



DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN DE LA CAÑA DE AZÚCAR



DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGÍA Y VERTEBRADOS

**METODOLOGÍA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS
DEL ÁCARO DE LA CAÑA DE AZÚCAR
Abacarus sacchari Channabasavanna**

**Ing. Eduardo Alvarado Echeverría
Control de Calidad**

GRECIA, 2008

**METODOLOGÍA PARA CUANTIFICAR INDIVIDUOS DEL ACARO
DEL HERRUMBRE; *Abacarus sacchari* EN PLANTAS DE CAÑA DE AZUCAR
LAICA-DIECA COOPEAGRI SFE-MAG**

METODOLOGÍA PARA MUESTREO Y CUANTIFICACIÓN

FASE I. MUESTREO EN CAMPO

a. Muestreo de hojas +2.

De acuerdo a los estudios previos a la presente metodología, se determinó que en las plantas de caña de azúcar evaluadas tanto en el Valle Central, como en Puntarenas, la población más estable y de menor variabilidad de ácaros activos se ubica en la hoja +2. Para dicho efecto se recolectaron cogollos de variedades diferentes; a partir de cada cogollo se contó el total de individuos por cada hoja (0, +1, +2, +3, +4), discriminando entre el haz, el envés y los tercios de cada una. Los resultados fueron los siguientes:

POR HOJA				
Hoja	Promedio	Desv. Est.	Promedio	Desv. Est.
	Haz		Envés	
0	8,2308	11,2632	6,6923	4,6437
+1	4,8462	3,9759	18,3077	12,6187
+2	4,5385	3,8647	20,6154	18,2781
+3	2,8462	2,7033	16,5385	14,7004
+4	2,2308	1,8328	10,3846	8,3321

A partir de este cuadro de resultados se observa como en las hojas +3 y +4 la cantidad de individuos se reducen respecto a las hojas más nuevas, lo que se puede considerar que esa condición sea un factor de descarte para los fines deseados. Se explica además como se observó, que los ácaros se mantienen, de acuerdo a sus hábitos de alimentación, buscando tejido nuevo por lo cual se van desplazando hacia las hojas nuevas; por esta razón es que las hojas 0, +1 y +2 presentan mayores promedios de individuos. Sin embargo la variabilidad de sus valores en las dos primeras es más amplia que la presentada por la hoja +2.

b. Definición de puntos de muestreo en el lote y tamaño de muestra.

Teniendo claro cual es el lote de determinada variedad a muestrear, se procede a establecer los puntos de muestreo de los cuales se extraerán las hojas a evaluar. Se recomienda establecer tres puntos, en zonas representativas del lote, que no se ubiquen en las orillas del mismo, sino más bien hacia el centro. A partir de cada punto de muestreo, se toman tres muestras de plantas siguiendo los puntos cardinales. De esta forma se extraen como mínimo 9 hojas +2 por lote.

c. Recolección de individuos.

Una vez cortada la hoja +2 se lleva a un lugar de condiciones adecuadas para procesarla.

- Con unas tijeras se corta la hoja en 4 ó 5 segmentos (Fig1). Esto permite no solamente facilitar la recolección de individuos de una manera más certera, sino que además

favorece la limpieza de la misma, evitando las impurezas que afecten el posterior proceso de conteo.



Fig1. Corte de la hoja en 4 segmentos.

- Cada segmento de hoja se lava uniformemente con una pizeta con alcohol al 70%, y sobre un balde de tamaño adecuado, de tal forma que el alcohol sea recolectado en el mismo (Fig2). Este lavado debe realizarse por lo menos 3 veces, procurando recolectar la mayor cantidad de individuos posible.



Fig2. Lavado de los segmentos.

- El alcohol utilizado en el lavado de una hoja, se deposita en un recipiente adecuado para su traslado posterior al laboratorio, transfiriendo el líquido del balde al recipiente (Fig3). Este recipiente debe llevar un trozo de papel en el cual se escribirá con lápiz la variedad, lugar y fecha de la recolección, para identificar la muestra.



Fig3. Traslase del alcohol a recipiente.

- Se recomienda utilizar un recipiente de vidrio con tapa hermética para procurar mantener la integridad de la muestra obtenida.

- El total de recipientes se colocan preferiblemente en una caja, que favorezca una estiba adecuada de los mismos y evitar quebraduras o derrames de alcohol que alteren la uniformidad de la muestra.

De esta forma se recolecta un número x de muestras las cuales son llevadas de manera inmediata al laboratorio para continuar con la siguiente fase.

FASE II. ANÁLISIS EN LABORATORIO

a. Tamizado de la muestra.

- Con ayuda de un tamiz N° 350 (0.045mm), se filtra cada muestra para reducir su tamaño y ayudar a eliminar impurezas (Fig4).



Fig4. Filtrado de muestra en tamiz.

- Con una pizeta se recoge por lavado el contenido de la muestra dirigiendo el chorro hacia el centro del borde del tamiz (Fig5).



Fig5. Agrupación de la muestra hacia el centro del borde.

- En un recipiente se deposita la muestra ya reducida por efecto del tamizado (Fig6). Aquí se debe repasar al menos 2 veces el lavado del borde para evitar dejar ácaros en el mismo.



Fig6. Recolección de muestra definitiva.

b. Filtrado al vacío.

- Una bomba de vacío adecuada y un sistema de Kitasato especial para filtrar partículas pequeñas son los instrumentos utilizados en el siguiente paso (Fig7).

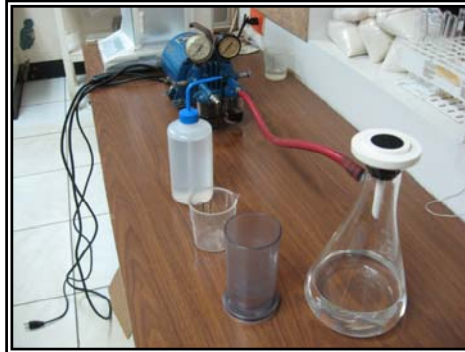


Fig7. Bomba de vacío y kitasato.

- Una vez instalado todo el sistema se coloca un filtro constituido por una membrana de nitrocelulosa en el Kitasato para filtrar la muestra (Fig8). Dicha membrana es cuadrículada, lo cual favorece enormemente el conteo posterior de individuos, y para esto se colorea con un pilot azul permanente previo a su colocación. El color azul en la membrana contrasta favorablemente con el color de los ácaros, lo cual ayuda también a contar más eficientemente.



Fig8. Membrana de Nitrocelulosa en Kitasato

- Se enciende la bomba de vacío y la muestra se deposita en el embudo especial del Kitasato (Fig9). Se debe tener especial cuidado de repasar con la pizeta el recipiente de la muestra para recolectar cualquier individuo que quede en las paredes del mismo.



Fig9. Embudo del Kitasato para filtrar muestra.

- Una vez que se completa el filtrado, la muestra está lista para su lectura.

c. Conteo de ácaros.

- La membrana de nitrocelulosa se extrae de la base del Kitasato. La cuadrícula de la membrana funciona para el conteo, enumerando del 1 al 11 las columnas incluidas dentro de la circunferencia marcada por la base interna del Kitasato. Así, es posible y más fácil contar ordenadamente y sin riesgo de error (Fig10).

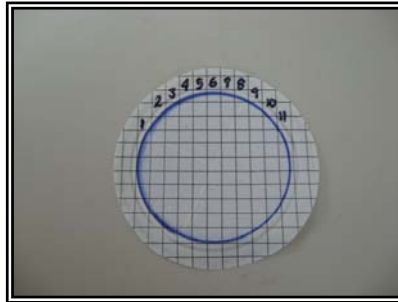


Fig10. Enumeración de columnas del área de conteo.

- Una vez enumeradas las columnas, la membrana es colocada entre dos vidrios de soldadura transparentes. De esta forma la membrana, que es muy susceptible a la humedad no se doblará durante el conteo por el peso del vidrio, manteniéndose plana (Fig11).



Fig11. Membrana entre dos láminas de vidrio.

- Se cuenta el total de ácaros ubicados dentro de la circunferencia de lectura, ubicándose en cada columna enumerada y en éstas, se cuenta el número de ácaros cuadro por cuadro, información que debe ser anotado en una hoja de registro (Fig12-13). Es importante señalar que, durante el conteo, se ubique un cuadro, se cuenten los ácaros, y hasta que se anote el resultado se proceda al próximo y así sucesivamente.



Fig12. Conteo de individuos por cuadro.



Fig13. Registro de datos.