

## SENA048: Solicitud de análisis para la detección, identificación y cuantificación de Insectos, Nematodos, Ácaros, Bacterias, Hongos y Virus en productos de origen vegetal

### ANALISIS EN CEREALES: Semillas/ grano de trigo maíz, cebada, sorgo, arroz y centeno

#### ✚ Ácaros

*Aceria tosichella*, *Penthaleus major*, *Petrobia latens*, *Steneotarsonemus spinki*.

#### ✚ Bacterias

*Acidovorax avenae* subsp. *pavenae*, *Burkholderia andropogonis*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *Nebraskensis*, *Dickeya chrysanthemi* (sin. *Erwinia chrysanthemi*), *Pantoea stewartii* subsp. *Stewartii*, *Pantoea anantis*, *Pseudomonas fuscovaginae*, *Pseudomonas syringae* pvs. *yriingae*, *Pseudomonas syringae* pv *striafaciens*, *Pseudomonas viridiflava*, *Xanthomona salbilineans*, *Xanthomonas campestris* pv. *vasculorum*, *Xanthomonas vasicola* pv. *holcicola*, *Xanthomonas translucens* pv., *Xanthomonas oryzaepvoryzae*.

#### ✚ Hongos

*Alternaria padwickii*, *Alternaria triticina*, *Alternaria triticimaculans*, *Cephalosporium sacchiri*, *Claviceps africana*, *Claviceps Gigantea*, *Claviceps purpurea*, *Claviceps sorghi*, *Cochliobolus carbonum*, *Cochliobolus nodulosu*, *Cochliobolus heterostrophus*, *Cochliobolus sativus*, *Drechslera sorghicola*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium sacchari*, *Gibberella zeae*, *Gibberella atenacea*, *Glomerella graminicola*, *Gloeocercospora sorghi*, *Kabatiella zeae*, *Lewia infectoria* (sin. *Alternaria infectoria*), *Helminthosporium maydis*, *Helminthosporium turcicum*, *Hymenula cereales* (sin *Cephalosporium gramineum*), *Lewia infectoria* (sin. *Alternaria infectoria*) *Magnaportheoryzae*, *Microdochiumory zae* y *Periconia circinata*, *Phomasorghina*, *Pyrenophora avenae*, *Pyrenophora teres* y *Peronosclerospora sorghi*, *Peronosclerospora maydis*, *Peronosclerospora philippinensis*, *Peyronellaea zea-maydis* (sin. *Mycosphaere llazeamaydis*), *Phaeosphaeria avenaria* f. sp. *triticea*, *Pyrenochaeta terrestris*, *Periconia circinata*, *Pyricularia grisea* (anamorfo de *Magnaporthe grisea*), *Peyronellaea pinodes* (sin. *Mycosphaerella pinodes*), *Puccinia allí*, *Sphacelotheca cruenta*, *Sclerospora* spp., *Sclerospora maydis*, *Sclerospora rayssiae*, *Sclerophthora macrospora*, *Sphacelotheca reiliana*, *Physoderma maydis*, *Sphacelotheca reiliana*, *Sporisorium sorghi*, *Sporisorium cruentum*, *Stenocarpella maydis*, *Stenocarpella macrospora*, *Sarocladium oryzae*, *Sclerophthora macrospora*, *Tilletia barclayana*, *Tilletia foetida*, *Tilletia tritici*, *Tilletia controversa*, *Tilletia indica*, *Ustilago maydis*, *Ustilago nuda*.

## **Insectos**

*Araecerus fasciculatus, Astylusatro maculatus, Cadra cautella, Carpophilu ssp., Cryptolestes pusilloides, Cryptolestes pusillus, Delia platura, Diabrotica speciosa, Diabrotica virgifera, Diatraea saccharalis, Dichroplus elongatus, Graphognathus leucoloma, Helicoverpa armígera, Helicoverpa zea, Heliothis virescens, Laemophloeus minutus, Latheticus oryzae, Liposcelis entomophila, Liposcelis paeta, Listronotus bonariensis, Lissorhoptrus oryzophilus, Naupactus leucoloma, Pagiocerus frontalis, Prostephanus truncatus, Sitophilu granarius, Sitophilus zeamais, Solenopsis invicta, Spodoptera frugiperda, Tenebrio molitor, Tribolium confusum, Trogoderma spp.*

## **Nematodos:**

*Anguina spp., Anguina tritici, Aphelenchoides besseyi, Xiphinema americanum*

## **Virus:**

Maize Dwarf Mosaic Virus

Si ud. requiere determinar otros insectos, ácaros, nematodos, bacterias, hongos o virus en otras matrices de origen vegetal o mediante otra técnica analítica, consulte a la Coordinación de Plagas y Enfermedades de las Plantas.

## **TÉCNICAS APLICADAS**

### **1) ACAROLOGÍA:**

- Observación visual
- Extracción directa de ácaros
- Extracción por lavado y filtrado
- Montaje
- Observación bajo microscopio óptico (CC, CF y DIC).
- Comparación con ejemplares de la colección de referencia.
- Determinación por medio de claves taxonómicas y descripciones morfológicas.

### **2) ENTOMOLOGÍA:**

- Inspección visual
- Extracción directa de insectos
- Extracción por lavado y filtrado
- Preparación y montaje de ejemplares
- Disección
- Observación microscópica
- Comparación con ejemplares de la colección de referencia (Preparaciones microscópicas, húmeda y seca)
- Determinación por medio de claves taxonómicas y descripciones morfológicas

### 3) FITOPATOLOGÍA

Los métodos de ensayo aplicados en el Departamento de Fitopatología se basan en protocolos apropiados debidamente validados por Organizaciones Fitosanitarias regionales e internacionales:

- ISTA (International Seed Testing Association) International Rules for Seed testing. Edition 2012. Annex to Chapter 7. Seed Health Testing Methods.
- International Plant Protection Convention (IPPC). ISPM (NIMF) DP 4
- EPPO (European Plant Protection Organization ) Standards: Diagnostic Protocols PM 7
- CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International), IMI (Instituto Micológico Internacional). Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria
- COSAVE: Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur. Fichas de Procedimientos y Métodos Analíticos
- NAPPO: North American Plant Protection Organization

#### a) Detección e Identificación de Bacterias Fitopatógenas

- Inspección visual de síntomas
- Técnicas serológicas:
  - Inmunofluorescencia Indirecta
  - ELISA
- Siembra y Aislamiento sobre medio de cultivos semi-selectivos
- Estudio de las Características morfo-fisiológicas
- Estudios de las Propiedades bioquímicas por Sistema de Identificación de bacilos Gram negativos no enterobacterias API NE y de Enterobacterias API 20 E
- Test de hipersensibilidad en hojas de tabaco
- Test de Patogenicidad
- PCR Convencional

#### b) Detección e Identificación de Hongos Fitopatógenos

- Inspección visual de síntomas y signos bajo microscopio estereoscópico (40x o 50x)
- Método de detección por Blotter para semillas
- Método de Lavado- Washing Test para semillas
- Método de Cámara húmeda para la detección en estacas, plantines y frutos
- Siembra en medios de cultivo semi-selectivo para *Diaporthe phaseolorum var. caulivora*, *Phomopsis longicolla*, *Fusarium sacchari*, *Phoma macdonaldii*, *Phoma medicaginis*
- Tinción: patógenos que persisten en el embrión y/o pericarpio (mildews)
- Test de crecimiento de plántulas para patógenos que sobreviven en el embrión de la semilla y que se manifiestan en estadíos iniciales: *Plasmopara halstedii*, *Peronosclerospora sorghi*, *Peronosclerospora maydis*
- Identificación por características morfo-métricas. CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International), IMI (Instituto Micológico Internacional). Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria por microscopía óptica (40x y 100x).
- Captura y Registro de las imágenes de los caracteres morfo-métricos estudiados
- PCR tiempo real

#### c) Detección e Identificación de Nematodos Fitopatógenos

- Inspección visual de síntomas
- Técnica de extracción de Nematodos filiformes por Embudo de Baermann
- Técnica de flotación – centrifugación (Caveness y Jensen, 1955)
- Técnica de extracción de Nematodos globosos por Embudo de Fenwick

- Examinación de la muestra obtenida bajo microscopio estereoscópico (40x o 50x) usando luz transmitida o incidente.
- Identificación de los caracteres morfo-métricos de los ejemplares por microscopía óptica (40x y 100x).
- Captura y registro de las imágenes de los caracteres morfo-métricos estudiados

d) Detección e Identificación de Virus Fitopatógenos

- Técnicas serológicas: ELISA
- Técnicas Moleculares:
  - PCR convencional
  - PCR en Tiempo Real
  - Secuenciación