

Resumen

Las rosas constituyen uno de los productos de exportación más importantes del sector económico ecuatoriano. Pese a las condiciones agroclimáticas favorables para su cultivo, los rosales enfrentan problemas relacionados con infección por fitopatógenos. La enfermedad de la agalla de la corona es una de ellas y es ocasionada por *Agrobacterium tumefaciens*, un bacilo gramnegativo que se caracteriza por introducir un segmento de ADN al material genético de la planta e inducir tumores. La inexistencia de métodos sencillos, rápidos, sensibles y específicos para su detección impiden el diagnóstico temprano. El presente proyecto de investigación tiene como objetivo desarrollar un nanosensor para la detección del agente causal de la agalla de corona (*Agrobacterium tumefaciens*) en plantas de rosa (*Rosa* spp.). Primero se obtuvo un control positivo sintético (CPS) que contenía tres pares de cebadores dirigidos a los genes *tms2*, *ipt* y *virD2*; se sintetizaron nanopartículas de oro mediante el método de reducción con citrato y posteriormente se funcionalizaron con el cebador *tms2R2* y se realizaron pruebas a distintas concentraciones de ADN del CPS y del control negativo (25, 50, 100 y 200 ng/μL). Se obtuvo un punto de corte o cut-off de la prueba a 0.127. Se obtuvieron porcentajes de sensibilidad y especificidad del 80% y 100%, respectivamente, a partir de 100 ng/μL de ADN, luego de la adición de 6.5 μL de HCl 0.1 N y a un intervalo de tiempo de 10 a 25 minutos. Se recomienda realizar pruebas con ADN extraído de tumores y de suelo contaminado.

Palabras Clave: Fitopatología, nanosensores, validez interna

Abstract

Roses are one of the most important export products in the Ecuadorian economic sector. Despite favourable agro-climatic conditions for their cultivation, roses face problems related to infection by phytopathogens. Crown gall disease is one of them and is caused by *Agrobacterium tumefaciens*, a gram-negative bacillus that is characterized by introducing a DNA segment into the genetic material of the plant and inducing tumors. The lack of simple, rapid, sensitive, and specific methods for its detection prevents early diagnosis. The present research project aims to develop a nanosensor for the detection of the causal agent of crown gall (*Agrobacterium tumefaciens*) in rose (*Rosa* spp.) plants. First, a synthetic positive control (SPC) containing three pairs of primers targeting the *tms2*, *ipt* and *virD2* genes was obtained; gold nanoparticles were synthesized using the citrate reduction method and subsequently functionalized with the *tms2R2* primer and tested at different concentrations of DNA from the SPC and the negative control (25, 50, 100 and 200 ng/ μ L). A cut-off point of the test was obtained at 0.127. Sensitivity and specificity percentages of 80% and 100%, respectively, were obtained from 100 ng/ μ L of DNA, after the addition of 6.5 μ L of 0.1 N HCl and at a time interval of 10 to 25 minutes. Testing with DNA extracted from tumours and contaminated soil is recommended.

Key words: Phytopathology, nanosensors and internal validity