

Servicio de diagnóstico fitopatológico del INIA - Mérida

Franci Urbina*
Rosaima García
Betty Paz
Zunilde Lugo
María Mendoza
Monsrha Graciani
Ramón Valero

INIA. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Mérida.
 *Correo electrónico: furbina@inia.gov.ve.

Mérida, es un estado en el cual predomina la actividad agrícola, cuyos sistemas de producción más importantes son: papa, hortalizas de piso alto y bajo, frutales, café y cacao. El manejo de estos cultivos estuvo basado fundamentalmente en el uso de agroquímicos, con la aplicación excesiva de recetas de varios ingredientes activos de productos solos o mezclados, lo cual causó impactos negativos al ambiente, evidenciado por el resurgimiento de nuevas plagas debido a la pérdida de reguladores biológicos, contaminación de las cuencas y disminución de la calidad de vida de los campesinos. Para dar respuesta y revertir tan lamentable situación, el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Mérida, viene desarrollando estrategias de diagnóstico y manejo fitosanitario que permite prever afectaciones de plagas y reducir pérdidas en las cosechas. Es así, como establece el servicio de diagnóstico fitopatológico.

El servicio de diagnóstico fitopatológico en suelos y tejidos de plantas en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Mérida, se inicia hace 24 años, en 1991, con la creación del Laboratorio de Fitopatología (Foto1) y lleva un trabajo ininterrumpido hasta la actualidad (Foto 2 a, b y c). El objetivo principal del servicio es determinar agentes causales de enfermedades previo a la siembra (si se hace en suelos o semillas) o de enfermedades emergentes y primarias en cultivos prioritarios que afectan la producción agrícola del estado, como herramienta fundamental para proponer estrategias de manejo amigables al ambiente de manera de reducir el uso excesivo de agrotóxicos y las pérdidas de las cosechas. El servicio, ha permitido mantener un contacto directo con los campesinos, productores y otras instituciones del quehacer agrícola estatal y nacional, así como determinar las prioridades de investigación en el área fitosanitaria.



Foto 1. Área de procesos del laboratorio de fitopatología del INIA-Mérida.



Foto 2 a, b y c. Trabajos realizados en el Laboratorio de Fitopatología del INIA-Mérida.

Para realizar el diagnóstico, se cuenta con un procedimiento de gestión administrativa y protocolos estandarizados, que han sido validados en el laboratorio y que están basados originalmente en metodologías nacionales e internacionales (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, 2001). Se

atiende a empresas de producción social, productores independientes, campesinos, planes de producción como el Plan Nacional de Semilla, consejos comunales, cooperativas, técnicos, estudiantes e instituciones relacionados con el agro.

Proceso a seguir para la realización del servicio de diagnóstico

El beneficiario, primeramente es atendido en la Oficina de Atención al Usuario, donde se establece un contrato de servicio y mediante un instrumento o planilla se registra la siguiente información: datos del solicitante del servicio, característica del área donde proviene la muestra, cultivo, manejo agronómico anterior y si se trata de un tejido enfermo, los síntomas observados desde el inicio y su nivel de afectación, prácticas agrícolas realizadas, entre otros.

Para definir el o los análisis a realizar, los especialistas en fitopatología, chequean la muestra, se codifica y consigna al laboratorio, quien la asienta y planifica la fecha de inicio del ensayo a realizar. Finalmente, se hace un contrato para la entrega de resultados y el informe de recomendaciones.

Para realizar los análisis de laboratorio, se siguen protocolos optimizados de detección e identificación de los agentes causales de las enfermedades de cultivos prioritarios del estado Mérida que a continuación se especifican:

- Análisis de tejidos, suelos y sustratos para la detección e identificación de 04 géneros de bacterias fitopatógenas (*Ralstonia soloanacearum*, *Pectobacterium carotovora*, *Pectobacterium* sp, *Xanthomonas* sp, *Pseudomonas* sp), a través del método combinado de siembra en el medio semi-selectivo Kelman con y sin cloruro de trifetil tetrazolio (Kelman, 1953; 1954; Schaad, 1988; García *et al.*, 1999; García, 2000) y determinación de las características culturales de las colonias bacterianas. Para confirmar la identificación, se realizan las pruebas de Tinción de Gram (Bartholomew, 1962) o prueba rápida de Gram con el uso de KOH (Klement, 1990), Prueba de Hug y Leifson (citado por Schaad, 1988), cámara anerbica en bolsas plásticas extrayendo el oxígeno y patogenicidad sobre rodajas de papa innovadas en el laboratorio. (Foto 3).



Foto 3. Momentos de siembra de diluciones de suelo para la detección de bacterias fitopatógenas.

La visualización de las características culturales de las colonias bacterianas, se realiza con ayuda de un microscopio estereoscópico. Complementariamente, se hacen preparaciones microscópicas que permiten, observar la forma de las células a través del microscopio óptico y finalmente se cotejan las observaciones con la bibliografía.

- Análisis de tejidos, suelos y sustratos para la detección e identificación de géneros de nematodos filiformes fitoparasíticos, para lo que se sigue el método cuantitativo de Cobb modificado y el cualitativo de limpieza de Baermann (Scoobar y Volcy, 1978; Foto 4 a, b y c). Las observaciones de las características morfológicas de los nematodos, se hacen mediante microscopía óptica, las cuales se cotejan con claves taxonómicas, para la identificación del género de nematodo presente.
- Análisis de suelos y sustratos secos para la detección e identificación del nematodo fitoparasítico del quiste de la papa, siguiendo el método de Fenwick modificado (Fenwick, 1940) y limpieza con acetona. Las observaciones de los quistes, se realizan en el microscopio estereoscópico (Foto 5), los resultados se cotejan con la bibliografía existente.



Foto 4. Extracción de nematodos mediante el método de Cobb modificado (a,b) y el limpieza de Baermann (c).



Foto 5. Quistes del nematodo *Globodera* sp, recuperados del suelo.

- Análisis de tejidos, suelos y sustratos para la detección e identificación de hongos fitopatógenos, mediante el método de extracción sobre maceración de tejido, diluciones seriadas de suelos y sustratos y, siembra directamente en plato agar, en el medio Agar-Papa-Dextrosa (PDA), estandarizado por el Laboratorio. (Foto 6). Para complementar el diagnóstico en tejido se realiza

el método de la cámara húmeda. En todos los casos se hacen preparaciones microscópicas que permite, visualizar las estructuras de los hongos a través del microscopio óptico. Finalmente, se cotejan las observaciones con las claves taxonómicas, para la identificación del género del hongo presente.

- Se emite un informe de resultados y recomendaciones de manejo, en un lapso de 15 días hábiles, registrados en una planilla, que contiene los datos del usuario, código de la muestra, fecha en el cual se hicieron los análisis, métodos utilizados, cuadro de resultados y las recomendaciones de manejo amigables al ambiente.



Foto 6. Momentos de la siembra de diluciones de suelo para la detección de hongos fitopatógenos.

Servicio de diagnóstico realizado entre los años 2010 al 2014

Durante los años 2010 al 2014, se procesaron un total de 3.126 muestras (Figura 1) que asciende a 12.504 análisis (Figura 2), sirviendo de base para realizar los informes de recomendaciones, los cuales aumentaron a 2.289 (Figura 3), con atención de 1.492 usuarios (Figura 4). De manera especial, se asistieron además 81 productores semilleros del Plan Nacional de Semilla de Papa (Figura 5).

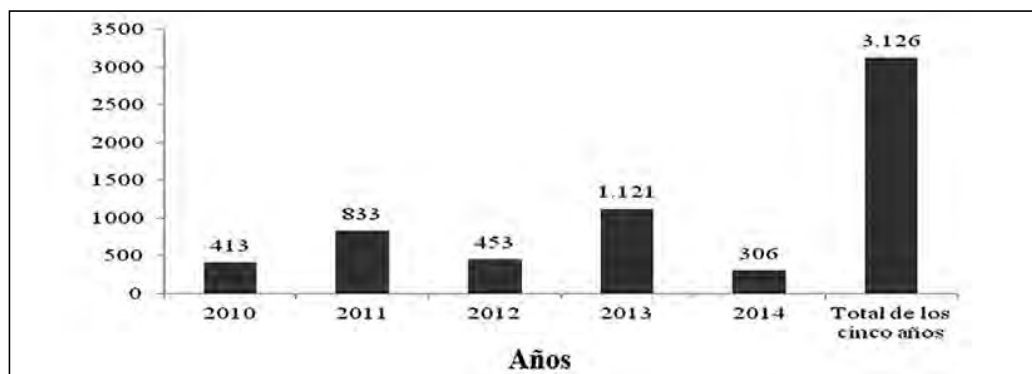


Figura 1. Muestras procesadas en el laboratorio de fitopatología durante los años 2010 al 2014.

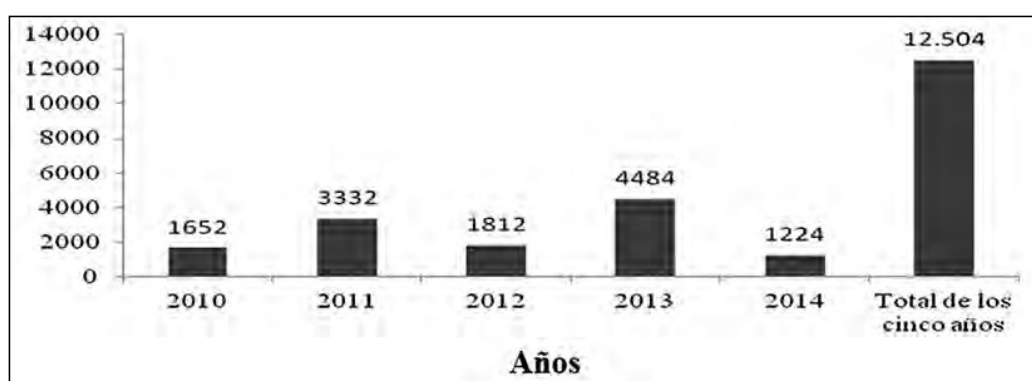


Figura 2. Número de análisis realizados en el laboratorio de fitopatología durante los años 2010 al 2014.

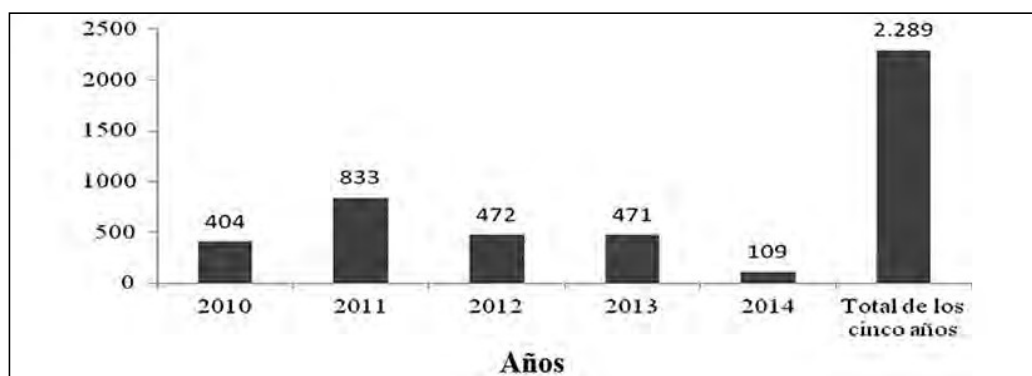


Figura 3. Número de recomendaciones emitidas en el laboratorio de fitopatología durante los años 2010 al 2014.

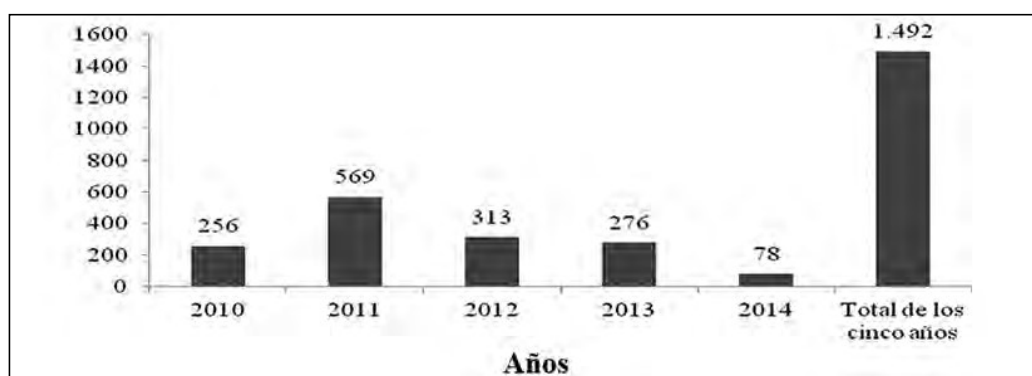


Figura 4. Número de usuarios atendidos en el laboratorio de fitopatología durante los años 2010 al 2014.

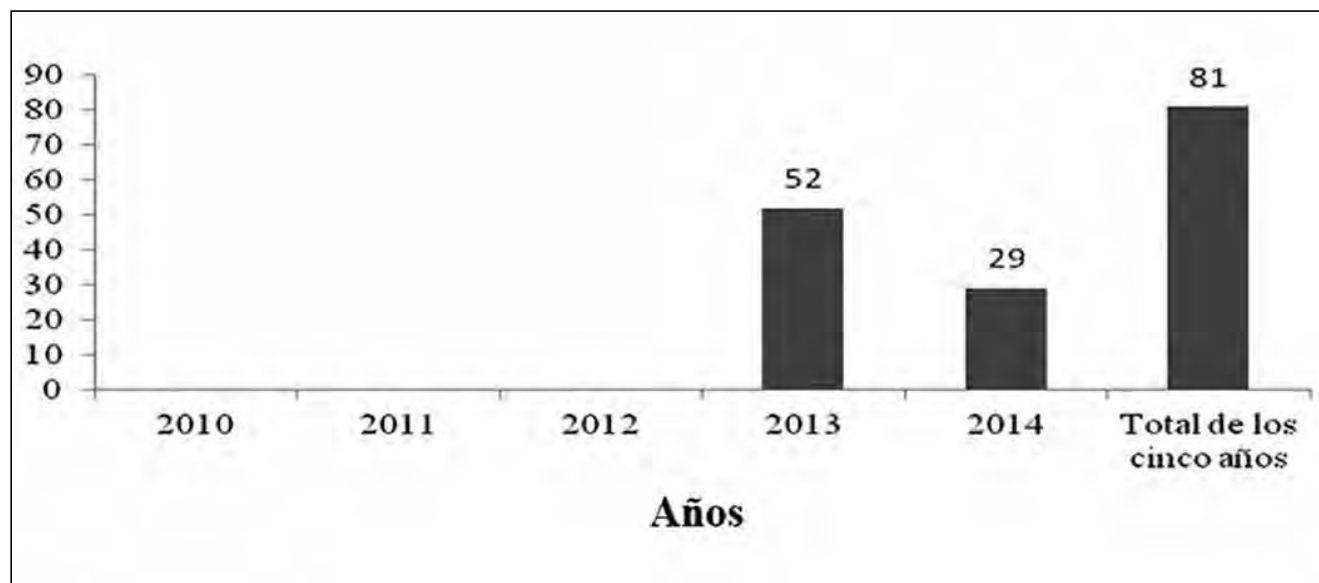


Figura 5. Número de semilleristas de papa en el laboratorio de fitopatología durante los años 2010 al 2014.

Otras Actividades desarrolladas

En el laboratorio de fitopatología, además se realiza investigación en nuevos agentes causales de enfermedades, optimización de nuevos protocolos de detección de patógenos, control de calidad de semilla de papa; se articula con laboratorios como los de Salud Agrícola Integral en Mérida (INSAI) y los de producción de bioinsumos apoyando el aislamiento, caracterización de nuevas cepas de microorganismos benéficos autóctonos, optimización de nuevos procesos de producción y calidad. Así mismo, es un espacio de formación de productores, técnicos y estudiantes relacionados con la actividad agropecuaria, lo cual garantiza la socialización del conocimiento y tecnologías generadas.

Consideraciones finales

La atención directa a los productores con el servicio de análisis fitopatológicos preventivos y curativos, así como las recomendaciones del manejo, permite prevenir enfermedades, lo que causa una reducción de pérdidas en las cosechas y el uso de agrotóxicos, con la consecuente mejora de los cultivos y la producción en general, haciendo énfasis en el uso de alternativas agroecológicas, dirigidas a impedir la diseminación de los patógenos y poder garantizar alimentos sanos, protección de la salud y calidad de vida de los campesinos.

Bibliografía consultada

- Fenwick D.W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*. 18: 155-172 pp.
- García, R. 2000. Especies y Sub-especies de *Erwinia*, causantes de pudriciones blandas y pierna negra de la papa cultivada, en el Estado Mérida- Venezuela. *Revista Forestal Venezolana*. 44(1): 107-114 pp.
- García, R., A. García y L. Delgado. 1999. Distribución, Incidencia y Variabilidad de *Ralstonia solanacearum*, agente causal de la marchitez bacteriana de la papa en el Estado Mérida. *Bioagro* 11(1): 12-23 pp.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Mérida). 2001. Investigaciones y Tecnologías Agrícolas. Producciones Karol C.A. Venezuela. 177 p.
- Kelman. 1953. The bacterial wilt cause by *Pseudomonas solanacearum* EF. Smith North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 99.194 pp.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44: 693-695 pp.
- Schaad, NW. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic. Bacteria 2nda ed. APS Press. St. Paul Minnesota. EE. UU. 37 y 55 p.
- Scobar, R. y C. Volcy. 1978. Evaluación de métodos de extracción de nematodos en suelo de textura fina. *Fitopatología Colombiana* 7 (1): 19-23 pp.