

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

### **Análisis en Forrajes (alfalfa, trébol blanco y trébol rojo)**

➤ **Ácaros**

*Bruchophagus roddi*

➤ **Bacterias**

*Clavibacter michiganensis sub spinsidiosus, Xylella fastidiosa*

➤ **Hongos:**

*Claviceps spp., Septoria spp., Blumeria graminis stritici, Fusarium spp., Phoma medicagigins, Puccinia graminis f. sp. tritici, Sphacelotheca cruenta, Ustilago avenae, Verticilium albo-atrum.*

➤ **Insectos**

*Araecerus fasciculatus, Astylus atromaculatus, Bruchophagus roddi, Carpophilus sp., Contarinia sorghicola, Corcyra cephalonica, Cryptolestes pusillus, Helicoverpa zea, Latheticus oryzae, Solenopsis invicta, Tenebrio molitor, Tribolium confusum, Trogoderma spp.*

➤ **Nematodos:**

*Anguina spp., Pratylenchus spp., Meloidogyne spp., Trichodorus spp., Xiphinema spp., Ditylenchus dipsaci, Ditylenchus dipsaci raza alfalfa*

➤ **Virus**

Alfalfa 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**

#### **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.

#### **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

## ***FITOPATOLOGÍA***

Los métodos de ensayos aplicados en el Departamento de Fitopatología se basan en protocolos 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: 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

### *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

### *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*, *Peronosclespora sorghi*, *Peronosclespora 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

#### 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

#### Protocolo para la Detección e Identificación de Virus Fitopatógenos

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