleccionar 225 atados al azar de la totalidad de las vides a comercializar
- Muestrear 750 plantas extraídas de los atados seleccionados:

De 150 atados, sacar raicillas de 3 plantas de c/u =450 plantas

De 75 atados, sacar raicillas de 4 plantas de c/u =300 plantas

Total: 225 atados =750 plantas

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE
MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y
REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO
OFICIAL EN VIVEROS**

Código: D-GF-CGP-PT-028
Versión:02

Ejemplo 2:

D.1 Tamaño del lote a muestrear: 15.000 ciruelos (600 atados/ 25 ciruelos por atado)

D.2 Número de plantas a muestrear: Consultar tabla de muestreo para problemas nematológicos, columna tamaño lote y ver que muestra le corresponde:

Tamaño del lote

Tamaño de la muestra

8.001 – 22.000 ciruelos

300 plantas de ciruelos

D.3 Número de atados a muestrear (600): Consultar nuevamente tabla de muestreo para problemas nematológicos, columna tamaño lote y ver que muestra le corresponde:

Tamaño del lote

Tamaño de la muestra

501 – 800 atados

75 atados de plantas

D.4 Procedimiento:

- Seleccionar 75 atados al azar de la totalidad de los ciruelos a comercializar
- Muestrear 300 plantas extraídas de los atados seleccionados:

De 75 atados, sacar raicillas de 4 plantas de c/u = 300 plantas

Total: 75 atados = 300 plantas

 <p>SAG Ministerio de Agricultura Gobierno de Chile</p>	<p>INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA LA CAPTACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO/SUSTRATOS/RAÍCES Y REALIZACIÓN DE ANÁLISIS NEMATOLÓGICO OFICIAL EN VIVEROS</p>	<p>Código: D-GF-CGP-PT-028 Versión:02</p>
--	---	---

10. FORMULARIOS



**FORMULARIO DE IDENTIFICACIÓN
DE ANALISTAS**

Código: F-GF-CGP-PT-124
Versión:01

Identificación del laboratorio:

Nombre/razón social:

Cédula de identidad N°/RUT:

Personal que se desempeñará como analista:

Nombre Completo	N° cédula de identidad	Firma

Firma del postulante o del representante legal

Fecha:



**FORMULARIO DE IDENTIFICACIÓN DE PERSONAL
PARA LABORES DE MUESTREO**

Código: F-GF-CGP-PT-125
Versión:01

Identificación del laboratorio:

Nombre/razón social:

Cédula de identidad N°/RUT:

Personal para las labores de muestreo:

Nombre Completo	N° cédula de identidad	Firma

Firma del postulante o del representante legal

Fecha:

AVISO DE MUESTREO NEMATOLÓGICO EN VIVEROS

Código: F-GF-CGP-PT-126
Versión:01

Fecha del Aviso:			
Nombre Laboratorio Autorizado			
Fecha de Muestreo			
Hora de Muestreo			
Nombre del Vivero			
Registro del Vivero			
Propietario			
Dirección del predio			
Localidad		Región	
Hospedante			
Tipo de muestra	Suelo/sustrato		Raíces
	Inicial		Verificación
Nombre Muestreador		Fono	
Nombre Contacto del Vivero			
Croquis de Ubicación del Vivero (Indicar caminos y puntos de referencia para llegar al predio).			
Este aviso debe enviarse a la Oficina SAG correspondiente a la dirección del predio, por lo menos 2 días hábiles antes de la toma de muestra.			

Fecha:

NOMBRE LABORATORIO AUTORIZADO:

1. ACTIVIDADES EN TERRENO

1.1 ANTECEDENTES GENERALES

Nombre del Muestreador	<input type="text"/>
Nombre del Vivero	<input type="text"/>
Registro SAG del Vivero	<input type="text"/>
Nombre del Predio o Cuartel	<input type="text"/>

1.2 ASPECTOS EVALUADOS	CALIFICACIÓN	OBSERVACIÓN
Dispone de personal autorizado	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Dispone de Plano del Vivero	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Dispone de materiales necesarios (pala, bolsa, cooler, ice pack)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Desinfección de herramientas	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Recolección adecuada de muestras. (N° submuestras-recorrido-profundidad-humedad)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Identificación de la muestra	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Condiciones de traslado de la muestra	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Otros(especificar)	<input type="text"/>	<input type="text"/>

1.3 CONTRAMUESTRA PARA ANÁLISIS LABORATORIO SAG	SI	NO
--	----	----

2. ACTIVIDADES ADMINISTRATIVAS

2.1 ASPECTOS EVALUADOS	CALIFICACIÓN	OBSERVACIÓN
Aviso de Toma de muestra	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Cumple con horario programado	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Otros (especificar)	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Calificación: C: Cumple NC: No cumple N/E: No evaluado C/O: Cumple con observaciones

3. COMENTARIOS, RECOMENDACIONES Y PLAZOS:

Nombre y Firma Supervisor

Firma Jefe de Equipo o Acreditado

CROQUIS DE MUESTREO DEL VIVERO

Código: F-GF-CGP-PT-128
Versión:01

INDICACIONES PARA EL LLENADO DEL DOCUMENTO:

- Dibujar el predio indicando el lugar exacto donde se toma la muestra.
- Indicar superficie y dimensiones (en metros) de los sectores muestreados.
- Indicar puntos de referencia respecto a caminos interiores, cuarteles, edificaciones, etc., indicando la distancia (en metros) respecto de los puntos señalados.
- Indicar coordenadas geográficas, tomadas en el borde de la/s parcela(s) seleccionada(s), usando DATUM WGS 84 y unidades UTM, si dispone de GPS.

NOMBRE SOLICITANTE	FIRMA SOLICITANTE

