1. ALCANCE

El muestreo en campo o durante crecimiento activo, puede considerar distintos productos a certificar, esto es semillas, plantas o partes de plantas (de aquí en adelante "plantas"), bulbos, tubérculos o cualquier otra estructura subterráneade propagación. Este producto puede estar restringido a alguna modalidad específica de certificación para un mercado y un producto particular, lo cual debe estar indicado en Requisitos por País o en el protocolo específico del producto a certificar.

Los lineamientos para el muestreo, que incluyen el tipo de tejido a enviar al laboratorio (follaje, planta completa, brotes, suelo, etc.),momento óptimo en la temporada para la toma de la muestra, su preparación para el envío al laboratorio, la técnica a utilizar en los análisis (cámara húmeda/Blotter, ELISA, PCR, medios de cultivo, etc.), el número de análisis que podrían ser necesarios (repeticiones), entre otros, son establecidos por los especialistas de las distintas disciplinas de los laboratorios. Según estos lineamientos, el supervisor debe confeccionar un Programa de inspecciones y toma de muestras.

Estos lineamientos son entregados en los Talleres de Reconocimiento de Signos y Síntomas de Plagas que se realizan se forma anual para capacitar a inspectores y supervisores que toman muestras para certificar material de propagación de exportación. En caso de que se requiera un análisis caso a caso se debe realizar la consulta al equipo que conforma la Sección MAPRO del Nivel Central, mediante correo electrónico.

Se debe considerar que, para la especialidad de virología en plantas de exportación, se ha establecido que la fecha óptima de muestreo es durante el crecimiento activo del cultivo en primavera o en su defecto, se podrá muestrear en otoño, evitando las temperaturas extremas. **Quedan excluidos de este lineamiento los materiales in vitro, aquellos que se mantengan en crecimiento activo todo el año y el cultivo de frutilla, además de inspección en crecimiento activo de bulbos y semilleros.**

1.1. Disciplinas

Las disciplinas partícipes de esta etapa corresponden a:

- Acarología
- Bacteriología
- Entomología
- Malherbología
- Micología
- Nematología
- Virología

2. Registro e Identificación del lugar de producción

Para el caso de certificación de semilleros y de plantas que lo requieran, el lugar de producción se debe inscribir en el sistema IDASE, para Bulbos se utiliza el formulario "Inscripción de productor y sitios de producción de bulbos de lirio" y para plantas o muestreo de suelo se utiliza el formulario F-CER-VPE-PA-001 "Solicitud de Certificación Fitosanitaria para Material de Propagación de Exportación".

Es necesario contar con las coordenadas en UTM y mapa para acceder al Sitio de Producción, el cual debe adjuntar el usuario al momento de solicitar la inscripción.

Previo al muestreo se deberá constatar, en el lugar de producción, la existencia de una identificación del material, el cual debe concordar con lo señalado en la Solicitud de Certificación.

3. Tipos de muestreo

Según el material que se requiera certificar y el tipo de plagas solicitadas, se presentan dos grandes grupos de muestreo:

- Muestreo en cultivos para producción de semillas, plantas y bulbos.
- Muestreo de suelo para nemátodos quistes.

3.1 Muestreo cultivos para producción de Semillas, Plantas y Bulbos.

En el caso de certificación de semilleros para producción de semillas, de bulbos y de plantas, el muestreo en campo irá siempre dirigido a síntomas o signos de las plagas manifestados en las plantas. De no visualizarse síntomas o signos, la toma de muestras será en forma aleatoria y representativa del lugar de producción.

3.1.1. Definición de semillero

El semillero está compuesto por una misma especie y variedad, debe estar ubicado en un mismo sitio de producción y no deben existir más de 10 metros de separación entre dos potreros que conforman un mismo semillero.

3.1.2. Estado Fenológico.

El semillero debe contener material con un estado fisiológico uniforme.

3.1.3. Metodología de inspección y muestreo.

Para la toma de las muestras, el inspector de exportaciones podrá optar a alguna modalidad de muestreo, sea esta en un recorrido en zig-zag o de cruce entre los extremos o alternando hileras o camas, etc., del lugar de producción (potrero, lote, sitio de producción, etc.), sin descartar que el muestreo pudiera ir dirigido a una zona en la que se visualicen síntomas o algún problema en las plantas, y que estos pudiesen estar asociados a plagas.

El tipo de tejido a enviar a laboratorio queda establecido en los lineamientos señalados por los especialistas del laboratorio del Servicio, para cada una de las disciplinas. Dependiendo de la plaga, podrá corresponder a brotes, follaje, planta completa, fruto, estructura reproductiva, etc.

A continuación, se indica a grandes rasgos, el tipo de tejido que deberá captarse en el muestreo, el cual dependerá del patógeno a determinar y del cultivo a certificar, para este último y en el caso de plantas, deberá considerarse si se tratará de planta adulta o de planta in vitro, en el caso de plantas in vitro el envío siempre corresponderá a planta completa:

Tabla 1. Tipo de muestra según producto y disciplina.

Producto a certificar	Disciplina	Estado Fenológico	
		Crecimiento activo	Latencia
Semillas	Micología	- Planta completa - Parte aérea (planta sin raíz, follaje, tallo, inflorescencia u otro) - Parte radicular	No Aplica
	Virología	Brotes completos (que incluyan ápices y hojas completas) Follaje	No Aplica
	Bacteriología	- Follaje - Frutos - Planta completa - Tallo o rama - Inflorescencia - Vainas	No Aplica
	Nematología	- Planta completa - Parte aérea	No Aplica
	Malherbología	Planta completa de la maleza,que debe incluir la flor	No Aplica
Bulbos y Tubérculos	Micología	- Planta completa - Parte aérea (follaje, tallo) - Bulbo	No Aplica
	Virología	- Follaje - Parte aérea - Planta completa	No Aplica
	Bacteriología	- Follaje - Parte aérea - Planta completa	No Aplica
	Nematología	- Bulbos - Planta completa - Suelo con raíces	- Bulbo - Suelo (ver punto 2)
Plantas	Micología	- Planta completa - Rama - Brote	- Planta completa
	Virología	- Follaje - Brote	Rama de 20 a 30 cm(con yemas)
	Bacteriología	- Planta completa - Rama	- Planta completa - Rama
	Nematología	Suelo con raíces/raicillas	Suelo con raíces
	Malherbología	Planta completa de la maleza,que debe incluir la flor	Planta completa de la maleza, que debeincluir la flor

Una vez se obtenga la muestra en el lugar de producción, ésta deberá mantenerse en condiciones que aseguren su aptitud para el análisis en el laboratorio, para ello el inspector de exportaciones deberá contar con los implementos de almacenaje que permitan asegurar una cadena de frío desde la toma de muestra en el lugar de producción hasta la entrega de ésta en el laboratorio (contenedores plásticos o de poliestireno expandido y gel pack u otro elemento que permita mantener la cadena de frío). Para el caso de las muestras de suelo, éstas deberán ser almacenadas en un lugar sin luz, no debiendo ser expuestas al sol ni a temperaturas extremas (temperatura óptima de 7°C).

Respecto a la preparación de la muestra en sí, las que se envíen a las disciplinas de micología y bacteriología, deberán ser envueltas en papel absorbente sin necesidad de humedecerlo; mientras que las que se envíen a la disciplina de virología, nematología y malherbología se envolverán en papel absorbente levemente humedecido (un exceso de humedad facilitará la aparición de otros patógenos que dañarán la muestra). Las muestras de suelo para análisis nematológico, serán enviadas en bolsas plásticas.

Cabe recordar, que el envío de las muestras al laboratorio debe realizarse en el menor tiempo posible.

Para el caso de lugares de producción de **plantas de exportación**, se deberán realizar entre 9 a 10 puntos dentro de la superficie total, y se deben enviar submuestras al laboratorio, el número de plantas a agrupar por submuestra dependerá de la especialidad y el tipo de análisis a realizar, a cada submuestra se le debe asignar un correlativo.

Cuando se requiere certificar **bulbos de exportación** en crecimiento activo, se debe tomar una muestra de 5 plantas por lote, a menos que el país de destino indique una intensidad distinta, la cual estará indicada en Requisitos por País.

Cuando se requiere certificar **tubérculo-semilla de papa** en crecimiento activo, la muestra corresponde a tubérculos con raicillas, corona y suelo asociado. La intensidad de muestreo para determinación de formas móviles y nematodos quiste es la siguiente:

Tabla 2. Intensidad de muestreo para tubérculos.

Superficie Semillero (ha)	Número de tubérculos muestra
< 0.2 ha	45
0.21 a 2.5 ha	59
2.51 a 10 ha	90

> 10 ha	90

La muestra obtenida para la especialidad de nematología debe enviarse a un laboratorio autorizado por el Servicio para la determinación de formas móviles y/o enquistadas, mediante taxonomía tradicional o técnicas moleculares.

3.1.4. Agrupación de muestras.

En el caso de tubérculo-papa semilla, la muestra obtenida se separará en una submuestra cada 30 tubérculos, las cuales serán analizadas por separado.

En el caso de plantas de exportación, dependiendo de la presentación de las plantas, es decir, planta adulta, planta en maceta con más de un eje o planta en maceta con un eje, se agruparán de la siguiente forma:

Tabla 3. Agrupación de muestras según presentación y especialidad.

Presentación	Tipo de muestra	Agrupación virología (*)	Agrupación bacteriología	Agrupación micología
Planta adulta	4 ramillas tomadas de la zona media de cada planta y en las distintas orientaciones cardinales. Cada ramilla con al menos 4 hojas.	3 plantas (Las 4 ramillas de cada planta deben venir unidas mediante amarra o cinta).	3 plantas (Las 4 ramillas de cada planta deben venir unidas mediante amarra o cinta).	3 plantas (Las 4 ramillas de cada planta deben venir unidas mediante amarra o cinta).
	Para plagas de cuello y raíces, seleccionar zona de raíces incluyendo raicillas.	No aplica	3 plantas	5 plantas
Planta en maceta con más de un eje	1 ramilla por eje de cada planta. Cada ramilla con al menos 4 hojas.	3 a 5 plantas (Las ramillas de cada planta deben venir unidas mediante amarra o cinta).	5 plantas (Las ramillas de cada planta deben venir unidas mediante amarra o cinta).	5 plantas (Las ramillas de cada planta deben venir unidas mediante amarra o cinta).
	Para plagas de cuello y raíces, seleccionar planta completa.	No aplica	5 plantas	8 plantas
Planta en maceta un solo eje	Zona apical de cada planta con al menos 6 hojas	3 a 5 plantas	5 plantas	8 plantas

	Para plagas de cuello y raíces, seleccionar planta completa		5 plantas	8 plantas
Plantas pequeñas en bandejas	Planta completa	3 a 5 plantas	6 plantas	10 plantas
Planta in vitro	Planta completa	3 plantas	8 plantas	10 plantas

(*) 3 plantas utilizando ELISA, 5 plantas utilizando PCR.

En el caso de entomología y nematología no se realizan submuestras.

3.1.5 Especificaciones para semilleros con líneas experimentales.

El semillero puede estar compuesto por más de una variedad o línea experimental y puede presentarse al aire libre o bajo resguardo. Dependiendo del sistema de producción se aplicará un criterio de muestreo específico.

3.1.5.1 Estado de desarrollo o fecha de siembra

La fecha de siembra de distintas variedades no puede diferir en más de 15 días en un mismo semillero.

3.1.5.2 Variedades por semillero e intensidad de muestreo.

a) Semillero a cielo abierto:

Para muestras asintomáticas y sintomáticas se debe enviar una muestra por disciplina, muestra que puede estar conformada por 1 planta si es que no se presentan síntomas, o hasta 3 plantas en caso de detectar síntomas.

Si el material es escaso la muestra puede ser compartida y tomar una planta muestra, lo cual debe analizarse caso a caso.

Tabla 4. Intensidad de muestreo según cantidad de líneas experimentales a cielo abierto.

Cantidad de variedades o líneas experimentales	Cantidad de muestras por especialidad	Cantidad total de plantas a enviar por especialidad
1	1	3
2 a 100	2	2 a 6
101 a 150	3	3 a 9
151 a 200	4	4 a 12
201 a 250	5	5 a 15
251 a 500	6	6 a 18
501 a 1000	9	9 a 27

b) Semillero bajo resguardo

Se considera que cada invernadero o jaula es un semillero independiente. Se permitirá un máximo de 60 líneas experimentales, aplicando la intensidad de muestreo según tabla:

Tabla 5. Intensidad de muestreo según cantidad de líneas bajo resguardo.

Cantidad de variedades o líneas experimentales	Cantidad de muestras por especialidad
1 a 30	1
31 a 60	2

3.1.5.3 Análisis por muestra

A cada muestra obtenida por especialidad, se le debe asignar un correlativo, por cada correlativo se deben solicitar las plagas que requiere el país de destino.

3.2 Muestreo de suelo para nemátodos quistes.

El muestreo de los nemátodos quistes (*Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*) en lugares de producción de bulbos, tubérculos u otras estructuras de propagación subterráneas y de plantas, será dirigido exclusivamente al suelo, para lo cual se recurrirá al uso de la siguiente tabla:

Tabla 6. Intensidad de muestreo nemátodos en suelo.

Superficie de cultivo (Ha)	N° de hectáreas a muestrear	N° de muestras de suelo
Menos de 2	0,5	2
2 a 4.9	1	4
5 a 8.4	2	8
8.5 a 11.9	3	12
12 a 14.9	4	16
15 a 18.4	5	20
18.5 a 21.4	6	24
21.5 a 24.9	7	28
25 a 27.9	8	32
28 a 31.9	9	36
32 a 34.9	10	40
35 a 38.4	11	44
39 a 41.9	12	48
42 a 44.9	13	52
45 a 48.4	14	56
48.5 a 51.9	15	60
52 a 54.9	16	64
55 a 58.4	17	68
58.5 a 61	18	72

Las muestras captadas tendrán que ser almacenadas en un lugar sin luz, no exponiéndolas al sol ni a temperaturas extremas (temperatura óptima de 7°C).

La muestra mínima corresponderá a 1 kilo de suelo. Referencia: 25 submuestras para un kilo cada 0,5 ha.

4. Otros muestreos

De presentarse otras exigencias de muestreo, establecidas por alguna Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) del país importador (como por ejemplo un Protocolo específico), éstas serán mandatarias sobre lo indicado en los puntos anteriores.

Para materiales de investigación o situaciones de escaso material, el muestreo será evaluado caso a caso.

5. Resultado de la Inspección y muestreo

El IDASE de campo, es el documento que avala que el material se encuentra libre de las plagas requeridas por el país de destino, las cuales se certificaron durante el crecimiento activo del producto.

Este documento lo emite quien realiza la inspección y/o muestreo y es un documento válido para presentar en otra región u oficina al momento de la inspección fitosanitaria o directamente en el Punto de Salida cuando es una inspección directa.