

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS  
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*  
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

Código: D-GF-CGP-PT-046

Versión: 01

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE  
IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (MATSUMURA)  
(DIPTERA: DROSOPHILIDAE)**

**CONTENIDOS**

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
1. OBJETIVOS Y ALCANCE .....	3
2. REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS .....	4
3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS .....	5
4. REQUISITOS PARA LA AUTORIZACIÓN.....	6
4.1 Requisitos de Infraestructura, equipos, materiales y reactivos.....	6
4.2 Requisitos de personal.....	12
4.3 Requisitos Específicos. ....	13
4.4 Medios de verificación de requisitos.....	14
5. ASPECTOS GENERALES DEL MONITOREO Y ANÁLISIS .....	15
5.1 Captación de las muestras .....	15
5.2 Traslado o envío de muestras desde el lugar de muestreo.....	16
5.3 Recepción y manejo de la muestra.....	16
5.4 Esterilización y eliminación de material de desecho.....	16
6. REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS .....	16
7. SUPERVISIÓN A LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS .....	16
8. ENTREGA DE RESULTADOS .....	17
9. OBLIGACIONES .....	18
10. FORMULARIOS .....	18

## 1. OBJETIVOS Y ALCANCE

El objetivo de este documento es establecer los requisitos, procedimientos, metodologías y obligaciones que deberán cumplir los/as interesados/as que, voluntariamente, postulen ante el SAG, para:

- A) Ejecutar el monitoreo de *Drosophila suzukii* (Matsumura) (en adelante *D. suzukii* o DS) mediante un sistema de trampas y/o prospección visual y/o muestreo de fruta en campo.
- B) Realizar el análisis de las muestras entomológicas obtenidas en el monitoreo y muestreo de frutos en relación a la plaga *D. suzukii*. El análisis correspondiente a los insectos capturados, podrá ser mediante taxonomía tradicional en los insectos adultos, o por medio de la identificación molecular, mediante técnica PCR-RFLP para los ejemplares adultos, larvas, pupas y huevos del insecto colectados en el campo.

El alcance de la autorización corresponderá a una o más de las siguientes actividades:

- Manejo del Sistema de trampas
- Manejo de la Prospección visual y muestreo de fruta
- Análisis taxonómico de los ejemplares colectados en trampas y/o fruta
- Análisis molecular de los ejemplares colectados en trampas y/o fruta
- Otros que el Servicio determine

### **MONITOREO DE *D. suzukii***

Las actividades relacionadas al proceso de monitoreo de la plaga, corresponden al manejo de trampas para DS en campo y a la Prospección visual/muestreo de frutos.

Las actividades relacionadas al proceso de manejo de trampas son: instalación, mantención y revisión de trampas; colecta de muestras; pre-diagnóstico de *D. suzukii*, si corresponde; resguardo y envío de la muestra colectada al laboratorio de identificación taxonómica.

Las actividades relacionadas al proceso de prospección visual y muestreo de fruta en campo son: prospección visual de los frutos; la colecta de muestras de fruta; conservación y medidas de resguardo de la muestra; el almacenamiento de la muestra; análisis preliminar de la muestra y crianza de insectos sospechosos de DS (en caso de ser necesario) y el envío y entrega de las muestras al laboratorio.

### **ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS**

Las actividades relacionadas al proceso de análisis de las muestras por medio de taxonomía tradicional en un laboratorio autorizado son: recepción de muestras que contienen insectos del orden Diptera en estado adulto con sus datos de colecta correspondientes; identificación de *D. suzukii* entre los insectos que presente la muestra; consolidación de datos y entrega de resultados.

Las actividades relacionadas al proceso de análisis molecular de las muestras en un laboratorio autorizado son: recepción de muestras conformadas por individuos en estado adulto o en estados inmaduros que son sospechosos de ser *D. suzukii* con sus datos correspondientes; manejo de la muestra/contra-muestra; realización de la técnica de análisis de identificación de *D. suzukii* aplicada a individuos sospechosos de la plaga; consolidación de datos y entrega de resultados.

### **ASPECTOS GENERALES**

Las actividades señaladas anteriormente, deben considerar la identificación y trazabilidad de las muestras durante todo el proceso, desde la toma de la muestra en campo, hasta análisis final de la muestra y su resultado oficial.

La autorización que otorgará el Servicio en las materias descritas en este instructivo, es de carácter nacional y apunta a obtener información con base científica, para determinar la ausencia/presencia de la plaga

mediante el monitoreo de ejemplares adultos (detección por trampas) y/o estados inmaduros (sistema de muestreo), en Chile.

Las disposiciones del presente instructivo, serán aplicables a todas las personas naturales o jurídicas que voluntariamente postulen a la autorización referida en este documento.

## 2. REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Servicio Agrícola y Ganadero. 2012. Resolución Exenta del Director Nacional del SAG N° 529, del 30 de enero del 2012, que norma el Sistema Nacional de Autorización de Terceros.
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2014. Resolución Exenta N° 90, de fecha 06 de enero de 2014, del Director Nacional del SAG, que aprueba reglamento Específico para la Autorización de Laboratorios de Análisis/Ensayos Servicio Agrícola y Ganadero.
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2014. Reglamento específico para la autorización de laboratorio de análisis/ensayo. Código: D-GF-CGP-PT-012. Versión: 04.
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2017. Plan de trabajo para la Vigilancia y Manejo Integrado de la plaga *Drosophila suzukii* en huertos productivos y lugares de procesamiento de fruta hospedante. Disponible en <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/drosophila-suzukii/2971/procedimientos> Servicio Agrícola y Ganadero 2017. Fichas técnicas: Recomendaciones para el Manejo Integrado de la Plaga Drosófila de alas manchadas (*Drosophila suzukii*) (DS). Disponible en <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/drosophila-suzukii>
- Kim, Sh., Tripodi, A., Johnson, D., Szalanski, A. 2014. Molecular Diagnostics of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) using PCR-RFLP. J. Econ. Entomol. 107(3): 1292-1294.
- Biokit DNA Extractions Kit (GMO&Allergen), Neogen Europe Ltd.
- Requisitos generales para la competencia ISO 17025 de los laboratorios de ensayo y calibración. NCh 17025 Of. 2005.
- Brncic D (1957) Las especies chilenas de Drosophilidae. Colección de Monografías Biológicas, Universidad de Chile. Imprenta Stanley, Santiago, Chile. 257 pp.
- Brncic D (1987) A review of the genus *Drosophila* Fallen (Diptera, Drosophilidae) in Chile with the description of *Drosophila atacamensis* sp. nov. Revista Chilena de Entomología 15: 37-60
- Grimaldi, D. (2010). Drosophilidae (Small Fruit Flies, Pomace Flies, Vinegar Flies). In B. Brown et al, A. Borkent, J. Cumming, D. Wood, N. Woodley & M. Zumbado, Manual of Central American Diptera: Volume 2(1st ed., pp. 1197-1206). Ottawa, Ontario, Canadá: NRC Research Press.
- Vlach, J. 2013. Spotted Wing *Drosophila*: Identifying *Drosophila suzukii*. October 2013. Oregon Department of Agricultural. Disponible en <http://www.oregon.gov/ODA/shared/Documents/Publications/IPPM/SpottedWingDrosophilaIDKey.pdf>. Leído el 30 agosto 2017.
- Buck, M., Woodley, N., Borkent, A., Wood, D., Pape, T., & Vockeroth, J. et al. (2009). Key to Diptera Families-Adults. In B. Brown, A. Borkent, J. Cumming, D. Wood, N. Woodley & M. Zumbado, Manual of Central American Diptera Volume 1 (1st ed., pp. pp95-156). Ottawa, Ontario, Canadá: NRC Research Press.
- Markow, T., & O'Grady, P. (2006). *Drosophila*: A guide to species identification and use. London: Elsevier Academic Press.

- McAlpine, J. (1981). Key to Families-Adults. In J. McAlpine, B. Peterson, G. Shewell, H. Teskey, J. Vockeroth & D. Wood, Manual of Nearctic Diptera Volume 1 (1st ed., pp. pp89-124). Ottawa, Canadá: Research Branch Agriculture Canada.
- Wheeler, M. (1987). Drosophilidae. In J. McAlpine, B. Peterson, G. Shewell, H. Teskey, J. Vockeroth & D. Wood, Manual of Nearctic Diptera: Volume 2 (1st ed., pp. 1011-1019). Ottawa, Canadá: Research Branch, Agriculture Canada.

### 3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

Sin perjuicio de las definiciones establecidas en el título 3 del Reglamento de Autorización de Laboratorios de análisis/ensayos, para los efectos del presente instructivo se entenderá por:

<b>Analista</b>	Persona capacitada, con conocimientos de taxonomía tradicional y/o técnicas moleculares, para la identificación a nivel de especie de la plaga <i>Drosophila suzukii</i> (Matsumura). Orden Diptera, Familia Drosophilidae.
<b>Díptera</b>	Orden de insectos. Comúnmente llamadas moscas; se caracterizan por presentar un sólo par de alas en el mesotorácico, mientras que en el metatorácico las alas se reducen a un par de halterios.
<b>Drosophilidae</b>	Familia del orden Diptera, conocidas también como moscas del vinagre. Son moscas de pequeño tamaño, antena de artista plumosa y de alas de venas paralelas.
<b>Drosophila</b>	Género de la familia Drosophilidae.
<b>DS</b>	Sigla utilizada para denominar a <i>Drosophila suzukii</i> (Matsumura). Mosca del vinagre de alas manchadas, perteneciente a la familia Drosophilidae.
<b>ISO</b>	Acrónimo de la "International Organization for Standardization" (Organización Internacional para la Estandarización)
<b>Monitoreo</b>	Proceso de vigilancia continuo que permite verificar la situación de una plaga mediante la instalación y revisión de trampas y el muestreo sistemático de fruta utilizada como hospedante.
<b>Muestreo</b>	Actividad que consiste en la recolección de frutas o muestras vegetales que puedan contener estados inmaduros (huevo, larva, pupa) de la plaga <i>Drosophila suzukii</i> .
<b>Muestreador</b>	Persona capacitada y calificada para realizar labores de muestreo de fruta a nivel de huerto productivo, cultivo, sitio de procesamiento de fruta hospedante u otro lugar que se considere de interés para los propósitos del monitoreo de DS.
<b>NCh</b>	Sigla de Norma Chilena
<b>PCR</b>	Sigla de <i>Polimerase Chain Reaction</i> (Reacción en Cadena de la Polimerasa)
<b>Prosector</b>	Persona capacitada y calificada para realizar la revisión de trampas a nivel de huerto productivo, cultivo, sitio de procesamiento de fruta

hospedante u otro lugar que se considere de interés para los propósitos del monitoreo de DS.

<b>Prospección visual</b>	Actividad que consiste en la revisión de un cultivo, huerto o planta, en forma dirigida en busca de la plaga <i>Drosophila suzukii</i> .
<b>Revisión de trampas</b>	Actividad desarrollada en el campo por personal capacitado (prospector) y que tiene la finalidad de recolectar la muestra de insectos capturados en las trampas. Además, y cuando sea pertinente, debe señalar que en la muestra van incluidos insectos sospechosos de ser la especie <i>D.a suzukii</i> .
<b>RFLP</b>	Siglas de <i>Restriction Fragment Length Polimorfism</i> (Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción)
<b>Servicio/SAG</b>	Servicio Agrícola y Ganadero
<b>Trazabilidad de la muestra</b>	Sistema de documentación que permite la identificación de la muestra (tanto de trampas como de fruta recolectada en campo) desde su recolección y su posterior ingreso al laboratorio hasta la emisión del resultado.

#### 4. REQUISITOS PARA LA AUTORIZACIÓN

##### 4.1 Requisitos de infraestructura, materiales, equipos y reactivos

Los postulantes a la autorización, deben contar con la infraestructura, equipos y materiales establecidos en el Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, código D-GF-CGP-PT-012, y los requeridos para el desarrollo de un monitoreo y análisis de DS, acorde a lo indicado en el presente documento, y según la actividad a la cual postula.

Sin perjuicio de lo anterior, el SAG se reserva el derecho de establecer otros requisitos en el transcurso del período de actividades, los cuales serán comunicados oficialmente para su implementación.

##### 4.1.1. Requisitos de infraestructura

###### 4.1.1.1 Para las labores en terreno:

- **Monitoreo de *D. suzukii* por medio del manejo de trampas y toma de muestras de fruta:** Debe disponer de un recinto acondicionado para estos efectos, en donde las áreas de trabajo para el manejo y preparación de trampas y sus respectivos atrayentes, deben estar dispuestas de tal manera, que no se interfieran durante el desarrollo de sus actividades y que no implique el riesgo de posible contaminación del atrayente con la superficie externa de las trampas o en el lugar del cultivo.

Se recomienda dividir el espacio designado para el manejo de trampas en distintas secciones de trabajo, las que corresponden a las distintas labores que deben ser efectuadas para mantener un adecuado monitoreo en campo y las actividades asociadas a éste. Estas zonas o áreas de trabajo corresponden a:

- Zona de almacenamiento de trampas y material limpio o nuevo para ser utilizado
- Zona de almacenamiento y manejo del atrayente
- Zona de recepción- lavado de trampas y material usado en terreno
- Zona de recepción y almacenamiento de muestras colectadas en terreno (tanto para muestras entomológicas de las trampas como de fruta)
- Zona de análisis de muestras de fruta
- Zona de análisis de las muestras entomológicas provenientes de trampas en terreno

Los materiales de construcción del espacio de trabajo para el monitoreo, deben ser inertes a los distintos tipos de insumos utilizados (ej.: alcohol, cebo atrayente), de fácil limpieza y sin grietas donde se pueden acumular residuos u otros productos químicos.

El área debe contar con un sistema seguro y adecuado de instalaciones de electricidad y agua. Debe tener desagüe y depósito de basura, y un área para realizar el lavado de las trampas que hayan sido revisadas y reemplazadas en campo, y eliminar los desechos que queden de éstas.

Las distintas zonas o áreas, pueden comunicarse por puertas o cortinas que deben permanecer cerradas mientras se trabaja.

- Toma de muestras de frutos en campo: El/la muestreador/a, debe disponer de todo el equipo necesario para la adecuada observación de los frutos cultivo / planta que desea analizar, y para realizar una correcta obtención de la muestra. Además, deberá disponer de todo el material para el almacenamiento, resguardo, identificación y traslado de la muestra mientras se encuentre en el campo.

El/la muestreador/a, debe disponer de una identificación que indique la empresa a la que pertenece, otorgada por la misma entidad.

Adicionalmente se debe disponer de un medio de transporte para llegar al lugar de la toma de muestras de fruta.

El Servicio, podrá determinar la necesidad de realizar un curso y/o evaluación de las personas a cargo del muestreo en cualquier momento, previo al comienzo de sus actividades.

- Revisión de trampas: El/la prospector/a, debe disponer de todo el equipo necesario para realizar la correcta instalación, manejo y revisión de la trampa, además de la colecta de muestras en el lugar de trabajo cuando corresponda. También debe disponer de todo el material para el almacenamiento, resguardo e identificación de las muestras a ser trasladada a un laboratorio (cuando corresponda).

El/la prospector/a, debe disponer de una identificación que indique la empresa a la que pertenece, otorgada por la misma entidad.

El SAG, podrá determinar la necesidad de realizar un curso y/o evaluación de las personas a cargo del monitoreo en cualquier momento, previo al comienzo de sus actividades.

#### **4.1.1.2 Para análisis de las muestras de insectos:**

- Para la identificación taxonómica tradicional en adultos, los postulantes deben disponer de al menos lo siguiente:
  - Un área de laboratorio, que debe ser diseñada de modo que no se produzcan interferencias entre las distintas tareas, de manera que no exista posibilidad de confusión entre las muestras.
  - El laboratorio debe contar con áreas físicas preparadas para la realización ordenada de cada tarea y así evitar la confusión interna de las muestras. Las áreas que debe contar el laboratorio son:
    - Área de recepción de muestras
    - Área de extracción, análisis e identificación de la muestra (recolección de ejemplares desde los tubos o envases y revisión acuciosa en búsqueda de ejemplares de *Drosophila suzukii*)
    - Área de entrega de resultados y manejo de información (Trazabilidad de las muestras)
    - Cada área debe tener disponible su propio material de trabajo
  - Los materiales de construcción del laboratorio deben ser de fácil limpieza y sin grietas donde se pueden acumular residuos.
  - El laboratorio debe contar con un sistema seguro y adecuado de instalaciones de electricidad y agua. Debe contar con suficientes tomas de corriente eléctrica para asegurar el correcto funcionamiento de los equipos.
  - La circulación de las personas que ingresen o trabajen en el laboratorio debe ser unidireccional.
- Para realizar la identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP, los postulantes deberán cumplir con

lo siguiente:

- Las áreas del laboratorio deben ser diseñadas de modo que no se produzcan interferencias entre las distintas tareas, de manera que no exista posibilidad de confusión de las muestras en análisis.
- El laboratorio debe contar con áreas físicas separadas para evitar la contaminación interna con productos de PCR. Al separar las actividades de pre-PCR y post-PCR, el potencial de contaminación se reduce significativamente. Por este motivo, se recomienda dividir el espacio en las siguientes salas:
  - Recepción de muestras
  - Procesamiento de muestras (extracción de ADN)
  - Sala limpia (preparación mezcla de reacción PCR)
  - Sala PCR (adición a la mezcla de reacción el ADN)
  - De ser posible otra sala donde se encuentren los termocicladores, y sala de electroforesis (preparación de geles de agarosa y corrida electroforética).
- Los materiales de construcción de este laboratorio deben ser inertes a los reactivos y solventes utilizados habitualmente en este tipo de laboratorio, de fácil limpieza y sin grietas donde se pueden acumular residuos u otros productos químicos.
- El laboratorio debe contar con un sistema seguro y adecuado de instalaciones de electricidad y agua. Debe contar con suficientes tomas de corriente eléctrica para asegurar el correcto funcionamiento de los equipos.
- Cuando exista distintas salas o áreas separadas de trabajo, se recomienda que estas se comuniquen por puertas o cortinas que deben permanecer cerradas mientras se trabaja (generalmente puertas con brazos hidráulicos que permiten el cierre automático). La circulación en el laboratorio debe ser unidireccional. Cada sala debe tener su propio material disponible (pipetas, puntas con filtro, papel absorbente, microtubos, soluciones, agua libre de nucleasas, batas, guantes sin talco, etc.).

#### **4.1.2. Requisitos de materiales, equipos y reactivos**

##### **4.1.2.1 Para labores en terreno**

- Para la zona de almacenamiento de trampas y material limpio o sin uso (nuevo):
  - Espacio cerrado, aislado y limpio, independiente de las demás estaciones de trabajo.
  - Estanterías y recipientes para guardar ítems clasificados según uso y mantener recuento de inventario.
- Para zona de recepción-lavado de trampas y material usado en terreno:
  - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada para los operarios.
  - Recipiente para recibir el material que ya ha sido usado a la espera de ser lavado para su reutilización.
  - Estación de lavado con detergente y agua para limpiar el material.
  - Estación de secado con implementos necesarios para secar utensilios.
- Para zona de recepción y almacenamiento de muestras colectadas en terreno (muestras entomológicas y muestras de fruta):
  - Mesón para recibir las muestras y revisar que vengan con un correcto etiquetado.
  - Computador para ingresar los datos de las muestras en planilla Excel "Trampeo y análisis DS autorizados", código F-GF-CGP-PT-201.
  - Computador para ingresar los datos de las muestras en planilla Excel "Prospección Muestreo de fruta y análisis DS autorizados", código F-GF-CGP-PT-202.
  - Estantes o cajas para almacenar las muestras antes de ser llevadas a análisis en laboratorio.
- Para zona de análisis de las muestras de fruta:

## INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

Código: D-GF-CGP-PT-046

Versión: 01

- Mesón y sillas ergonómicas, suficientemente cómodas y adecuadas para realizar en forma eficiente el análisis detallado de la fruta por el personal debidamente aprobado.
  - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada para los analistas.
  - Luz de escritorio en adición a la iluminación de la sala para que las/os analistas puedan observar de la mejor manera las muestras.
  - "Ficha de identificación de muestra de fruta para *Drosophila suzukii*", código F-GF-CGP-PT-200, que debe venir anexa a la muestra para indicar datos de ésta.
  - Bandejas adecuadas para posicionar la fruta y posibles ejemplares a ser detectados de una misma muestra.
  - Cuchillo para realizar una adecuada disección de la fruta
  - Pincel de cerdas suaves para mover la pulpa de la fruta cuidadosamente y buscar insectos sospechosos.
  - Puntas de disección para ayudar a manipular ejemplares
  - Placas Petri para depositar ejemplares sospechosos.
  - Piseta con agua para mantener posibles ejemplares de DS hidratados.
  - Tubos plásticos o tubos de ensayo para la recolección y el envío de los ejemplares sospechosos de ser *D. suzukii* a análisis molecular si es necesario (con alcohol al menos 70%).
  - Lupa aumento 10X
  - Líquidos y reactivos para el manejo de muestras entomológicas
  - Lente grande o lupa con un aumento de al menos 30x
  - Bolsas de plástico transparente sellables
  - Pinzas para manipulación de insectos
  - Sal y azúcar morena
  - Jarros de aproximadamente 4 litros de capacidad
- Para monitoreo de trampas en campo:
- Vehículo adecuado para el transporte de los materiales y llegada a los lugares donde están instaladas las trampas.
  - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada para los prospectores.
  - Colador de malla fina o filtro para insectos: permite colar el líquido del atrayente de la trampa y retener a los insectos capturados.
  - Plato blanco (plástico u otro material) (opcional): recipiente que permite vaciar todos los insectos que fueron retenidos por el colador de malla fina u otro filtro para insectos, en donde se pueden observar con mayor claridad sus características de manera de distinguir algún ejemplar sospechoso.
  - Pincel de cerdas suaves: permite retirar y manipular los insectos del plato blanco y también los que quedan en las paredes de la trampa y el colador o filtro, sin el peligro de deteriorarlos.
  - Tubos (envases) para depositar la colecta de la trampa. Se utiliza normalmente un tubo por trampa, aunque en algunos casos, al ocurrir una alta cantidad de captura de insectos, puede ocuparse más de un tubo por trampa (con alcohol etílico al 70%). Se debe transportar a terreno al menos, la misma cantidad de tubos con alcohol que la cantidad de trampas que vayan a ser revisadas en una jornada de trabajo (en el supuesto de que todas las trampas a revisar durante la jornada capturen insectos).
  - Trampas de recambio: para cada jornada de revisión de trampas, se debe llevar, adicionalmente, al menos la misma cantidad de trampas limpias de recambio que tenga el recorrido.
  - Envase para el reciclaje de líquidos de desecho: el líquido del plato blanco en que son colectados los insectos o el atrayente que fue utilizado, **NO** debe ser desechado en terreno, sino que debe ser vertido en un recipiente (bidón) que se lleva para ese propósito. Posteriormente este líquido debe desecharse en el sistema de desagüe.
  - Vaso de colecta plástico de boca ancha de alrededor de un litro u otro recipiente (opcional): permite el colado y posterior traspaso de los insectos colectados en forma directa al tubo de muestra.

- Tarjeta de Identificación de Trampas (TIT): cada trampa instalada en terreno debe tener una TIT, idealmente de plástico, en la que se van marcando las fechas en que se ha efectuado la revisión de la trampa.
- "Ficha de inspección de Trampas autorizados. *Drosophila suzukii*", código F-GF-CGP-PT-199. Documento que contiene toda la información relacionada a cada trampa (ubicación, fechas de revisión de trampas, situación de la trampa, etc.). Cada vez que se revisa una trampa debe anotarse la actividad realizada en este documento.
- GPS: para registro de coordenadas cada vez que la trampa sea ubicada en un nuevo lugar. Tener presente que coordenada X debe tener 6 dígitos y coordenada Y 7 dígitos Ej: X: 241270; Y: 5646737. El GPS debe estar dispuesto en WGS84 coordenadas UTM (Huso 18 y 19 para Chile Continental, Huso 12 Isla de Pascua y Huso 17 Juan Fernandez),
- Lápiz grafito y marcador
- Para monitoreo mediante muestreo de frutos:
  - Vehículo adecuado para el transporte de los materiales requeridos en el muestreo de fruta y recorrer sin dificultades los lugares a recoger muestras.
  - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada para los muestreadores.
  - Bolsas de muestreo: bolsas plásticas sellables para depositar las muestras de fruta recolectadas.
  - En el caso de que las bolsas no sean sellables, se debe utilizar algún tipo de instrumento de cierre de bolsas de muestreo (cinta embalaje, scotch, corchetes u otro).
  - "Ficha de identificación de muestra de fruta para *Drosophila suzukii*", código F-GF-CGP-PT-200, esta debe ir anexa a la bolsa para indicar datos de donde fue extraída la muestra.
  - Lupa de mano (al menos, con aumento de 10X).
  - Cuchillo o cortaplumas
  - Lápiz grafito y marcador
- Para crianza de muestras de fruta:
  - Estantería que permita mantener cajas de crianza.
  - Cajas, envases o jaulas de crianza.
  - Humidificador de sala y equipo de medición de temperatura.

#### **4.1.2.2. Para el análisis de las muestras de insectos recolectadas**

- Para la determinación taxonómica tradicional, el laboratorio debe disponer de los siguientes equipos y materiales:
  - Microscopio (opcional)
  - Lupas estereoscópicas
  - Agua destilada
  - Agujas de disección
  - Alcohol metílico ETOH 70%
  - Placas Petri
  - Marcadores permanentes
  - Pinzas de micro disección
  - Pinceles de cerdas suaves nº0,5 (0/5)

En caso de desperfecto del equipamiento (lupas o microscopio), que implique un retraso en la ejecución de los análisis, el laboratorio deberá informar al Servicio (Sub departamento Moscas de la fruta), correo electrónico ([drosophila.suzukii@sag.gob.cl](mailto:drosophila.suzukii@sag.gob.cl)), indicando la cantidad de muestras que quedaron con el análisis comprometido, las medidas correctivas a implementar y el tiempo de reinicio del servicio.

- Para la identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP, los postulantes deberán cumplir con disponer de a lo menos lo siguiente:

- Balanza analítica de 0 a 200 gramos resolución 0,0001 gramos
- Micropipetas de 10, 100 y 1000 µl.
- Freezer que alcance temperaturas de -20°C o menores.
- Refrigerador que alcance una temperatura de 8°C ± 2°C
- Termociclador
- Cámaras de electroforesis
- Rack magnético
- Fuente de poder
- Transiluminador UV
- Estación de trabajo con luz UV
- Gabinete de bioseguridad tipo II
- Centrífugas máx. 14.000 rpm
- Mini centrífuga de mesa
- Vortex
- Cámara fotográfica
- Nano Drop o similar

En caso de desperfecto de algún equipamiento, que implique un retraso en la ejecución de los análisis, el laboratorio deberá informar al Servicio (Departamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias y Nivel Central), correo electrónico ([lab.biotechnologia@sag.gob.cl](mailto:lab.biotechnologia@sag.gob.cl)), indicando la cantidad de muestras que quedaron con el análisis comprometido, las medidas correctivas a implementar y el tiempo de reinicio del servicio.

El laboratorio debe contar con los materiales y reactivos necesarios, acordes al volumen de muestras (stock suficiente para los análisis de la temporada) y que garanticen el correcto desarrollo de la técnica de análisis a realizar. Específicamente, deberá contar con el kit de extracción necesario para analizar las muestras indicadas en el alcance de la presente autorización. A continuación, se detallan algunos de los materiales y reactivos que se deben considerar como mínimo:

- Kit de extracción de ADN: Biokit DNA Extractions Kit (GMO & Allergen), Neogen, Europa Ltda. o similar
- Control positivo de *Drosophila suzukii* (el laboratorio del SAG hará entrega de los clones concentrados para su dilución antes del uso)
- Enzima de restricción: Msp I
- Puntas de micropipetas de 10, 100 y 1000 µl
- Micro tubos plásticos tipo eppendorf de 1.5 ml
- Micro pistilos plásticos autoclavables
- Micro tubos o placas plásticas tipo eppendorf de 0.2µl
- Partidores de acuerdo a la Tabla 1
- Agarosa grado molecular
- Enzima Taq DNA Polimerasa Platinum o similar
- Buffer TAE o TBE
- Colorante Bromuro de Etidio o Gel red
- Buffer de carga 6X
- Marcador peso molecular 100pb

Tabla 1. Partidores para la identificación de *D. suzukii*

Nombre Partidor	Secuencia 5' - 3'
LCO1490	GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G
HCO2198	TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA

## **4.2 Requisitos de personal**

### **4.2.1. Para labores en terreno**

Los postulantes a la autorización, deben contar con personal en calidad y cantidad suficiente acorde lo establecido en el presente instructivo.

#### **4.2.1.1. Responsable técnico de labores en terreno**

El postulante deberá contar con un responsable técnico, quien será la contraparte del SAG, en temas técnicos asociados a la actividad de monitoreo y deberá cumplir con el siguiente perfil:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una carrera de Agronomía o similar. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Manejo herramientas computacionales nivel usuario (Office: Word, Excel)
- Experiencia laboral en el área agrícola de al menos dos (2) años.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral (de al menos 6 meses) comprobable.

#### **4.2.1.2. Personal técnico que ejecutará labores en terreno**

El postulante deberá contar con una (1) o más personas encargadas de realizar labores de toma de muestras de fruta y/o la inspección – recolección de muestras de insectos de las trampas, quienes deberán cumplir con el siguiente perfil:

- Poseer título profesional o técnico otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente al área silvoagrícolas o biológica. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- En el caso de que el Servicio lo estime pertinente, se requerirá al personal haber aprobado un curso de adiestramiento para postulantes, dictado por el SAG u otra institución aceptada por éste, en materias referentes a la ejecución de las actividades oficiales comprendidas en este instructivo.
- Manejo herramientas computacionales nivel usuario (Office: Word, Excel)
- Experiencia laboral en el área agrícola de al menos dos (2) años.

### **4.2.2. Para laboratorio de identificación taxonómica tradicional**

#### **4.2.2.1 Responsable técnico**

Se deberá designar un responsable técnico, quien será la contraparte ante el SAG en temas técnicos asociados a su actividad como laboratorio autorizado y deberá cumplir con los siguientes requerimientos:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una de las siguientes carreras: Ingeniero Agrónomo, Ingeniero Forestal o Biólogo. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Tener experiencia laboral comprobable en la identificación y diagnóstico entomológico.

#### **4.2.2.2 Analista**

El laboratorio deberá contar con analistas en número adecuado, de acuerdo a la cantidad de análisis a realizar, quienes deben cumplir el siguiente perfil:

- Contar con título profesional o técnico, de una carrera correspondiente al área silvo-agrícola o biológica, impartida por una entidad de enseñanza superior reconocida por el Estado. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.

- Tener competencia técnica o experiencia laboral (de al menos 1 año) comprobable en diagnósticos entomológicos.

#### **4.2.3. Para laboratorio de identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP**

##### **4.2.3.1 Responsable técnico**

El laboratorio debe contar con un responsable técnico, quien será la contraparte del SAG, en temas técnicos asociados a su actividad como laboratorio autorizado y deberá cumplir con el siguiente perfil:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una carrera de las ciencias bioquímicas, biotecnológicas o biológicas. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Experiencia laboral en el área de laboratorios de al menos dos (2) años.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral (de al menos 6 meses) comprobable en diagnósticos por PCR.

##### **4.2.3.2 Analista**

El laboratorio deberá contar con analistas en número adecuado de acuerdo a la cantidad de análisis a realizar, quienes deben cumplir el siguiente perfil:

- Contar con título profesional o técnico o ser egresado, de una carrera correspondiente al área biológica o afín, impartida por una entidad de enseñanza superior reconocida por el Estado. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral (de al menos 6 meses) comprobable en diagnósticos por PCR.

Sin perjuicio del análisis al cual postula, el laboratorio, previendo una eventual ausencia del responsable técnico o del o los analistas, podrá postular a otras personas para que actúen en ausencia del o los titulares, en calidad de subrogante. En tal caso, el laboratorio deberá solicitarlo por escrito, presentando al Servicio la documentación que demuestre que ese personal cumple con el perfil para desempeñar el cargo.

#### **4.3 Requisitos Específicos**

Los postulantes a la autorización, deben cumplir tanto con lo establecido en el Reglamento Específico para la Autorización de Laboratorios de Análisis/Ensayos (D-GF-CGP-PT-012), como con lo indicado en el presente instructivo, según la actividad a la cual postulan.

Respecto de las labores relacionadas con el proceso de monitoreo (trampeo y muestreo de fruta), como la toma, conservación, almacenamiento, envío y entrega de las muestras al laboratorio, se deberá contar con un manual de procedimientos que describa en forma detallada el proceso de trabajo y que contenga la documentación que se detalla a continuación, la cual debe ser presentada ante el Servicio al momento de realizar la postulación:

- Instructivo/ técnico/s de instalación y revisión de trampas
- Instructivo manejo de muestras involucradas en el alcance de la autorización
- Instructivo de toma de muestras de fruta
- Instructivo de análisis de muestras de fruta
- Instructivo eliminación y descontaminación de residuos y materiales de monitoreo y análisis de muestras de fruta
- Instructivo aseo y limpieza de zonas de trabajo
- Programa de monitoreo calendarizado

## INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

Código: D-GF-CGP-PT-046

Versión: 01

El autorizado deberá contar con timbres para ser utilizados en el marco de la autorización, que consignen el nombre de la persona natural o jurídica al que representa.

Asimismo, los laboratorios postulantes para los análisis taxonómicos, deben contar con un sistema de gestión de calidad o aseguramiento de calidad implementado, basado en buenas prácticas de laboratorio. En este sentido, debe contar con un manual de procedimientos que describa en forma detallada el proceso de análisis y con la siguiente documentación:

- Instructivo de las técnicas diagnósticas a las que postula
- Instructivo manejo de muestras involucradas en el alcance de la autorización
- Instructivo eliminación y descontaminación de residuos y materiales
- Instructivo aseo y limpieza de laboratorios
- Instructivo de control de equipos
- Lista e identificación de los equipos y materiales, utilizados en la realización de los análisis a los que postula, incluyendo: nombre del equipo, marca, modelo, serie, capacidad, fecha de recepción y puesta en servicio, según corresponda
- Programa de mantención, verificación y calibración de los equipos involucrados en el alcance de la autorización
- Registros de la calibración de los equipos involucrados en el alcance de la autorización
- Instructivos de uso de los equipos involucrados en el alcance de la autorización

El autorizado deberá contar con timbres para ser utilizados en el marco de la autorización, que consignen el nombre del laboratorio al que representa.

#### 4.4 Medios de verificación de requisitos.

Los interesados en postular para realizar el monitoreo y análisis de identificación de la plaga *Drosophila suzukii*, deberán presentar la documentación en razón a lo establecido en el 6.1 del Reglamento Específico para la autorización de Laboratorios/Ensayos, código D-GF-CGP-PT-012, y conforme a ello, se requiere presentar adicionalmente la documentación técnica que se encuentra estipulada en el presente instructivo según la actividad a la cual postulan. El dossier técnico deberá incluir a lo menos la siguiente información:

1. Croquis del laboratorio o lugar de trabajo para el monitoreo, identificando uso de áreas y ubicación de equipos
2. Organigrama del personal
3. Formulario de identificación del responsable técnico, según formato establecido en el Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de Análisis/Ensayos, correspondiente al formulario de identificación del responsable técnico F-GF- CGP-PT-069
4. Formulario de identificación de personal que realizará labores de terreno y del personal vinculado a él o los análisis a los que postula, según formato del Formulario de identificación de personal, código F-GF-CGP-PT-197, indicando nombre completo, número de cédula de identidad y firma, y estipulando las funciones de cada uno de ellos
5. Certificado de título del responsable técnico identificado en el formulario respectivo, en original o fotocopia legalizada
6. Certificado de título o de egreso de los/los analistas identificados en el formulario respectivo, en original o fotocopia legalizada
7. Documentos que garanticen la competencia técnica y/o experiencia laboral de la totalidad del personal (responsable técnico, analista, prospector, muestreador)
8. Copia simple del plano o croquis de las distintas zonas de almacenamiento y manejo de materiales, trampas y muestras colectadas
9. Manual de procedimientos de acuerdo a lo señalado en el numeral 4.3 de este instructivo
10. Lista de equipos, indicando nombre, marca, modelo, fecha de puesta en servicio, fecha de última mantención realizada por una empresa de certificación formal externa acreditada por la entidad correspondiente

11. Lista de materiales, reactivos y material de referencia requeridos para el diagnóstico de cada muestra, según el protocolo o análisis para los cuales postulará
12. Manual de procedimientos de manejo, revisión y análisis de muestras

El cumplimiento de los requisitos descritos, tanto en el Reglamento Específico de Autorización de Laboratorios de Análisis/Ensayos, como en éste instructivo, serán confirmados por el Servicio en la visita de verificación. Asimismo, en la visita de verificación, el SAG solicitará al postulante (en caso que aplique), el análisis de muestras control, mediante la ejecución de la/s técnica/s solicitada/s a autorizar, ya sea por parte de uno o más analistas del laboratorio, según determine el verificador.

## **5. ASPECTOS GENERALES DEL MONITOREO Y ANÁLISIS**

Sin perjuicio que todas las actividades ejecutadas por el postulante a la autorización, deben ser realizadas de acuerdo a lo establecido en el presente instructivo, se deberá cumplir además con lo siguiente:

### **5.1 Implementación del sistema de trapeo**

El sistema de trapeo debe realizarse de acuerdo a lo establecido en el anexo 2 del presente instructivo y consiste en la instalación, revisión y mantención de trampas que contienen un atrayente adecuado para la detección de la plaga. El monitoreo con trampas permite determinar la ausencia, presencia y/o nivel poblacional de individuos adultos de la plaga en los lugares donde son instaladas.

### **5.2 Implementación sistema de prospección visual y muestreo de fruta**

La prospección visual y el muestreo de fruta hospedante tienen como propósito determinar la ausencia o presencia de individuos en estado inmaduro de *Drosophila suzukii*, ya sean huevos, larvas o pupas.

La actividad será efectuada según lo normado en el anexo 3 del presente instructivo, en los huertos/cultivos o plantas de fruta hospedante o potencialmente hospedante. También será efectuada esta actividad en la vegetación que presente fruta en estado infestable (Fruta hospedante y potencialmente hospedante) y que se encuentre inmediatamente colindante al huerto/cultivo o lugar de monitoreo.

### **5.3 Captación de las muestras**

Las actividades de monitoreo de la plaga cuyo resultado es la captación (colecta) de muestras, pueden ser efectuadas por la entidad autorizada, empresas, productores y también por particulares, de acuerdo a los procedimientos establecidos por el Servicio en cada anexo técnico respectivo para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii*.

Las muestras serán enviadas a los laboratorios autorizados debidamente etiquetadas para su identificación. Con cada muestra enviada a laboratorio debe ser adjuntada la siguiente documentación, dependiendo del tipo de muestra:

- Si la muestra corresponde a estados adultos de la plaga (colectados en trampas), debe adjuntarse a cada muestra enviada una copia digital y/o en papel de la planilla Excel denominada "Trapeo y análisis DS autorizados" (código F-GF-CGP-PT-201), en la cual debe completarse la información requerida en la hoja de cálculo denominada "Datos trampas" y también debe ser completado lo que sea aplicable en la hoja de cálculo denominada "Revisiones trampas". Ambas hojas de cálculo forman parte de la misma planilla. También podrían ser ocupados otros formularios dispuestos por el Servicio para tal efecto.
- Si la muestra corresponde a estados inmaduros de la plaga (colectados a partir de la prospección visual y/o muestreo de fruta), debe adjuntarse a cada muestra enviada una copia digital y/o en papel de la planilla en Formato Excel denominada "Prospección, muestreo de fruta y análisis DS autorizados" código F-GF-CGP-PT-202.

#### **5.4 Traslado o envío de muestras desde el lugar de muestreo**

El despacho o traslado de la/s muestra/s, desde el lugar en donde ésta fue recolectada hasta las dependencias de laboratorio, será de responsabilidad de cada entidad autorizada a cargo del monitoreo de la plaga. Sin perjuicio de lo anterior, podrá utilizar los servicios de una empresa de transporte de encomiendas o courier reconocida a nivel nacional, establecida legalmente, que garantice el envío en el tiempo y que mantenga las condiciones de temperatura adecuadas (mantención de cadena de frío de ser necesario), según los requerimientos específicos establecidos en los anexos técnicos respectivos para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii*.

#### **5.5 Recepción y manejo de la muestra**

##### **5.5.1 Recepción de la muestra**

El plazo para recepcionar la muestra en el laboratorio, no debe superar el tiempo establecido en los anexos del presente instructivo según la actividad y/o análisis correspondiente.

Posteriormente, el responsable técnico del laboratorio deberá evaluar la condición de la muestra para el análisis, considerándose como muestra apta, aquella que se encuentra adecuadamente etiquetada, presenta la información de respaldo correspondiente, no presenta signos evidentes de deshidratación y/o descomposición, además debe ser representativa en cantidad y tamaño.

Si la muestra presenta condiciones de embalaje inadecuadas o no apta para análisis, ésta debe ser rechazada.

Las muestras deberán ser conservadas, hasta el momento del análisis, según lo establezcan los anexos técnicos respectivos para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii*.

##### **5.5.2 Metodología de diagnóstico.**

El laboratorio autorizado deberá realizar los análisis mediante la/s metodología/s establecida/s en el anexo respectivo al cual desea postular:

- Anexo 4: Identificación de estados adultos de *Drosophila suzukii* a través de taxonomía tradicional.
- Anexo 5: identificación molecular de *Drosophila suzukii* mediante técnica PCR-RFLP a partir de adultos, larvas, pupas y huevos.

#### **5.6 Esterilización y eliminación de material de desecho**

El material vegetal de desecho, debe ser eliminado de forma segura y sin riesgo de dispersión de la plaga acorde a los anexos técnicos respectivos para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii*, sin dejar residuos en el laboratorio.

El material contenido en las muestras que han sido colectadas en trampas y que resultaron ser negativas a la presencia de *Drosophila suzukii* deben ser eliminadas en forma segura, sin riesgo de contaminar otras muestras, e idealmente a través de la red de alcantarillado.

### **6. REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS**

Los resultados obtenidos del análisis de muestras deberán ser informados al SAG de acuerdo a lo indicado en los anexos técnicos respectivos para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii*.

### **7. SUPERVISIÓN DE LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS**

Se efectuará supervisión a quienes apliquen los análisis/ensayos mencionados en el presente Instructivo técnico, de acuerdo a lo indicado en el Reglamento Específico para la Autorización de laboratorios de análisis/ensayo (D-GF-CGP-PT-012).

Sin perjuicio de lo anterior, el laboratorio autorizado deberá estar dispuesto a recibir supervisiones

## INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

Código: D-GF-CGP-PT-046

Versión: 01

adicionales, en cualquier momento, ya sea auditorías nacionales y/o internacionales, asimismo el Encargado de la Supervisión SAG del laboratorio autorizado, podrá solicitar a este último, en cualquier momento, analizar un set de muestras, tanto positivas como negativas para verificar la ejecución del análisis.

La respuesta a los incumplimientos, hallazgos y/u observaciones encontradas durante la supervisión, deberán ser respondidas por el laboratorio autorizado en un plazo no superior a 10 días hábiles desde la recepción del informe de supervisión.

La renovación de la autorización, quedará supeditada a la emisión de un informe, que indique que el laboratorio autorizado no posee No Conformidades que afectan el desempeño, conforme a las especificaciones contenidas en el presente instructivo técnicos y reglamento específico correspondiente.

Para realizar la supervisión se deberá utilizar el Informe de supervisión para el monitoreo y análisis de la plaga *Drosophila suzukii*, código F-GF-CGP-PT-198 del presente instructivo.

### 8. MEDIDAS POR INCUMPLIMIENTO

El SAG aplicará las medidas por no cumplimiento indicadas en el documento denominado Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo (D-GF-CGP-PT-012).

Sin perjuicio de lo anterior, la detección de algún incumplimiento o hallazgo durante las supervisiones, implicará el deber evaluar por parte del SAG, la criticidad del mismo, por lo cual el autorizado quedará afecto a la aplicación de medidas por incumplimiento dependiendo del tipo de incumplimiento en sus obligaciones.

Las medidas específicas que se pueden aplicar -Suspensión de la autorización o Revocación de la autorización - ante la detección de incumplimientos dependerán del tipo de incumplimiento detectado

Cabe señalar que, en el caso de detectar incumplimientos, el supervisor podrá consignar en el Informe de supervisión para el Monitoreo y análisis de la plaga *Drosophila suzukii* una amonestación por escrito y establecerá un plazo para solucionar el hallazgo. En caso que el incumplimiento no sea subsanado, en el plazo establecido, se aplicará la medida por incumplimiento que corresponda.

### 9. ENTREGA DE RESULTADOS

Las entidades autorizadas, deberán cumplir con lo establecido en el título 8 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo (D-GF-CGP-PT-012) y con lo establecido en los Instructivos técnicos respectivos para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii*.

En caso de que el laboratorio autorizado determine una o más muestras positivas a la especie *Drosophila suzukii*, debe realizar el siguiente procedimiento:

- Desde la recepción de la muestra por parte del laboratorio de análisis de muestras respectivo, hasta la recepción de los resultados de análisis en el SAG Central, no debe exceder los 5 días corridos.
- Enviar a DPAF/SSV- Subdepartamento Moscas de la fruta-, y a SAG Regional (Laboratorio SAG regional y/o Protección Agrícola y Forestal SAG regional) una copia de las planillas en formato Excel denominadas "Trampeo y análisis DS autorizados" y de la planilla "Prospección visual, muestreo de fruta y análisis DS autorizados" indicados en este instructivo tanto en formato digital, como una copia en formato impreso (escaneado con los correspondientes timbres de la entidad autorizada) y al correo [drosophila.suzukii@sag.gob.cl](mailto:drosophila.suzukii@sag.gob.cl)
- Notificar y enviar la(s) muestra(s) con ejemplares positivos al Laboratorio Regional S.A.G. establecido.
- Notificar del envío de la(s) muestra(s) con ejemplares positivos al Laboratorio Mosca de la Fruta del Nivel Central.
- Informar al usuario que envía la muestra para análisis, sobre el resultado de la misma.

A su vez el laboratorio autorizado, deberá conservar por un período de 5 años, copia de los resultados de los análisis. Estos registros deberán ser mantenidos en forma documental (digital o impreso), en las dependencias del tercero autorizado y deberá estar disponible para las supervisiones que realice el Servicio.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS  
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*  
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

Código: D-GF-CGP-PT-046

Versión: 01

Cualquier anomalía que el laboratorio autorizado perciba en los análisis, deberá informarla al Servicio.

El informe de resultados de análisis de muestras efectuadas por los laboratorios autorizados, corresponde a las planillas en formato Excel denominadas "Trampeo y análisis DS autorizados" y a la planilla "Prospección visual, muestreo de fruta y análisis DS autorizados" indicados en este Instructivo y deben ser enviados al Subdepartamento Moscas de la fruta/SSV/ DPAF, y al SAG Regional (Laboratorio SAG regional y/o Protección Agrícola y Forestal SAG regional). La frecuencia de entrega de este informe será en forma mensual el día 5 de cada mes durante todo el año.

Los informes de resultados de análisis de muestras deben ser emitidos con el timbre de laboratorio, la fecha de emisión del informe y con el nombre y firma del responsable técnico del laboratorio.

## 10. OBLIGACIONES

Sin perjuicio de las obligaciones estipuladas en el capítulo 7 del Reglamento específico de autorización de laboratorios de análisis/ensayos, el laboratorio autorizado, deberá cumplir con lo siguiente:

- No podrá ejercer como tercero autorizado, cuando el representante legal, socios, directores, accionistas, gerentes, responsable técnico y/o analistas tengan un interés directo con la actividad para la cual está postulando u otras que determine el Servicio.
- El Servicio podrá limitar las actividades de un laboratorio, si el proceso de obtención y análisis de muestras significa transportar material vegetal, desde un área reglamentada hacia un área libre de la plaga. Eventualmente, el Servicio podrá autorizar el operar bajo estas condiciones, lo que estará supeditado al análisis de cada caso, pudiendo exigir el SAG el cumplimiento de medidas adicionales orientadas a evitar una posible dispersión de una plaga.

## 11. FORMULARIOS Y ANEXOS

Listado de Anexos	
Anexo 1	Instrucciones para completar planilla trampeo y análisis DS autorizados
Anexo 2	Implementación sistema de trampeo
Anexo 3	Implementación Sistema prospección visual y el muestreo de fruta
Anexo 4	Identificación de estados adultos de <i>Drosophila suzukii</i> a través de taxonomía tradicional
Anexo 5	Identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP a partir de adultos, larvas, pupas y huevos
Anexo 6	Listado hospedantes de la plaga <i>Drosophila suzukii</i>

Listado de Formularios	
F-GF-CGP-PT-196	Formulario anexo para el monitoreo y análisis de la plaga <i>Drosophila suzukii</i>
F-GF-CGP-PT-197	Formulario de identificación de personal
F-GF-CGP-PT-198	Informe de supervisión para el monitoreo y análisis de la plaga <i>Drosophila suzukii</i>
F-GF-CGP-PT-199	Ficha de inspección de trampas. Autorizados <i>Drosophila suzukii</i>
F-GF-CGP-PT-200	Ficha de identificación de muestra de fruta para <i>Drosophila suzukii</i>
F-GF-CGP-PT-201	Planilla Excel trampeo y análisis DS autorizados
F-GF-CGP-PT-202	Planilla Excel prospección muestreo de fruta y análisis DS autorizados

**INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR PLANILLA**  
**TRAMPEO Y ANÁLISIS DS**

**1. OBJETIVO**

El presente documento tiene la función de indicar paso a paso el llenado de información en el proceso de monitoreo a través de Sistema de Trampeo de *Drosophila suzukii* y análisis de muestras en laboratorio (tanto entomológico como molecular).

**2. INTRODUCCION A LA PLANILLA**

La planilla Excel "Vigilancia *Drosophila suzukii* autorizados" será utilizada para consolidar toda la información obtenida en el proceso de Monitoreo por trampas de la plaga.

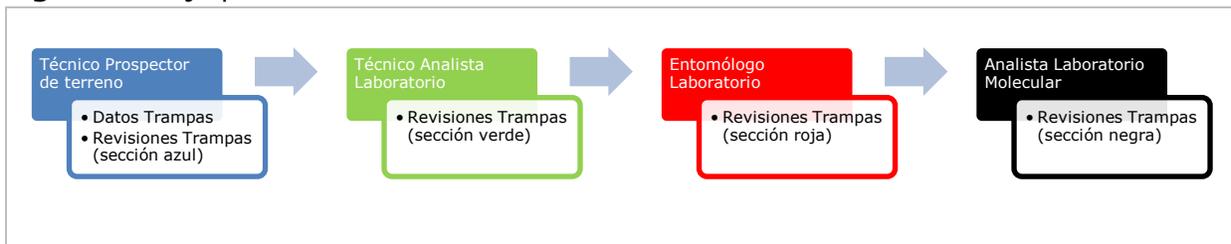
Este documento deberá contener todos los datos de las trampas que hayan sido instaladas a nivel nacional y a su vez todos los resultados de análisis de muestras efectuados por los distintos laboratorios.

El archivo consta de dos partes: La primera parte se encuentra en la Hoja Excel "**Datos Trampas**" que contiene todos ítems en relación a la identificación de las trampas, desde a qué productor pertenece hasta los datos de la ubicación donde se encuentra; La segunda parte, en la Hoja "**Revisiones Trampas**" corresponde a los resultados de las revisiones efectuadas a éstas, desde la inspección en terreno hasta los laboratorios técnicos, entomológicos y moleculares.

Cada parte del proceso debe ser ingresado según corresponda, en las distintas partes de la planilla. Cada proceso se indica con un color distinto para facilitar el trabajo a quienes deben llenarla (Figura 1).

Así en la Hoja "Datos Trampas" todas las celdas están indicadas en color azul, lo que significa que esta sección debe ser llenada por el Técnico Prospector de terreno. La Hoja "Revisiones Trampas" está marcada con 4 colores, donde las columnas de color azul nuevamente deben ser completadas por el Técnico de terreno; las columnas de color verde corresponden al Técnico analista de laboratorio; las columnas de color rojo a Entomólogo de Laboratorio y finalmente las columnas de color negro por el Analista de Laboratorio Molecular (si es que los ejemplares se envían para este tipo de análisis).

**Figura 1.** Flujo proceso llenado información de Planilla



**3. INGRESO DE INFORMACIÓN**

Debe tenerse en cuenta que el llenado de la planilla en cuando a texto corresponda sea escrito **SIN ACENTOS** para el correcto funcionamiento de ésta y claridad de información, facilitando el proceso de análisis y consolidación de datos durante la temporada.

	<b>ANEXO 1</b>
	<b>INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR PLANILLA TRAMPEO Y ANÁLISIS DS</b>

### 3.1 Pestaña “Datos Trampas”

Los datos en este ítem (Figura 2) deben ser ingresados en su totalidad por el Técnico Prospector de terreno (celdas en color azul). La Hoja o pestaña contiene los siguientes campos:

- **Nombre Región:** Indicar el nombre de la región donde está instalada la trampa.
- **Nombre Comuna:** Indicar la comuna geográfica donde se ubica la trampa.
- **Rut Persona natural/jurídica:** Indicar el RUT de la persona o empresa a la cual pertenece el lugar de ubicación.
- **Nombre Predio o Huerto:** Indicar el nombre del predio o huerto donde se encuentra.
- **Código CSG:** Señalar si huerto tiene asignado un código CSG por el SRA del SAG, de lo contrario dejar celda sin responder.
- **Código Trampa:** Ingresar código único de la trampa. Se recomienda utilizar máximo 12 espacios, donde los dos primeros correspondan al nombre de la plaga que se está monitoreando, en este caso *Drosophila suzukii*, seguido de la región a la cual corresponde, asignar letras de acuerdo al nombre del huerto donde se ubica y terminar con los 3 últimos dígitos indicando el numero correlativo de la trampa.  
**Por ejemplo,** una trampa instalada en la novena región, del huerto Los Boldos, número 10 tendría el código **DS-09-LB-010**. También se puede agregar el nombre de la comuna o el cuartel del que proviene, de acuerdo a su forma de trabajo.
- **Fecha de instalación:** Señalar la fecha en que fue instalada la trampa.
- **Especie:** de la planta o árbol hospedero donde se instala trampa.
- **Variedad:** de la planta o árbol hospedero.
- **Coord\_X:** Coordenadas UTM de Sistema de coordenadas geográficas WGS 84. Considerando husos 18 y 19 para Chile continental, huso 12 para Isla de Pascua y huso 17 para el Archipiélago de Juan Fernandez) Esta coordenada es un número de **6 dígitos**.
- **Coord\_Y:** Coordenadas UTM de Sistema de coordenadas geográficas WGS 84. Considerando husos 18 y 19 para Chile continental, huso 12 para Isla de Pascua y huso 17 para el Archipiélago de Juan Fernandez) Esta coordenada es un número de **7 dígitos**.
- **Tipo de trampa:** Indicar si se instala trampa casera (botella, vaso plástico, otros) o comercial (ingresar modelo de trampa) y el tipo de atrayente (sidra o vinagre de manzana, atrayente comercial u otro).
- **Prospector que instala:** Nombre del técnico de terreno que realiza la instalación.
- **Observaciones de instalación:** Cualquier indicación que no haya sido mencionada en los demás campos y que prospector considere que sea necesario señalar.

**Figura 2.** Ejemplo de llenado Planilla Sección “Datos Trampas”

**INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR PLANILLA  
 TRAMPEO Y ANÁLISIS DS**

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	LLENADO POR TÉCNICO TERRENO													
2	Nombre	Nombre Com	Rut Persona natural	Nombre Predio o	Código C	Código Tra	Fecha de Instal	Especie	Variedad	Coord	Coord	Tipo Trampa	Prospector que	Observaciones de Instal
3	Mauile	Cauquenes	3.879.686-k	Los Baldos		DS-07-LB-003	02-11-2017	cerezo	Bing	741737	6076646	Casera (Botella+ vinagre manz	Juan Mendez	Huerto cercano a carretera int
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														

**3.2 Pestaña “Revisiones Trampas”**

**3.2.1 Celdas color azul:** debe ser llenado por Técnico Prospector de terreno (Figura 3)

- **Región:** nombre región (igual que en punto 3.1)
- **Comuna:** nombre comuna (igual que en punto 3.1)
- **Rut Persona natural o jurídica:** igual que en punto 3.1
- **Código CSG (SRA/SAG):** igual que en punto 3.1
- **Código Trampa:** igual que en punto 3.1
- **Fecha Colecta Muestra (en terreno):** Señalar fecha en que se revisa la trampa y colectan ejemplares desde la trampa.
- **Prospector que colecta la muestra:** Nombre del Técnico de terreno que está realizando la revisión y colecta de muestra.
- **Revisión (SI/NO):** Indicar si la trampa fue revisada SI ó NO. Puede ser en algunas situaciones, que se programa la revisión de trampas para una fecha y ese día la trampa no puede ser revisada porque está perdida.
- **Muestra (SI/NO):** Especificar si al momento de realizar la revisión en terreno se obtuvo muestra para el posterior análisis en Laboratorio SI ó NO.
- **Cambio de lugar de la trampa:** Señalar si la trampa ha sido reubicada desde su última posición SI ó NO (de ser así, se deben actualizar la información de la pestaña “Datos Trampas” e indicar la nueva información de la trampa.
- **Observaciones Prospector de terreno:** Cualquier indicación que no haya sido mencionada en los demás campos y que prospector considere que sea necesario señalar.

**Figura 3.** Planilla Sección “Revisión Trampas”. Datos ingresados por Técnico Prospector de terreno (celdas color azul).

**INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR PLANILLA  
 TRAMPEO Y ANÁLISIS DS**

	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	LLENADO POR TÉCNICO TERRENO								
2	Nombre del Predio o Huerto	Código CSG (SRAWSAG)	Código Trampa	Fecha de Colecta Muestra (en terreno)	Prospector (que colecta muestra)	Revisión (SI/NO)	Muestra (SI/NO)	Cambio de lugar de la trampa (SI/NO)	Observaciones Prospector Terreno
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									

**3.2.2 Celdas color verde:** Debe ser llenado por Técnico Analista de Laboratorio (Figura 4)

- **Fecha de recepción de muestras en el Laboratorio:** Fecha en que llegan las muestras al laboratorio para ser analizadas (que no necesariamente coincide con la fecha en que el técnico analista las revisa en laboratorio).
- **Sospechosos DS (POSITIVO/NEGATIVO):** Indicar si en la muestra revisada existen sospechosos (POSITIVO) ó no (NEGATIVO) de *Drosophila suzukii*.
- **Nº Ejemplares DS (si aplica):** Si se detectan ejemplares de *Drosophila suzukii* indicar la cantidad total de sospechosos que encuentra (estos deben ser enviados más tarde a Entomólogo para su verificación y posterior análisis molecular si fuese necesario).
- **Nº Hembras DS:** Del total de ejemplares *Drosophila suzukii* (si es que se encuentran) que se detecten indicar cuántos son hembras.
- **Nº Machos DS:** Del total de ejemplares *Drosophila suzukii* (si es que se encuentran) que se detecten indicar cuántos son machos.
- **Identificador:** Nombre de Técnico Analista de Laboratorio.
- **Fecha de revisión de muestras en Laboratorio:** Fecha en que analista efectivamente revisa la muestra en laboratorio.
- **Observaciones Técnico Laboratorio:** Cualquier indicación que no haya sido mencionada en los demás campos y que el Técnico Analista considere que sea necesario señalar.

**Figura 4.** Planilla Sección "Revisión Trampas". Datos ingresados por Técnico Analista Laboratorio (celdas color verde).

**INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR PLANILLA  
TRAMPEO Y ANÁLISIS DS**

	M	N	O	P	Q	R	S	T
1	LLENADO POR TÉCNICO ANALISTA DE LABORATORIO							
2	Fecha Recepción de muestras en labora	Sospechosos DS (POSITIVO/NEGATIVO) N°	Ejemplares DS (Si Aplica) N°	Hembras DS N°	Machos DS N°	Identificador	Fecha Revisión de muestras en labora	Observaciones Técnico Labora
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								

**3.2.3 Celdas color rojo:** Debe ser llenado por Entomólogo Laboratorio (Figura 5)

- **Confirmación Entomólogo (SI/NO):** Si el Entomólogo revisa SI ó NO la muestra sospechosa que le envía el Técnico Analista del Laboratorio.
- **Nombre Entomólogo:** Nombre de Entomólogo que confirma la muestra sospechosa.
- **Fecha confirmación:** Fecha en que se confirma la muestra sospechosa.
- **Nombre Laboratorio Entomólogo:** Nombre del Laboratorio donde se confirma la muestra sospechosa.
- **Total DS confirmados:** Indicar número total de ejemplares *Drosophila suzukii* confirmados.
- **Observaciones Entomólogo:** Cualquier indicación que no haya sido mencionada en los demás campos y que el Entomólogo considere que sea necesario señalar. Como, por ejemplo, si el total de ejemplares *Drosophila suzukii* confirmados varía en relación al número indicado por el Técnico Analista del Laboratorio (indicar el número de cuántas hembras y cuántos machos determina finalmente en la muestra).

**Figura 5.** Planilla Sección "Revisión Trampas". Datos ingresados por Entomólogo Laboratorio (celdas color rojo).

	U	V	W	X	Y	Z
1	LLENADO POR LABORATORIO ENTOMOLOGICO					
2	Confirmacion Entomologo (SI/NO)	Nombre Entomologo	Fecha Confirmacion	Nombre Laboratorio Entomologi	Total DS confirmados	Observaciones Entomologo
3						
4						
5						
6						
7						
8						

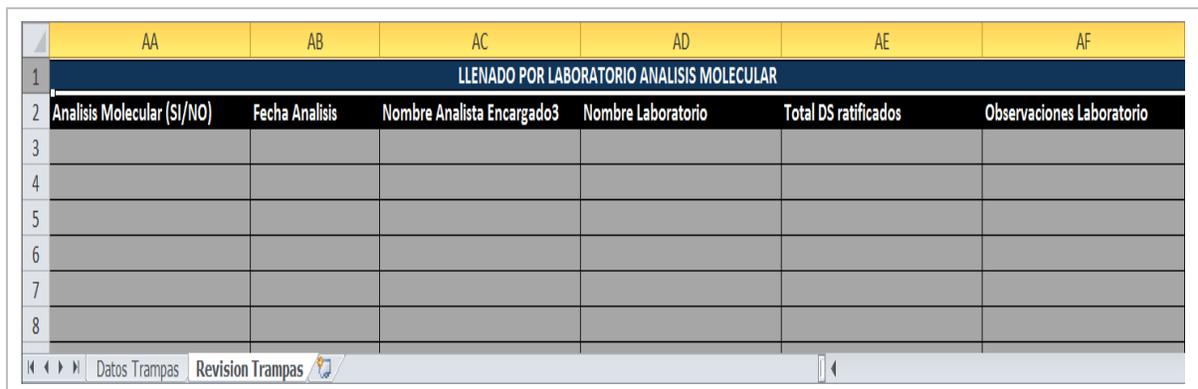
**INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR PLANILLA  
 TRAMPEO Y ANÁLISIS DS**

**3.2.4 Celdas color negro:** debe ser llenado por Analista Laboratorio Molecular (Figura 6)

- **Análisis Molecular (SI/NO):** Si es que se realiza análisis molecular SI ó NO.
- **Fecha análisis:** Fecha en que se realiza el análisis molecular.
- **Nombre Analista encargado:** Nombre del Analista de Laboratorio que realiza análisis molecular.
- **Nombre Laboratorio:** Nombre del Laboratorio donde se lleva a cabo el análisis.
- **Total DS ratificados:** Indicar número total de ejemplares *Drosophila sukuzii* confirmados.
- **Observaciones Laboratorio:** Cualquier indicación que no haya sido mencionada en los demás campos y que el Analista considere que sea necesario señalar. Como, por ejemplo, si el total de ejemplares *Drosophila sukuzii* confirmados varía en relación al número indicado por el Técnico Analista del Laboratorio (indicar el número de cuántas hembras y cuántos machos determina finalmente en la muestra).

**Figura 6.** Planilla Sección "Revisión Trampas". Datos ingresados por Analista Laboratorio Molecular (celdas color negro).

	AA	AB	AC	AD	AE	AF
1	LLENADO POR LABORATORIO ANALISIS MOLECULAR					
2	<b>Analisis Molecular (SI/NO)</b>	<b>Fecha Analisis</b>	<b>Nombre Analista Encargado3</b>	<b>Nombre Laboratorio</b>	<b>Total DS ratificados</b>	<b>Observaciones Laboratorio</b>
3						
4						
5						
6						
7						
8						



## **IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE TRAMPEO**

El sistema de trampeo consiste en la instalación, revisión y mantención de trampas que contienen un atrayente adecuado para la detección de la plaga. El monitoreo con trampas permite determinar la ausencia, presencia y/o nivel poblacional de individuos adultos de la plaga en los lugares donde son instaladas.

### **1. Instalación y ubicación de trampas de monitoreo de la plaga**

La instalación de trampas específicas se debe efectuar al interior del huerto, predio, lugares de procesamiento de fruta hospedante y/o áreas circundantes a estos lugares.

Este trampeo intensivo permitirá verificar los niveles poblacionales de la plaga en el sector y su distribución espacial en terreno. Además, este trampeo permitirá:

- Identificar las zonas o lugares con presencia de **DS** e iniciar las acciones de manejo y control que correspondan.
- Realizar un seguimiento de la dinámica poblacional de la plaga a través del tiempo, con la finalidad de implementar de mejor manera las acciones de manejo y control de ella.

### **2. Hospedante o sitio donde ubicar la trampa:**

Al interior del huerto, predio o cultivo, o áreas colindantes a estos lugares, la trampa de DS se debe instalar preferentemente en las siguientes especies frutales hospedantes, listadas en orden de preferencia de acuerdo a la literatura internacional publicada y revisada:

- Cereza y berries: frutilla (*Fragaria spp.*), frambuesa, mora (*Rubus spp.*), arándano (*Vaccinium spp.*), grosellas (*Ribes spp.*), etc.
- Carozos (*Prunus spp.*): ciruelo, nectarín, damasco.
- Uva (*Vitis spp.*), higos (*Ficus carica*), caqui (*Diospyros kaki*).
- Otros géneros y especies como: morera (*Morus spp.*), pomáceas (*Malus spp.*), y otras especies que de acuerdo al diagnóstico que se realice en el área de trabajo, se determinen como hospedantes de la plaga.
- Frutos con epidermis delgada se consideran potenciales hospedantes de DS.
- Hospedantes silvestres que además pueden servir de refugio para la plaga.

En el anexo 6 se encuentra un Listado de Hospedantes de la Plaga *Drosophila suzukii*, confeccionado según antecedentes obtenidos a través de información bibliográfica extranjera, y en el cual se señalan las especies que han sido descritas como hospederos principales, silvestres, de importancia desconocida y otros.

Es importante considerar que en el territorio nacional existe una amplia variedad de especies vegetales silvestres, tanto nativas como introducidas, que se desconoce si pudieran ser potenciales hospedantes de la plaga, o bien, pudieran servir de refugio para ella. Por ende, se recomienda -en la medida de lo posible- conocer los tipos de especies silvestres que existen cerca de huertos y áreas de procesamiento de fruta hospedante con el objetivo de monitorear estos lugares en caso de ser necesario.

En los sitios o lugares de procesamiento de fruta hospedante, o donde no existe una especie adecuada para la instalación de la trampa, éste puede ser ubicada en estructuras directamente asociadas a los lugares donde existe mayor probabilidad de detección de la plaga.

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE TRAMPEO**

**3. Ubicación específica de la trampa en el cultivo/planta**

- Determinar el lugar donde se instalará la trampa (de acuerdo al orden de preferencia de hospedante de la plaga y sectores que favorezcan su desarrollo como, por ejemplo, sectores con alta humedad relativa).
- La trampa debe colgarse en el follaje de la planta/árbol, o lo más cercano posible a ésta.
- La trampa debe colgarse a la altura de la planta/árbol donde existe presencia de fruta.
- La trampa debe colgarse de preferencia en sectores más sombríos de la planta o cultivo, y con presencia de mayor humedad ambiental.
- La trampa no debe colgarse expuesta en forma directa al sol.

**Instalación de la trampa en cultivo o huerto de fruta hospedante.**

- Debe instalarse al menos 1 trampa por hectárea. En huertos con una superficie menor a 1 ha, debe instalarse una trampa por cada huerto o cultivo.

**Instalación de la trampa en sitios de procesamiento de fruta hospedante.**

- Debe instalarse al menos 1 trampa asociada a este tipo de recintos, la cual debe colgarse directamente asociada al lugar donde permanecen los desechos de fruta del recinto.
- Las otras trampas que puedan ser instaladas, deben colgarse en el lugar de ingreso al recinto, o al interior del recinto donde exista manipulación de la fruta.

**Instalación de la trampa en áreas colindantes o periféricas (deslinde) al cultivo/huerto o sitio de procesamiento de fruta hospedante.**

- En el deslinde inmediato (cerco vegetal del cuartel o huerto), debe instalarse al menos 1 trampa, en dirección a donde exista mayor riesgo de presencia de áreas que sirvan de refugio para la plaga. Idealmente es que se logre instalar una trampa por cada punto cardinal del cultivo/huerto o del sitio de procesamiento de fruta hospedante.
- Adicionalmente, en áreas inmediatamente colindantes al huerto y que presenten vegetación que pueda servir de refugio de la plaga, se debe instalar al menos 1 trampa.

**4. Tipo de trampas y atrayente a utilizar**

Se pueden utilizar los distintos tipos de trampas y cebos atrayentes que se encuentren disponibles en forma comercial. Se sugiere que las trampas a usar posean pequeños orificios de entrada (idealmente entre 3 y 5 mm de diámetro) con el objetivo de evitar la captura de insectos de mayor tamaño que compiten con las distintas especies de drosófilas que puedan ser capturadas en la trampa y dificultan el análisis posterior de la muestra.

En caso de ser necesario, se pueden utilizar trampas de fabricación manual o artesanal.

Opcionalmente, se puede instalar dentro de la trampa una lámina amarilla con pegamento, en la cual pueden quedar pegados los insectos. Esto permite efectuar un mejor reconocimiento a simple vista de los insectos machos de DS que presentan ala manchada en la parte apical.

La mayoría de los cebos atrayentes utilizados para DS son de tipo líquido. El cebo atrayente genérico utilizado corresponde al vinagre o sidra de manzana.

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE TRAMPEO**

Se puede fabricar una mezcla de atrayente de forma artesanal que sea de mejor atracción para la detección del insecto. A nivel internacional han resultado adecuadas las siguientes mezclas:

Receta 1: Vinagre de sidra de manzana con alcohol etílico <sup>1</sup> .	Receta 2: Fermentado de un cebo atrayente (preparación de 250 ml de mezcla) <sup>1</sup> .	Receta 3: Cebo de azúcar-levadura <sup>2</sup> .
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 90 % vinagre de sidra de manzana.</li> <li>▪ 10% alcohol etílico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ½ cucharadita de azúcar (2 gr).</li> <li>▪ 1/8 cucharadita de levadura de pan activa y seca (0.325 gr).</li> <li>▪ 2 cucharadas de harina de trigo (17.25 gr).</li> <li>▪ 1/5 cucharadita de vinagre de sidra de manzana (1 ml).</li> <li>▪ 250 ml de agua (la proporción de sidra de manzana: agua equivale a 1:25)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 1 cucharada de levadura activa seca.</li> <li>▪ 4 cucharadas de azúcar.</li> <li>▪ 1 gota de jabón sin aroma.</li> <li>▪ 350 cc de agua.</li> </ul>
<p>Fuente:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 1 Cornell University: Spotted Wing Drosophila (SWD) Monitoring Traps. Disponible en <a href="http://www.fruit.cornell.edu/spottedwing">www.fruit.cornell.edu/spottedwing</a></li> <li>▪ 2 Michigan State University: Managing Spotted Wing Drosophila in Michigan Cherry. Disponible en <a href="http://www.ipm.msu.edu/uploads/files/SWD/MI_SWD_Guide_Cherry_June2017.pdf">http://www.ipm.msu.edu/uploads/files/SWD/MI_SWD_Guide_Cherry_June2017.pdf</a></li> </ul>		

Los cebos atrayentes tipo comercial, tienen la ventaja de que son más estables en la liberación de volátiles en el tiempo y/o permiten mayor durabilidad en campo y/o ha sido probada su eficacia, en comparación con los atrayentes de tipo artesanal.

Puede ser utilizado cualquier tipo de trampa y atrayente, siempre y cuando, se trate de productos aprobados con medio de respaldo como estudios científicos de entidades reconocidas a nivel mundial. Se deben tener disponible los documentos de respaldo tanto al momento de postular a la autorización como al momento de ser supervisados.

## **5. Revisión de trampas**

### **5.1 Frecuencia de revisión**

Huertos durante el período de primavera – verano hasta la cosecha: revisión 1 vez por semana. Esta frecuencia de revisión se inicia desde la cuaja de fruta, o cuando se estima que la primera fruta del huerto comienza a pintar, y debe mantenerse hasta que se retire o elimine toda la fruta remanente tanto del árbol como del suelo.

Huertos durante el período de otoño – invierno (período del año en el cual el huerto no presenta fruta hospedante): No dejar pasar más de 15 días entre una revisión y la siguiente. Se debe considerar que el tipo de cebo atrayente y su duración en campo, determinará también la frecuencia de revisión de trampas.

### **5.2 Procedimiento de inspección de la trampa en terreno**

Con el propósito de recuperar los ejemplares capturados, la inspección de las trampas de DS se debe realizar de la siguiente manera y en el orden indicado:

1. Localizar y retirar la trampa del lugar en que está colgada.
2. Revisar la trampa cerrada sin abrir para evaluar y voltear los insectos que puedan estar volando en su interior.

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE TRAMPEO**

3. Abrir la trampa en terreno, en un lugar apropiado para revisar y/o realizar la colecta de los insectos desde la trampa.
4. Efectuar recorrido visual al interior de la trampa con cebo atrayente, a fin de visualizar la posible presencia de DS (individuos machos con presencia de mancha en la parte apical del ala). En el caso de que la trampa en su interior posea además una lámina pegajosa, entonces ésta debe ser revisada con el mismo objetivo mencionado. Tanto la revisión del líquido como de la lámina pegajosa, permitirá efectuar un pre-diagnóstico de los ejemplares en terreno, con el objetivo de enviar estas muestras con carácter de "muestra sospechosa de DS" a los laboratorios de análisis.
5. Vaciar el cebo atrayente líquido en un recipiente, utilizando un colador o filtro para retener los ejemplares colectados. El cebo atrayente líquido debe ser conservado en un recipiente apropiado para ser reutilizado en la misma trampa (si el cebo de tipo comercial así lo permite), o debe ser depositado en un envase adecuado para su posterior desecho en un lugar apropiado (alcantarillado). El cebo atrayente que es desechado en un lugar no apropiado, constituye una fuente de contaminación que debilita la acción de la trampa en campo.
6. Se debe efectuar un pre-diagnóstico de los insectos colectados en la trampa (en busca de individuos machos con presencia de ala manchada en la punta del ala que son sospechosos de DS), vaciando los insectos atrapados en el colador o filtro en un plato con agua de color blanco. Las muestras que contengan insectos sospechosos, entonces se clasifica como "muestra sospechosa de DS".
7. Se colecta el 100% de los insectos capturados en la trampa, los cuales se traspasan a un envase de colecta de muestra que contiene alcohol etílico al menos al 70%. La colecta debe ser efectuada de forma minuciosa, con el objetivo de no perder los insectos capturados en la trampa. La colecta de los insectos puede ser efectuada con algunas variaciones, dependiendo fundamentalmente de la cantidad de insectos capturados en la trampa:
  - reducida cantidad de insectos capturados: retirando directamente con un pincel todos los insectos desde el colador o filtro, y traspasarlos al tubo de colecta de muestra.
  - alta cantidad de insectos capturados: todos los insectos capturados por el colador o filtro, se vacían a un recipiente de boca ancha que contiene entre 20 a 40 ml de alcohol y posteriormente el contenido total del recipiente se traspasa al tubo o envase de colecta de muestra.
8. Los ejemplares capturados en una única trampa y en una misma fecha de colecta constituyen una "muestra". Si la colecta de una trampa es muy numerosa, puede requerirse más de un envase de colecta por cada trampa, los que en su conjunto constituyen la "muestra".
9. Se coloca una etiqueta al envase de colecta, con la información detallada que identifica la trampa. En el caso de que la inspección visual haya determinado una "muestra sospechosa de DS", esto debe ser indicado en el envase de colecta.
10. El cebo atrayente líquido que ya fue revisado, si corresponde, se vuelve a colocar en una trampa limpia. En caso de ser un cebo atrayente sintético, se debe ver la etiqueta del producto que indica su duración en campo o su reciclaje; y en caso de un cebo elaborado artesanalmente, debe cambiarse semanalmente debido a la descomposición de los ejemplares colectados y la pérdida de poder de atracción del cebo. Si se realiza un cambio de atrayente, se rellena con el nuevo, y el antiguo se vacía a un envase para ser posteriormente desechado. Bajo ninguna circunstancia el cebo atrayente se podrá desechos en el mismo terreno.

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE TRAMPEO**

11. Se marca la tarjeta calendario de identificación de la trampa con la fecha de revisión actual.
12. Se cuelga nuevamente la trampa en el lugar en que estaba originalmente, o se evalúa si es necesario reubicarla en un nuevo lugar.
13. Se completa la "Ficha de Inspección de trampas autorizados. *Drosophila suzukii*" (código F-GF-CGP-PT-199) con los datos de la revisión.
14. Se continúa con la siguiente trampa de DS a revisar, si corresponde.

**5.3 Cebado de trampas en terreno:**

En el caso de usar atrayente líquido, la trampa debe llenarse con 200 a 250 ml del líquido atrayente, cantidad que depende del tipo de trampa a utilizar y de su capacidad para retener líquido.

Al utilizar un atrayente **líquido o sólido comercial**, se deben seguir estrictamente las indicaciones dadas por el fabricante.

En cada revisión, **la trampa ya utilizada** debe ser reemplazada por una trampa limpia.

Hay que tener presente que el atrayente líquido no se evapore totalmente de la trampa, lo que implica que al momento de la revisión debe existir una cantidad adecuada de atrayente en forma líquida en ella.

La frecuencia de cambio del atrayente dependerá del producto comercial a utilizar. En el caso de utilizar vinagre de manzana o una mezcla artesanal, la frecuencia de cambio del cebo debe ser semanal.

**5.4 Despacho de las muestras recolectadas en las trampas a un laboratorio autorizado por el SAG.**

Todas las muestras colectadas en terreno y mantenidas en alcohol, con su correspondiente etiqueta, deben ser enviadas en un plazo no superior a 3 días corridos desde el momento de la colecta, a los laboratorios acreditados por el SAG, para su respectivo análisis y diagnóstico.

**5.5 Registro y manejo de información de trampas**

Cada trampa debe tener asociada una "Ficha de inspección de trampas autorizados *Drosophila suzuki*" (código F-GF-CGP-PT-199), la cual corresponde a la "hoja de vida" de las mismas. Estas fichas de inspección de trampas contienen toda la información relativa a la ubicación, revisión y colecta de muestras de la trampa. Esta ficha debe ser completada en terreno al momento de la revisión de cada trampa y colecta de la respectiva muestra.

Cada trampa debe tener asociada una tarjeta de Identificación de trampas, la cual corresponde a un calendario en el cual deben marcarse las fechas de revisión de cada trampa.

**5.6 Etiqueta de cada muestra recolectada de la trampa.**

Cada muestra de insectos colectada de trampas de DS en terreno, debe ser etiquetada al momento de la colecta en campo, con al menos los siguientes datos:

1. Código de la trampa de la cual fue colectada la muestra: cifra compuesta con caracteres alfanuméricos que permite identificar la trampa de forma única e irrepetible. Se solicita que el código se construya considerando lo siguiente:
  - Se debe indicar en los últimos 3 dígitos del código el número correspondiente a la trampa.

## IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE TRAMPEO

- La trampa debe ser numerada en relación al nombre del predio o huerto. Es decir, un predio puede tener trampas correlativas del 1 al 10, otro predio puede numerar del 1 al 100, etc.
  - Dentro del código se debe mencionar el número comunal y el número de la región. Los códigos únicos territoriales respectivos se encuentran disponibles en el Decreto Supremo N° 1439, del Ministerio del Interior, que determina el Sistema de Codificación Única para regiones, provincias y comunas del país, o la norma que lo reemplace. Esta información está disponible en el Sistema Nacional de Información Municipal, <http://www.sinim.cl/>. Específicamente, en Centro de Descargas/Documentos e Informes: Comunas, Provincias y Regiones de Chile.
  - Considerando lo anterior un ejemplo de código es el siguiente: una trampa de monitoreo de *Drosophila suzukii* de la sexta región, la comuna de Rancagua y el predio Los Manzanos y la trampa 19 de ese predio se escribiría como sigue: 06-06101-PMZ-019.
  - Este código puede contemplar caracteres adicionales siempre y cuando se mantenga lo indicado con anterioridad.
2. Fecha de colecta de la muestra en el campo.
  3. Dirección de colecta de la muestra: calle, predio, huerto, etc.
  4. Región donde está ubicada la trampa.
  5. Comuna donde está ubicada la trampa.
  6. Hospedante/especie vegetal o sitio (lugar) donde está instalada la trampa.
  7. Nombre del prospector

### 5.7 Registro de los datos de trampeo

La información concerniente a cada revisión de una trampa (lugar de instalación, fecha, presencia/ausencia de muestra enviada al laboratorio, etc.) debe ser registrada en la planilla Excel denominada "Trampeo y Análisis DS autorizados" (código F-GF-CGP-PT-201). Para el adecuado manejo de esta planilla, se debe considerar lo siguiente:

1. Esta planilla Excel debe ser completada por el prospector que revisa las trampas en terreno, y la despacha junto a cada envío de muestras, al laboratorio de diagnóstico autorizado.
2. Esta planilla Excel consta de dos hojas de cálculo o "pestañas". La primera, se denomina "Datos Trampas" y la segunda "Revisiones Trampas".
3. La hoja de cálculo "Datos Trampas", debe ser completada en su totalidad por el prospector con los datos específicos relativos a la identificación y lugar de ubicación de la trampa. La trampa debe ser correctamente codificada de acuerdo al "código de la trampa" mencionado anteriormente, el cual es único e irrepetible.
4. La hoja de cálculo "Revisiones Trampas" debe ser completada en forma parcial por el prospector, quien debe indicar en esta planilla los datos relativos a la fecha de revisión de cada trampa codificada, la presencia o ausencia de muestras colectadas, así como también indicar si la trampa ha sido reubicada.
5. El resto de la Hoja Excel "Revisiones a trampas" deben ser completada según corresponda por el Analista que se encuentra en el respectivo laboratorio de entomología (celdas color verde), por el Responsable técnico (que en la planilla se indica como Entomólogo) (celdas color rojo) ó el Analista Laboratorio Molecular (celdas color negro).
6. En el caso que una trampa sea retirada temporalmente de un lugar, se debe indicar en la misma ficha de trampas que ha sido "**retirada temporalmente**".
7. En el caso que una trampa sea **reubicada en un nuevo sitio** asociado al mismo predio, huerto o áreas de procesamiento de fruta, entonces ésta debe volver a inscribirse (en una

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE TRAMPEO**

nueva fila) con su mismo código y los nuevos datos en la hoja de cálculo "Datos Trampas" de este archivo.

8. Esta planilla Excel, en sus dos hojas de cálculo, debe ser completada en forma continua en las filas, a medida que se van agregando revisiones a cada trampa. Esto implica que **NO** se deben crear nuevas hojas de cálculo adicionales dentro de la misma planilla Excel.

**6. Envío de ejemplares sospechosos de DS a laboratorio autorizado**

Si se detectan ejemplares sospechosos en el sistema de trampeo de una región o comuna de Chile donde la plaga está presente, el responsable técnico de esta actividad, puede no enviar los ejemplares a un laboratorio de análisis molecular autorizado, pero sí debe obtener el diagnóstico por taxonomía tradicional de un laboratorio autorizado.

Si se trata de una región o comuna donde aún no se ha detectado la plaga los ejemplares sospechosos detectados deben ser enviados a un laboratorio de análisis molecular autorizado por el SAG.

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE PROSPECCIÓN VISUAL Y MUESTRO DE FRUTA**

La prospección visual y el muestreo de fruta hospedante tienen como propósito determinar la ausencia o presencia de individuos en estado inmaduro de DS, ya sean huevos, larvas o pupas.

La actividad será efectuada en los huertos/cultivos o plantas de fruta hospedante o potencialmente hospedante. También será efectuada en la vegetación que presente fruta en estado infestable (fruta hospedante y potencialmente hospedante) y que se encuentre inmediatamente colindante al huerto/cultivo o lugar de monitoreo.

Esta actividad permite recopilar información útil para orientar las decisiones técnicas que se deban adoptar en el Manejo Integrado de la plaga DS en Chile. Principalmente en lo referido a evaluar si las acciones de control de la plaga en un huerto están siendo efectivas.

El período de prospección visual y muestreo de fruta, corresponde al momento en el cual la fruta está susceptible de ser infestada por el insecto, es decir, desde que la fruta se encuentra pintona y hasta finalizar la cosecha.

La fruta muestreada debe ser revisada en laboratorio o zona de análisis de muestras donde se realiza el análisis de fruta y detección de estados inmaduros de la plaga.

En caso necesario, y si a partir del análisis de fruta se determinan insectos sospechosos de DS y que se encuentran en estado vivo, deben mantenerse en cajas de crianza para que se desarrollen hasta su estado adulto y poder determinar si corresponden a *D. suzukii* en el laboratorio autorizado correspondiente.

Los ejemplares sospechosos detectados deben ser enviados a(los) laboratorio(s) predefinido(s) y autorizado(s) por SAG para su análisis molecular.

Tanto dentro del huerto como en las áreas de vegetación circundante que deslindan el huerto, se debe efectuar la prospección visual y muestreo de frutos de plantas hospederas preferentes (Anexo 6). En caso de que en estos lugares existan otro tipo de frutos, también deben ser muestreados ya que pueden ser potenciales hospedantes de la plaga y servir como fuente de infestación del huerto (frutos tipo berries de piel suave). Es importante mencionar que cualquier otra especie frutal no indicada en el listado (por ejemplo, una especie silvestre nativa u ornamental), y que por sus características sea susceptible de ser atacada por DS, debe ser muestreada.

### **1. Metodología prospección visual de la fruta**

La prospección visual de fruta corresponde a la revisión de frutos en terreno, con el propósito de identificar y distinguir síntomas o signos de presencia de fruta infestada con huevos, larvas o pupas de DS. En esta modalidad, sólo se toma como muestra la fruta que presente evidencias positivas de estar infestada por DS y que deberá ser procesada como se explica en el primer párrafo de la "Metodología de Muestreo de frutos", más abajo en el texto.

Para este propósito se analizará visualmente cierta cantidad de fruta dentro de cada planta hospedante, considerando los siguientes criterios:

1. La fruta debe estar **pintona a madura**. Si dentro del mismo árbol/planta toda la fruta presenta esta característica, entonces siempre se debe evaluar la que esté con mayor avance en su madurez.
2. Se inspecciona sólo la **fruta colgada del árbol** (no del suelo). Se evalúa aquella fruta que presenta síntomas evidentes de daño o pudrición y también aquella que aparenta estar sana, pero que mediante una observación minuciosa se verifique la presencia de leves punturas, puntos necróticos o minúsculos orificios de ovipostura. También se

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE PROSPECCIÓN VISUAL Y MUESTRO DE FRUTA**

debe observar, en algunos casos, si al apretar la fruta con la yema de los dedos en los lugares con punturas, se observa la exudación de pequeñas gotitas de jugo interno.

3. Los frutos que han sido seleccionados por presentar las características señaladas en el punto previo, se observan luego con una lupa de bolsillo o cuentahílos (al menos 10X de aumento). En el caso de frutos de piel lisa, como cereza y arándano, si existen oviposturas recientes se podrán observar dos filamentos blanquecinos que sobresalen y que corresponden a los espiráculos del huevo (por donde capta el aire). Asimismo, en frutos en que se observe alguna gota de fluido interno sobre la epidermis, al removerla se podrá ver debajo de ella la larva de *Drosophila*. En el caso de fruta que no tiene su piel lisa, como frambuesa, mora y frutilla, el daño inicial es prácticamente imperceptible a simple vista. Sólo se evidencia cuando el deterioro por las larvas está avanzado y la fruta muestra un área necrótica mayor.
4. La cantidad de frutos a observar dentro del huerto o predio es variable, pero al menos debe seleccionar 10 árboles o plantas por hectárea. Cabe señalar que no se ha definido un nivel óptimo o adecuado de prospección visual a realizar por hectárea o especie frutal, ni cuántos son los frutos a observar en cada planta o árbol seleccionado, pero sin duda que mientras más plantas/árboles sean evaluados, existe mayor grado de precisión en el diagnóstico.
5. Para seleccionar los árboles o plantas hospedantes en que se realiza esta prospección visual, será necesario considerar algunas condiciones particulares que son las siguientes:
  - Seleccionar aquellas plantas/árboles hospedantes que presenten sus frutos en un estado de madurez más avanzado.
  - Seleccionar aquellas plantas/árboles hospedantes que se ubiquen hacia los bordes del huerto. Se deberá efectuar esta prospección visual en, al menos, una planta ubicada a cada lado de los bordes del huerto.
  - Seleccionar aquellas plantas/árboles hospedantes que se ubiquen en sectores del huerto con condiciones microclimáticas más adecuadas para el desarrollo de **DS** (por ejemplo: presencia permanente de charcos de agua, abundancia de follaje, suelo enmalezado, cercanía a zonas con vegetación que puedan servir de refugio de la plaga si es que no hay fruta disponible, por ejemplo, zarzamora contigua al huerto), lugares sombríos al interior del cultivo, y todo lo que propicie una mayor humedad relativa asociada a la planta huésped.
  - Dentro del huerto, se sugiere seleccionar las plantas/árboles para realizar esta actividad siguiendo un patrón de desplazamiento en zigzag.

## **2. Metodología de Muestreo de frutos**

El muestreo de fruta consiste en la recolección dirigida (no al azar) de una muestra de fruta que por sus síntomas y signos puede estar infestada por DS. Una vez recolectados, los frutos deben ser guardados convenientemente en una bolsa con su respectiva etiqueta de identificación. Estas muestras luego serán trasladadas a la zona de análisis de muestras.

El muestreo se efectuará de la siguiente forma:

1. Una "muestra" de fruta consiste en una o varias unidades de fruta de una misma especie/variedad que son sospechosas de estar infestadas por DS, y que fueron

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE PROSPECCIÓN VISUAL Y MUESTRO DE FRUTA**

colectadas en un mismo lugar. Los frutos de una muestra deben ser depositados al interior de una bolsa plástica autosellable y suficientemente firme para evitar roturas y pérdidas en el trayecto al laboratorio de análisis.

2. Se toman como muestras tanto los frutos que fueron evaluados a través de la prospección visual, como aquellos no evaluados previamente pero que se consideran sospechosos.
3. La fruta hospedante a muestrear debe estar pintona a madura o sobremadura.
4. Se recolectará sólo fruta del árbol (no del suelo, techo, etc.)
5. Se debe seleccionar dentro de la planta la fruta que presente algún tipo de sintomatología (daño) que se pueda asociar a la presencia de DS, como, por ejemplo: fruto con áreas con hundimientos anormales, presencia de microperforaciones, punturas asociadas a una necrosis inicial del tejido circundante y pudriciones.
6. Cada muestra de fruta debe ser recolectada de una única planta/árbol o de un grupo de plantas/árboles que deben ser claramente identificados respecto a su ubicación espacial (dirección) y/o punto de referencia dentro del huerto o cultivo. Para este propósito, cada muestra debe estar correctamente etiquetada por medio de una "Ficha de Identificación de muestra de fruta para *Drosophila suzukii*" (código F-GF-CGP-PT-200). Se debe completar con al menos la siguiente información:
  - Fecha de recolección/colecta de la muestra.
  - Dirección: calle, predio, huerto, etc. Incluye la Región y Comuna
  - En el caso de frutos recolectados en un huerto, es preciso dar indicaciones más precisas del lugar donde se colectaron: N° de hilera del huerto, georreferencia, orientación, indicar un punto de referencia, etc.
  - Especie vegetal y variedad si está disponible.
  - Georreferencia del lugar de colecta de la muestra.
  - Nombre de la persona que colecta la muestra (muestreador)
7. La cantidad de unidades de fruta a recolectar por cada muestra depende del tipo de la especie. Por ejemplo, para fruta blanda y de epidermis muy delgada (cerezas, uva, frambuesa, frutilla, mora, arándano, otros berries, caqui, damasco, higo, etc.) cada muestra debe pesar alrededor de 0,25 kg a 0,5 Kg. En el caso de muestras de frutos más firmes, como por ejemplo peras, ciruelas, duraznos, manzanas, la muestra puede ser alrededor de 0,5 a 1,0 kg.
8. Las muestras colectadas deben hacerse llegar en un plazo no mayor a 24 horas (dependiendo del estado de la muestra), a la zona de análisis de muestras.
9. Una vez en la zona de análisis de muestras de fruta se deben realizar los siguientes procedimientos:
  - Análisis directo de la fruta en busca de estados inmaduros de DS
    - Recepción y registro de la muestra.
    - Depositar unidades de muestra (fruta) sobre bandeja.
    - Preocuparse de tener espacio de trabajo con luz suficiente (apoyado con luz de escritorio).
    - Observar fruta por todo su contorno buscando posibles síntomas de daño o signos de la plaga.
    - Donde se observen picaduras ó síntomas de daño retirar la epidermis suavemente con la punta del cuchillo y observar. Cualquier sospechoso debe

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE PROSPECCIÓN VISUAL Y MUESTRO DE FRUTA**

ser removido con un pincel y depositado en placa Petri correctamente identificada con los datos de la muestra de la que proviene.

- La fruta de pulpa blanda debe ser desmenuzada y la fruta de pulpa firme se debe rebanar cuidadosamente en finas rodajas de adentro hacia fuera.
  - Luego de cortar la primera capa, voltear la rodaja con el mismo cuchillo para observar la presencia de sospechosos.
  - Las rodajas deben ser depositadas en la bandeja para separar las celdas de la pulpa.
  - Repetir estos dos últimos pasos hasta terminar de cortar toda la fruta.
  - Continuar con este proceso hasta completar todas las unidades de la muestra.
- Conteo de ejemplares utilizando el método de inmersión y flotación de fruta.
    - a) Uso solución salina o azucarada:
      - Preparar solución salina (1 taza de sal) ó azucarada (2.5 tazas) en 4 litros de agua y batir para una mejor disolución. Batir siempre antes de usar. La diferencia entre usar una solución u otra para detectar presencia de larvas en general puede ser irrelevante (el azúcar mata las larvas más lento y permite detectar movimiento de estas, pero es más pegajosa y difícil de trabajar, así como también es atrayente de otros insectos).
      - Aplastar ligeramente la fruta dentro de la bolsa para romper la piel.
      - Agregar solución salina o azucarada y esperar 15 minutos y revisar.
      - Las larvas de *Drosophila* van a flotar en el líquido haciéndolas más visibles.
    - Crianza de estados inmaduros sospechosos de DS (huevos, larvas, pupas) hasta su estado adulto.

Se deben obtener uno o más estados inmaduros del insecto en estado vivo a partir de las muestras, con el objetivo de criar estos ejemplares hasta su estado adulto para poder efectuar la identificación por taxonomía tradicional y en caso de ser necesario por análisis molecular.

La metodología de crianza de insectos en jaulas o cajas de crianza, a partir de ejemplares en estado inmaduro que son sospechosos de ser *Drosophila suzukii* obtenidos de muestras de fruta, será efectuada estrictamente con el objetivo de obtener la identificación de la especie plaga a partir de los individuos adultos que se obtengan de la crianza, debido a que no es factible la identificación certera de los estados inmaduros a través de taxonomía tradicional.

La metodología es la siguiente:

- Se debe colocar cada uno de los frutos correspondientes a una misma muestra, en un contenedor (jaula de crianza) apropiado para la crianza.
- Las jaulas de crianza con las frutas deben mantenerse en una sala apropiada con condiciones de humedad relativa y temperatura controlada óptimas para el desarrollo de la plaga en cuestión.
- La revisión de las jaulas de crianza con las frutas que contienen, debe ser efectuado aproximadamente cada 2 días para evaluar si existe emergencia de insectos adultos.
- El período en el cual deberán ser mantenidas las frutas en la sala de crianza, dependerá de la temperatura de la sala. Para ello se debe considerar que el ciclo de vida desde la eclosión de huevos hasta la emergencia de adultos oscila entre 9-10 días y 21-25 días a 25 ° C y 15 ° C, respectivamente (Kanzawa, 1939). Recientes observaciones de laboratorio registraron el desarrollo de huevo a hembras ponedoras, que oscilaron entre aproximadamente una semana y 12-15 días a 21,1°C y a 18,3°C,

**IMPLEMENTACIÓN SISTEMA DE PROSPECCIÓN VISUAL Y MUESTRO DE FRUTA**

respectivamente (Walsh et al., 2011). Por ende, se estima un promedio de 10 a 15 días de mantención de la fruta en sala de cría.

Podrán ser usados otros métodos de análisis de muestras que no se encuentren descritos en este instructivo, siempre y cuando, se trate de procedimientos aprobados con medio de respaldo como estudios científicos de entidades reconocidas a nivel mundial. Para aquellos que decidan hacer uso de estas alternativas, deben tener disponible los documentos de respaldo tanto al momento de postular a la autorización como al momento de ser supervisados.

**3. Manejo de información en muestreo de fruta**

Al finalizar el análisis de una muestra, se debe completar el punto 3 de la "Ficha de identificación de muestra de fruta para *Drosophila suzukii*", (código F-GF-CGP-PT-200) y además completar lo correspondiente en la planilla Excel "Prospección Muestreo de fruta y Análisis DS autorizados" (código F-GF-CGP-PT-202)

**4. Envío de ejemplares sospechosos de DS a laboratorio autorizado**

Si se detectan ejemplares sospechosos en el sistema de prospección visual y muestreo de fruta provenientes de una región o comuna de Chile donde la plaga está presente, el responsable técnico de esta actividad, puede no enviar los ejemplares a un laboratorio de análisis molecular autorizado, pero si debe obtener el diagnóstico por taxonomía tradicional de un laboratorio autorizado.

Si se trata de una región o comuna donde aún no se ha detectado la plaga, los ejemplares sospechosos detectados deben ser enviados a un laboratorio de análisis molecular autorizado por el SAG

**IDENTIFICACIÓN DE ESTADOS ADULTOS DE *DROSOPHILA SUZUKII*  
A TRAVÉS DE TAXONOMÍA TRADICIONAL**

## **RECEPCIÓN DE MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE ANÁLISIS**

### **1. Captación y envío de la muestra**

Las muestras oficiales serán tomadas por productores, empresas o laboratorios autorizados, en sitios o lugares determinados por el Servicio en los instructivos o protocolos técnicos de monitoreo de la plaga y serán enviadas a los laboratorios autorizados seleccionados por los interesados.

Las muestras serán enviadas a los laboratorios con formularios oficiales dispuestos por el Servicio para tal efecto, o por otro medio oficial que el SAG determine.

### **2. Recepción y manejo de la muestra**

El plazo para recepcionar la muestra en el laboratorio, no debe superar los 3 días continuos desde que la muestra fue colectada.

Posteriormente, el responsable técnico del laboratorio deberá evaluar la condición de la muestra para el análisis, considerándose como muestra apta, aquella que se encuentra adecuadamente etiquetada y presenta la información de respaldo correspondiente.

La muestra debe venir adecuadamente etiquetada y acompañada con la etiqueta de identificación con los datos correspondientes. Además, debe estar acompañada con la planilla Excel correspondiente de acuerdo a si la muestra proviene de la colecta a partir de trampas en campo ("Trampeo y Análisis DS autorizados"-código F-GF-CGP-PT-201), o la muestra proviene de insectos adultos criados a partir de una muestra de fruta ("Prospección muestreo de fruta y análisis DS autorizados" (código F-GF-CGP-PT-202).

El laboratorio solo debe recibir muestras en tubos herméticos con alcohol al menos al 70% (para la mantención de los ejemplares) y bajo condiciones de embalaje adecuadas y aptas para el análisis (evitando derrames y contaminación).

El laboratorio deberá contrastar la información de las planillas mencionadas con las respectivas etiquetas de las muestras recibidas.

### **3. Metodología**

La metodología del análisis contempla los siguientes procedimientos autorizados por el SAG:

#### **3.1. Análisis de moscas correspondientes a la familia *Drosophilidae***

Las muestras recepcionadas en el laboratorio, serán revisadas de forma acuciosa, limpia y ordenada en búsqueda de ejemplares adultos correspondientes a la familia *Drosophilidae*.

- a. Mantener los ejemplares en ETOH 70% para evitar la deshidratación.
- b. Vaciar el contenido total del envase o tubo que contiene la muestra (previamente recepcionado) en una placa Petri rotulada con los datos de la muestra, sin que sobrepase la capacidad de ésta, en caso de ser así, parcializarla tantas veces como sea necesario.

**IDENTIFICACIÓN DE ESTADOS ADULTOS DE *DROSOPHILA SUZUKII*  
A TRAVÉS DE TAXONOMÍA TRADICIONAL**

- c. La tapa del envase o tubo que contiene la muestra debe ser revisada en busca de los insectos que puedan encontrarse en ésta, los cuales deben también ser vaciados a la misma placa Petri rotulada con los datos de la muestra.
- d. Observar bajo lupa estereoscópica los insectos presentes en la muestra, recuperar con ayuda de un pincel y agujas de disección, aquellos dípteros pequeños que puedan encontrarse adheridos entre las patas u otros apéndices de artrópodos mayores.
- e. Separar y descartar con pinzas de disección todos aquellos insectos que:
  - No correspondan al Orden Díptera.
  - Dípteros de un tamaño mayor a 7mm.

Revisar bajo lupa o microscopio estereoscópico aquellos dípteros pequeños, conservando los que presenten:

- Un tamaño menor a 7mm
- Antena plumosa
- Abdomen bandeado
- Probóscide corta
- Venas R<sub>4+5</sub> y M paralelas
- Sc incompleta
- Vibrisas presentes
- Setas ocelares presentes

De ser así los individuos corresponden a la familia Drosophilidae.

**3.2. Análisis de moscas correspondientes al género *Drosophila* (Fallen).**

Con los ejemplares separados anteriormente como Drosophilidae, bajo una solución de ETOH 70%, se debe corroborar de manera minuciosa si estos pertenecen al género *Drosophila*.

- a. Con ayuda de un pincel y agujas de disección examinar los ejemplares.
- b. Tórax en vista dorsal:
  - Observar el área pre-escutelar, con ausencia de setas pre-escutelares;
  - Presencia de dos pares de setas dorsocentrales.
  - Setas acrosticales ordenadas en seis o más filas frente a la sutura transversa y cuatro o más filas entre las setas dorsocentrales.
- c. Cabeza en vista lateral: Antena con arista plumosa, con una o más ramas ventrales excluyendo la bifurcación apical. Ojos pubescentes.
- d. En caso de presentar los caracteres anteriores, continuar con el análisis para *Drosophila suzukii*.

**3.3. Análisis de moscas correspondientes a *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

Aquellos individuos pertenecientes al género *Drosophila*, y con un tamaño aproximado igual o menor a 4 mm, deben ser examinados bajo microscopio estereoscópico.

- Cabeza en vista lateral: Ojos rojos o marrones.

**IDENTIFICACIÓN DE ESTADOS ADULTOS DE *DROSOPHILA SUZUKII*  
A TRAVÉS DE TAXONOMÍA TRADICIONAL**

- Tórax:
  - Alas: Machos con alas hialinas o con un punto oscuro cerca del extremo apical sobre la primera vena. Cabe mencionar que machos juveniles y recién emergidos no presentan manchas en sus alas.
  - Patas: Con dos peines en las patas anteriores, cada peine con tres a seis dientes paralelos a la pata. Presente sólo en machos.
- Abdomen: Tergitos con banda oscura ininterrumpida, a lo ancho del abdomen.
  - Terminalia: En caso de las hembras; observar si el ovopositor presenta dientes fuertemente esclerosados y oscuros los que dan apariencia de sierra.

**3.4. Contabilización de insectos.**

Las muestras que son positivas a *Drosophila suzukii*, es decir, que presentan uno o más insectos de esta plaga, entonces deben ser contabilizados tanto los insectos machos como hembras de la especie *D. suzukii* por cada una de las muestras hasta que se cuente un total de 50 individuos adultos de *D. suzukii* por cada muestra. En el caso de existir una cantidad mayor a 50 individuos de *D. suzukii* por muestra, se debe dejar constancia de esto en la columna Observaciones de la planilla en formato Excel denominada "Trampeo y Análisis DS autorizados".

**4. Registro y envío de los resultados**

Las entidades autorizadas deberán entregar los resultados de acuerdo a lo establecido tanto en el numeral 8 del Reglamento Específico para la Autorización de Laboratorios de análisis/Ensayo, como lo indicado en el numeral 9 del presente instructivo. Sin perjuicio de ello, la planilla en formato Excel denominada "Trampeo y Análisis DS autorizados", código F-GF-CGP-PT-201 corresponde al documento oficial de trazabilidad de cada una de las muestras que contengan insectos adultos de la plaga, y el medio de verificación de toda la información.

**IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *DROSOPHILA SUZUKII*  
MEDIANTE TÉCNICA PCR-RFLP A PARTIR DE ADULTOS, LARVAS,  
PUPAS Y HUEVOS**

## **CAPTACIÓN DE MUESTRAS, RECEPCIÓN Y METODOLOGÍA DE ANÁLISIS**

### **1. Captación y envío de la muestra**

Las muestras oficiales serán tomadas por productores, empresas o laboratorios autorizados, en sitios o lugares determinados por el Servicio en los instructivos o protocolos técnicos de monitoreo de la plaga y serán enviadas a los laboratorios autorizados seleccionados por los interesados.

Las muestras serán enviadas a los laboratorios con formularios oficiales dispuestos por el Servicio para tal efecto, o por otro medio oficial que el SAG determine.

### **2. Recepción y manejo de la muestra/contramuestra**

El laboratorio autorizado debe contar con un procedimiento de manejo de muestras y de contra muestras.

Del mismo modo, el laboratorio autorizado debe contar con un procedimiento para el rechazo de muestras no aptas para su procesamiento y comunicar al nivel central del Servicio (vía correo electrónico) de acuerdo a lo estipulado en los respectivos instructivos o protocolos técnicos de trabajo.

Todo ingreso de muestras debe quedar registrado (en el laboratorio autorizado y en el sistema informático cuando corresponda; para este último caso no debe exceder las 24 horas de recibida físicamente la muestra).

Toda muestra que se recepcione, debe ser almacenada en conservadoras que aseguren su estabilidad (refrigeración a 4-8° C). Se debe llevar un registro de control de temperaturas de la(s) conservadora(s) de muestras.

La muestra sobrante debe ser almacenada a -20°C, en el caso de que se tenga que repetir la extracción de ADN. Así mismo, sea cualquiera el resultado de la identificación, el ADN debe ser almacenado por 6 meses a -20° C y finalizado este período deben ser enviados al laboratorio del Servicio (Laboratorio de Biotecnología, SAG Lo Aguirre).

El laboratorio sólo deberá recepcionar muestras que cumplan las siguientes condiciones debiendo éstas además estar en apto estado para su procesamiento:

- Adulto: La mosca entera o al menos el abdomen conservado en alcohol al 70%.
- Huevos, larvas y pupas: Conservados en alcohol al 70%.

### **3. Metodología**

La metodología del análisis debe corresponder a la técnica autorizada por el laboratorio autorizado ante el SAG. Debe existir un registro de las fechas de los análisis, responsables y controles utilizados.

### **4. Cálculo y expresión de resultados**

Para el análisis debe existir un procedimiento de entrega de resultados, los resultados en el informe deben expresarse con el nombre de la especie detectada, además debe generarse un registro con la foto gel y la información correspondiente a cada pocillo.

### **5. Registro y envío de los Resultados**

Los resultados de los análisis de muestras oficiales serán enviados en formularios establecidos para ello, u otro medio definido por el SAG.

**IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *DROSOPHILA SUZUKII*  
MEDIANTE TÉCNICA PCR-RFLP A PARTIR DE ADULTOS, LARVAS,  
PUPAS Y HUEVOS**

El tiempo de respuesta para el análisis requerido no deben exceder los 5 días corridos, desde la recepción de la muestra por parte del laboratorio hasta la recepción de los resultados de análisis en el SAG Central.

A su vez el laboratorio autorizado, deberá conservar por un período de 5 años, copia de los resultados de los análisis.

Cualquier anomalía que el laboratorio autorizado perciba en los análisis, deberá informarla al Servicio.

**LISTADO DE HOSPEDANTES DE LA PLAGA *DROSOPHILA SUZUKII***

<b>Familia taxonómica del Hospedante</b>	<b>Nombre Científico del Hospedante</b>	<b>Nombre común del Hospedante</b>	<b>Tipo de Hospedante</b>
Actinidiaceae	<i>Actinidia (género taxonómico)</i>	S/I	Principal
Ebenaceae	<i>Diospyros kaki</i>	Caqui	Principal
Ericaceae	<i>Vaccinium (género taxonómico)</i>	Arándanos	Principal
Ericaceae	<i>Vaccinium angustifolium</i>	Arándano Lowbush	Principal
Ericaceae	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Arándano azul	Principal
Grossulariaceae	<i>Ribes (género taxonómico)</i>	Grosellas	Principal
Moraceae	<i>Ficus carica</i>	Higo	Principal
Rosaceae	<i>Fragaria (género taxonómico)</i>	Frutillas	Principal
Rosaceae	<i>Fragaria ananassa</i>	Frutilla	Principal
Rosaceae	<i>Malus domestica</i>	Manzana	Principal
Rosaceae	<i>Prunus (género taxonómico)</i>	Drupas (frutos con carozo)	Principal
Rosaceae	<i>Prunus avium</i>	Cereza	Principal
Rosaceae	<i>Prunus domestica</i>	Ciruelo europeo	Principal
Rosaceae	<i>Prunus persica</i>	Durazno	Principal
Rosaceae	<i>Pyrus (género taxonómico)</i>	Peras	Principal
Rosaceae	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Pera asiática o pera manzana	Principal
Rosaceae	<i>Rubus</i>	Rubus (zarzamora, frambuesa)	Principal
Rosaceae	<i>Rubus armeniacus</i>	Zarza himalayana o zarza armeniana	Principal
Rosaceae	<i>Rubus fruticosus</i>	Mora	Principal
Rosaceae	<i>Rubus idaeus</i>	Frambuesa	Principal
Rosaceae	<i>Rubus laciniatus</i>	Mora de hoja cortada	Principal
Rosaceae	<i>Rubus loganobaccus</i>	Logana o loganberry	Principal
Rosaceae	<i>Rubus ursinus</i>	Zarza pacífica o zarza de California	Principal
Vitaceae	<i>Vitis (género taxonómico)</i>	Uvas	Principal
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i>	Uva	Principal
Caprifoliaceae	<i>Lonicera spp.</i>	Madreselvas	Silvestre
Cornaceae	<i>Aucuba japonica</i>	Laurel moteado o laurel japonés (fruto)	Silvestre
Cornaceae	<i>Cornus kousa</i>	Cornejo japonés o kousa (fruto)	Silvestre
Elaeagnaceae	<i>Elaeagnus multiflora</i>	Cerezo silverberry o gumi	Silvestre
Elaeagnaceae	<i>Elaeagnus umbellata</i>	Oliva de otoño	Silvestre
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i>	Madroño	Silvestre
Ericaceae	<i>Gaultheria adenothrix</i>	S/I	Silvestre

**LISTADO DE HOSPEDANTES DE LA PLAGA *DROSOPHILA SUZUKII***

<b>Familia taxonómica del Hospedante</b>	<b>Nombre Científico del Hospedante</b>	<b>Nombre común del Hospedante</b>	<b>Tipo de Hospedante</b>
Ericaceae	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Mirtilo o arándano	Silvestre
Moraceae	<i>Morus bombycis</i>	Morera japonesa	Silvestre
Moraceae	<i>Morus rubra</i>	Mora roja o morera roja	Silvestre
Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i>	Capulí, pitanga, grosella, cereza de Cayena, Surinam cherry	Silvestre
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca americana</i>	Hierba carmín (fruto)	Silvestre
Rosaceae	<i>Prunus japonica</i>	Cerezo japonés	Silvestre
Rosaceae	<i>Prunus mahaleb</i>	Cerezo de Santa Lucía, cerezo de Mahoma o cereza malaheb	Silvestre
Rosaceae	<i>Prunus nipponica</i>	Cerezo alpino japonés	Silvestre
Rosaceae	<i>Rubus hirsutus</i>	Frambuesa silvestre	Silvestre
Rosaceae	<i>Rubus triphyllus</i>	S/I	Silvestre
Rutaceae	<i>Murraya paniculata</i>	Murraya, naranjo jazmín	Silvestre
Vitaceae	<i>Ampelopsis brevipedunculata</i>	Baya porcelana, Amur amelopsis	Silvestre
Caprifoliaceae	<i>Lonicera (género taxonómico)</i>	Madreselvas	Desconocido
Rhamnaceae	<i>Frangula alnus</i>	Espino amarillo brillante, espino cervical	Desconocido
Actinidiaceae	<i>Actinidia arguta</i>	Tara vine, hardy kiwi, baby kiwi	Otro
Caprifoliaceae	<i>Lonicera caerulea</i>	S/I	Otro
Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra</i>	Sauco, sauco negro, sauco común	Otro
Caprifoliaceae	<i>Symphoricarpos albus</i>	Snowberry común	Otro
Cornaceae	<i>Cornus (género taxonómico)</i>	cornejos	Otro
Cornaceae	<i>Cornus controversa</i>	Cornejo gigante	Otro
Ebenaceae	<i>Diospyros virginiana</i>	Caqui de virginia o caqui americano	Otro
Lauraceae	<i>Lindera benzoin</i>	Spicebush	Otro
Moraceae	<i>Ficus (género taxonómico)</i>	S/I	Otro
Moraceae	<i>Morus (género taxonómico)</i>	Moreras	Otro
Moraceae	<i>Morus alba</i>	Morera	Otro
Myricaceae	<i>Myrica rubra</i>	Árbol de fresa china, yangmei, arrayán chino	Otro
Rosaceae	<i>Prunus armeniaca</i>	Damasco	Otro
Rosaceae	<i>Prunus laurocerasus</i>	Lauroceraso o lurel cerezo	Otro
Rosaceae	<i>Prunus mume</i>	Albaricoque japonés, ciruela china o ciruelo japonés	Otro

**LISTADO DE HOSPEDANTES DE LA PLAGA *DROSOPHILA SUZUKII***

<b>Familia taxonómica del Hospedante</b>	<b>Nombre Científico del Hospedante</b>	<b>Nombre común del Hospedante</b>	<b>Tipo de Hospedante</b>
Rosaceae	<i>Prunus persica</i> var. <i>nucipersica</i>	Nectarín	Otro
Rosaceae	<i>Prunus sargentii</i>	Cereza de Sargent	Otro
Rosaceae	<i>Rubus spectabilis</i>	Salmonberry	Otro
Solanaceae	<i>Solanum dulcamara</i>	Dulcamara (solanácea agri dulce)	Otro
Solanaceae	<i>Solanum luteum</i>	Yerbamora amarilla	Otro
Vitaceae	<i>Ampelopsis</i>	Ampelopsis	Otro
Vitaceae	<i>Vitis labrusca</i>	Labrusca, parra brava, uva de zorro	Otro
Taxaceae	<i>Taxus baccata</i>	Tejo	Otro
Viscaceae	<i>Viscum álbum</i>	Muérdago blanco	Otro
s/i	<i>Alangium platanifolium</i>	S/I	Desconocido
Rosaceae	<i>Malus baccata</i>	Crabapple	Desconocido
Rosaceae	<i>Malus pumila</i>	Manzana del paraíso	Desconocido
Rosaceae	<i>Sorbus aucuparia</i>	Ceniza de Rowan	Desconocido
Rosaceae	<i>Sorbus aria</i>	Ceniza blanca	Desconocido
Berberidaceae	<i>Berberis (=Mahonia)</i>	Barberry S/I	Desconocido
Myricaceae	<i>Morella rubra</i>	Bayberry china	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus allegheniensis</i>	Mora Allegheny	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus ulmifolius</i>	Zarzamora	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus saxatilis</i>	Zarza de piedra	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus spinosa</i>	Endrino	Desconocido
Ericaceae	<i>Vaccinium myrtilloides</i>	Arandano común, Sourtop blueberry	Desconocido
Ericaceae	<i>Vaccinium oldhamii</i>	Berry S/I	Desconocido
Ericaceae	<i>Vaccinium praestans</i>	Berry S/I	Desconocido
Dioscoreaceae	<i>Tamus (=Dioscorea) communis</i>	Nuez negra; black bryony	Desconocido
Rhamnaceae	<i>Frangula purshiana</i>	Cascara buckthorn, cascara sagrada	Desconocido
Rhamnaceae	<i>Rhamnus cathartica</i>	European buckthorn	Desconocido
Elaeagnaceae	<i>Hippophae rhamnoides</i>	Sea buckthorn	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus serotina</i>	Cereza negra	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus buergeriana</i>	Tipo de cereza	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus donarium</i>	Tipo de cereza	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus virginiana</i>	Choke cherry, el cerezo de virginia	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus padus</i>	Cerezo de racimos, Cerezo aliso, European bird cherry	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus cerasus</i>	Cerezo acido	Desconocido

**LISTADO DE HOSPEDANTES DE LA PLAGA *DROSOPHILA SUZUKII***

<b>Familia taxonómica del Hospedante</b>	<b>Nombre Científico del Hospedante</b>	<b>Nombre común del Hospedante</b>	<b>Tipo de Hospedante</b>
Rosaceae	<i>Prunus yedoensis</i>	Cereza Yoshino	Desconocido
Rosaceae	<i>Cotoneaster rehderi</i>	Bullate cotoneaster	Desconocido
Rosaceae	<i>Cotoneaster franchetii</i>	Franchet's cotoneaster	Desconocido
Rosaceae	<i>Cotoneaster lacteus</i>	Cotoneaster flor de leche	Desconocido
Grossulariaceae	<i>Ribes rubrum</i>	Grosella común	Desconocido
Thymelaeaceae	<i>Daphne mezereum</i>	Planta del paraíso	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus caesius</i>	Dewberry europeo	Desconocido
Cornaceae	<i>Cornus sanguinea</i>	Cornejo bloodtwig	Desconocido
Cornaceae	<i>Cornus racemose</i>	Cornejo gris	Desconocido
Cornaceae	<i>Cornus sericea</i>	Cornejo mimbres rojo	Desconocido
Cornaceae	<i>Cornus amomum</i>	Cornejo sedoso	Desconocido
Cornaceae	<i>Cornus alba</i>	Cornejo siberiano	Desconocido
Cornaceae	<i>Cornus mas</i>	Cornejo macho	Desconocido
Cornaceae	<i>Cornus foemina</i>	Cornejo rígido	Desconocido
Adoxaceae	<i>Sambucus sp.</i>	Elderberry, sauco	Desconocido
Adoxaceae	<i>Sambucus nigra spp. cerulea</i>	Saucos azul	Desconocido
Adoxaceae	<i>Sambucus ebulus</i>	Saucos enano	Desconocido
Adoxaceae	<i>Sambucus racemose</i>	Saucos rojo	Desconocido
Adoxaceae	<i>Sambucus racemose var. melanocarpa</i>	Saucos de la montaña rocosa	Desconocido
Rosaceae	<i>Pyracantha</i>	Espina de fuego	Desconocido
Rosaceae	<i>Crataegus chrysoarpa</i>	Espino de fuego	Desconocido
Rosaceae	<i>Crataegus monogyna</i>	Oneseed hawthorn	Desconocido
Melanthiaceae	<i>Paris quadrifolia</i>	Hierba Paris	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera alpigena</i>	Madreselva alpina	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera x bella</i>	Madreselva de la campana	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera nigra</i>	Madreselva negra	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera nitida</i>	Madreselva de hoja	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera xylosteum</i>	Madreselva enana	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera caprifolium</i>	Madreselva italiana	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera morrowii</i>	Madreselva del mañana	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera tatarica</i>	Madreselva tatarian	Desconocido
Caprifoliaceae	<i>Lonicera ferdinandii</i>	Madreselva S/I	Desconocido
Araliaceae	<i>Hedera helix</i>	Hiedra común	Desconocido
Rosaceae	<i>Amelanchier lomarchkii</i>	Berry de junio	Desconocido
Actinidiaceae	<i>Actinidia chinensis</i>	Kiwi chino	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus lusitanica</i>	Laurel portugués	Desconocido
Ericaceae	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	Lingonberry	Desconocido

**LISTADO DE HOSPEDANTES DE LA PLAGA *DROSOPHILA SUZUKII***

<b>Familia taxonómica del Hospedante</b>	<b>Nombre Científico del Hospedante</b>	<b>Nombre común del Hospedante</b>	<b>Tipo de Hospedante</b>
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i>	Níspero	Desconocido
Araceae	<i>Arum italicum</i>	Italian lords & ladies	Desconocido
Solanaceae	<i>Lycium barbarum</i>	Licio de barbaria	Desconocido
Moraceae	<i>Morus nigra</i>	Morera negra	Desconocido
Moraceae	<i>Morus alba x rubra</i>	Morera "Siempre Illinois"	Desconocido
Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i>	Bittersweet nightshade; Hierba mora negra	Desconocido
Solanaceae	<i>Solanum villosum</i>	Hierba mora vellosa	Desconocido
Berberidaceae	<i>Berberis (=Mahonia) aquifolium</i>	La uva de Oregón	Desconocido
Rosaceae	<i>Pyrus sinensis</i>	Pera China	Desconocido
Rosaceae	<i>Photinia beauverdiana</i>	Berry de navidad	Desconocido
Rosaceae	<i>Photinia villosa</i>	Pothinia oriental	Desconocido
Rosaceae	<i>Photinia prunifolia</i>	Photinia S/I	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus salicina (=triflora)</i>	Ciruelo japonés	Desconocido
Rosaceae	<i>Prunus cerasifera</i>	Ciruelo-cerezo, ciruelo de jardín	Desconocido
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca esculenta</i>	Indian pokeweed	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus crataegifolius</i>	Frambuesa silvestre	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus mirophyllus</i>	Frambuesa silvestre	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus parvifolius (=triphyllus)</i>	Frambuesa silvestre	Desconocido
Rosaceae	<i>Rosa canina</i>	Rosa de perro	Desconocido
Rosaceae	<i>Rosa acicularis</i>	Rosa espinosa	Desconocido
Rosaceae	<i>Rosa rugose</i>	Rosa rugosa	Desconocido
Rosaceae	<i>Rosa pimpinellifolia</i>	Rosa escocesa	Desconocido
Rosaceae	<i>Rosa glauca</i>	Rosa S/I	Desconocido
Rosaceae	<i>Amelanchier ovalis</i>	Serviceberry	Desconocido
Asparagaceae	<i>Polygonatum multiflorum</i>	<i>El sello de salomón</i>	Desconocido
Rosaceae	<i>Fragaria vesca</i>	Frutilla alpina	Desconocido
Rosaceae	<i>Duchesna indica</i>	Frutilla india	Desconocido
Buxaceae	<i>Sarcococca confusa</i>	Sweet box	Desconocido
Solanaceae	<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate	Desconocido
Torreya nucifera	<i>Torreya nucifera</i>	Torreya japonés	Desconocido
Adoxaceae	<i>Viburnum rhytidophyllum</i>	Viburnum hojas de cuero	Desconocido
Adoxaceae	<i>Viburnum dilatatum</i>	Linden viburnum	Desconocido
Adoxaceae	<i>Viburnum lantana</i>	Árbol del camino	Desconocido
Vitaceae	<i>Parthenocissus quinquefolia</i>	Enredadera de virgina	Desconocido
Rosaceae	<i>Rubus phoenicolasius</i>	Japanese wineberry	Desconocido
Ericaceae	<i>Gaultheria x wisleyensis</i>	Wintergreen	Desconocido

**LISTADO DE HOSPEDANTES DE LA PLAGA *DROSOPHILA SUZUKII***

<b>Familia taxonómica del Hospedante</b>	<b><i>Nombre Científico del Hospedante</i></b>	<b>Nombre común del Hospedante</b>	<b>Tipo de Hospedante</b>
Rosaceae	<i>Rubus bifrons</i>	Blackberry Himalaya	Desconocido
Grossulariaceae	<i>Ribes aureum</i>	Grosella dorada	Desconocido
Grossulariaceae	<i>Ribes hudsonianum</i>	Grosella negra del norte	Desconocido
Rhamnaceae	<i>Rhamnus purshiana</i>	Buckthorn cascara	Desconocido

**NOTA: Los hospederos presentados fueron confirmados por infestación observada en campo (CABI, Agosto 2017; eOrganic, Agosto 2017, IPM Michigan State University; Septiembre 2017).**



**FORMULARIO ANEXO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *DROSOPHILA SUZUKII***

Código: F-GF-CGP-PT-196  
Versión: 01

Identificación del ente autorizado:

Nombre/razón social: .....

Cédula de identidad N°/RUT: .....

Marcar con una X la o las actividades para las cuales solicita la autorización:

Actividades a los que postula	
1. Manejo del sistema de trampas	
2. Manejo de la prospección visual y muestreo de fruta	
3. Análisis taxonómico de los ejemplares colectados en trampas y/o fruta	
4. Análisis molecular de los ejemplares colectados en trampas y/o fruta	

\_\_\_\_\_  
Firma del postulante o su representante legal

Fecha recepción SAG:.....



## FORMULARIO IDENTIFICACIÓN PERSONAL

Código: F-GF-CGP-PT-197  
 Versión: 01

Identificación del ente autorizado:

Nombre/razón social: .....

Cédula de identidad N°/RUT: .....

Personal para las labores de muestreo, monitoreo y/o prospección:

Nombre completo	Cédula Identidad	Actividad que ejecuta (indicar si es muestreador o prospector)	Firma

Identificación del analista/s:

Nombre completo	Cédula Identidad	Análisis que ejecuta	Firma

-----  
 Firma del postulante o su representante legal

Fecha recepción SAG:.....

**INFORME DE SUPERVISIÓN PARA EL MONITOREO  
Y ANÁLISIS *DROSOPHILA SUZUKII***

Código: F-GF-CGP-PT-198

Versión: 01

Región	
Nombre encargado/a de la supervisión	
Fecha Supervisión	

Nombre Empresa / Laboratorio autorizado	
Actividad Supervisada	
Nombre responsable de ejecutar la actividad	
Nombre Responsable técnico	

**1.- MONITOREO EN CAMPO/Revisión de trampas**

<b>Aplica</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>

	<b>SI</b>	<b>NO</b>	<b>NO APLICA</b>
Actividad se realiza el día programado conforme al Instructivo técnico respectivo			
El personal cuenta con el material requerido para el manejo y revisión de las trampas en campo.			
La información de la trampa coincide con la información registrada la Ficha de Inspección de trampas y en la tarjeta calendario de revisiones programadas			
La prospección visual y/o muestreo se realiza con autorización del encargado del huerto o sitio de procesamiento de fruta hospedante			
El personal cuenta con el material requerido para la adecuada obtención de la colecta de las muestras en campo.			
Se realiza la revisión de trampas respetando el tiempo de reingreso			
Las muestras colectadas son envasadas y etiquetas conforme lo indica el instructivo técnico respectivo			
Se considera en la instalación de trampas los hospederos ubicados en los deslindes y alrededores de los huertos a monitorear			
Las muestras son enviadas a los laboratorios autorizados de acuerdo a lo indicado en el instructivo técnico respectivo.			
La información de la trampa coincide con lo indicado en la etiqueta de la muestra			
Las trampas son ubicadas en sitios o lugares en la planta o cultivo, acorde a las directrices técnicas del Instructivo respectivo.			
El prospector figura como persona autorizada para efectuar la actividad			

**INFORME DE SUPERVISIÓN PARA EL MONITOREO  
Y ANÁLISIS *DROSOPHILA SUZUKII***

Código: F-GF-CGP-PT-198

Versión: 01

**2.- MONITOREO EN CAMPO/Prospección Visual y Muestreo de fruta**

<b>Aplica</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>

	<b>SI</b>	<b>NO</b>	<b>NO APLICA</b>
Actividad se realiza el día programado conforme al Instructivo técnico respectivo			
La muestra es resguardada e identificada como se indica en Instructivo técnico respectivo			
Se comunican los resultados en los plazos establecidos			
El personal cuenta con el material requerido para la prospección visual y el muestreo de fruta en huerto o en sitios de procesamiento de fruta hospedante			
La prospección visual y/o muestreo se realiza con autorización del encargado del huerto o sitio de procesamiento de fruta hospedante			
Las metodología de la toma de muestras en la planta/árbol es acorde a lo indicado en instructivo técnico			
Se realiza el muestreo respetando el tiempo de reingreso			
Se considera en el trazado de muestreo la superficie total a muestrear			
Se efectúa el análisis adecuado de la muestra de fruta y la crianza de ésta (si aplica)			
Se considera en el trazado de muestreo los hospederos ubicados en los alrededores de los huertos a muestrear			
El muestreador figura como persona autorizada por SAG para realizar esta actividad			

**3.- ANALISIS EN LABORATORIO/ Taxonomía tradicional**

<b>Aplica</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>

	<b>SI</b>	<b>NO</b>	<b>NO APLICA</b>
Analista figura como persona autorizada por SAG para realizar esta actividad			
Se llevan registros que permitan realizar la trazabilidad de la muestra			

**INFORME DE SUPERVISIÓN PARA EL MONITOREO  
Y ANÁLISIS *DROSOPHILA SUZUKII***

Código: F-GF-CGP-PT-198

Versión: 01

El análisis de las muestras se realiza dentro de los plazos establecidos posterior al muestreo.			
Se aplica correctamente la metodología de análisis según lo que establece el instructivo técnico respectivo			
Se aplica correctamente la identificación taxonómica de la especie según lo indicado en el Instructivo técnico respectivo			
Existe coincidencia en el resultado del análisis entre el SAG y el laboratorio.			
Se realiza correctamente la preparación de los individuos detectados para su identificación.			
Las preparaciones se encuentran identificadas acorde a lo indicado en la etiqueta de la muestra.			

Cantidad de		
Muestras y Procesos Supervisadas	Placas petri comparadas	Preparaciones analizadas (*)

\* Este campo se completa en supervisiones realizadas por un entomólogo.

**3.- ANALISIS EN LABORATORIO/ Análisis Molecular**

Aplica	SI	NO

	SI	NO	NO APLICA
Analista figura como persona autorizada por SAG para realizar esta actividad			
Se llevan registros que permitan realizar la trazabilidad de la muestra			
El análisis de las muestras se realiza dentro de los plazos establecidos posterior al muestreo.			
El manejo y mantención de las muestras se realiza de acuerdo a lo establecido en el Instructivo			
Se aplica correctamente la metodología de análisis según lo que establece el instructivo técnico respectivo			

**INFORME DE SUPERVISIÓN PARA EL MONITOREO  
Y ANÁLISIS *DROSOPHILA SUZUKII***

Código: F-GF-CGP-PT-198

Versión: 01

Se aplica correctamente la técnica de identificación de la especie según lo indicado en el instructivo técnico			
Se realiza correctamente la preparación de los individuos para su identificación.			
Las preparaciones se encuentran identificadas acorde lo establecido en el instructivo técnico respectivo.			

**Observaciones o comentarios:**

\_\_\_\_\_  
Firma Encargado de la supervisión

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma responsable de la  
Actividad





**FICHA IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS DE FRUTA  
*DROSOPHILA SUZUKII***

Código: F-GF-CGP-PT-200

Versión: 01

**1. LUGAR DE TOMA DE MUESTRAS**

huerto

sitio procesamiento

otro

**2. TOMA DE MUESTRAS EN TERRENO**

Fecha: \_\_\_\_\_

Muestreador/Prospector: \_\_\_\_\_

Nombre lugar: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Región/Comuna: \_\_\_\_\_

Georreferencia: X \_\_\_\_\_ Y \_\_\_\_\_

Especie vegetal/sitio: \_\_\_\_\_

Nº de unidades: \_\_\_\_\_

Código de trampa (si aplica) \_\_\_\_\_

**3. ANÁLISIS DE MUESTRA (Pre-diagnóstico)**

Fecha: \_\_\_\_\_

Laboratorio/Analista: \_\_\_\_\_

Presencia insecto: SI  NO

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**4. DIAGNÓSTICO LABORATORIO TAXONOMÍA  
TRADICIONAL O ANÁLISIS MOLECULAR**

Fecha: \_\_\_\_\_

Laboratorio/Analista: \_\_\_\_\_

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_













