

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 Hortalizas (papa, zanahoria, cebollas, ajo, canola y repollo)

➤ **Ácaros:**

Aceria tulipae, *Brevipalpus* spp., *Petrobia latens*, *Rizoglyphus echinopus*, *Tetranychus cinnabarinus*, *Tetranychus desertorum*, *Tetranychus evansi*, *Tetranychus kanzawai*.

➤ **Bacterias**

Burkholderia cepacia (syn. *Pseudomonas cepacia*), *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Ralstonia solanacearum* raza 1 y 3, *Xanthomona scampestris*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Xanthomonas fragariae*, *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* (syn. *Xanthomonas campestris* pv. *carotae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*.

➤ **Hongos**

Alternaria brassicae, *Alternaria dauci*, *Alternaria radicina*, *Alternaria porri*, *Colletotrichum circinans*, *Cylindrocarpon* spp., *Diplocarpon earlianum*, *Dendrophoma obscurans*, *Fusarium oxysporum* pv. *cepae*, *Fusarium tricinctum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Gnomonia comari*, *Leptosphaeria maculans*, *Peronospora fragariae*, *Peronospora parasitica*, *Phoma lingam*, *Plasmodiophora brassicae*, *Puccinia allii*, *Pythium vexans* y *Pythium irregulare*, *Pythium graminicola*, *Phomopsis longicolla*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora cactorum*, *Rosellinia necatrix*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotinia* spp., *Spongospora subterranea*, *Stromatinia cepivora*, *Verticillium dahliae*.

➤ **Insectos**

Aegorhinus superciliosus, *Agriotes obscurus*, *Agrotis segetum*, *Aphis forbesi*, *Araecerus fasciculatus*, *Bemisia tabaco*, *Brachycaudus helichrysi*, *Brachyrhinus ovatus* (= *Otiorynchus ovatus*), *Ceratitis capitata*, *Chaetocne maconfinis*, *Cryptomyzus galeopsidis*, *Delia antiqua*, *Diabrotica undecimpunctata* subsp. *Howardi*, *Diaphania hyalinata*, *Diaspidiotus perniciosus*, *Didymella lycopersici*, *Dioryctria amatella*, *Epitrix cucumeris*, *Epitrix tuberis*, *Euscepespost fasciatus*, *Frankiniella occidentalis*, *Graphognathus leucoloma*, *Hylemia antiqua*, *Icerya purchasi*, *Leptinotarsadecem lineata*, *Limonius californicus*, *Liriomyza sativae*, *Liriomyza trifolii*, *Listroderescos tirostris*, *Listronotus dauci*, *Loxostege ticticalis*, *Mamestra brassicae*, *Melanotus communis*, *Melolontha melolonta*, *Neoleucinodes elegantalis*, *Peridroma saucia*, *Phyrdenu smuriceus*, *Premnotrypes latithorax*, *Rhigopsidius piercei*, *Rhigopsidius tucumanus*, *Spodoptera frugiperda*, *Thrips angusticeps*, *Thrips palmi*, *Thrips tabaco*, *Tipula paludosa*, *Trogoderma* spp., *Xestia c-nigrum*.

➤ **Nematodos:**

Aphelenchoides spp., *Aphelenchoides fragariae* y *Aphelenchoides besseyi*, *Aphelenchoides ritzemabosi*, *Ditylenchus* spp., *Ditylenchus dipsaci*, *Meloidogyne* spp., *Meloidogyne chitwoodi*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita*, *Nacobbus aberrans*, *Pratylenchus* spp., *Pratylenchus penetrans*, *Pratylenchus*

vulnus, Pratylenchus thornei, Radopholus similis, Trichodorus spp., Xiphinema rivesi, Xiphinema americanum.

➤ **Virus:**

Strawberry Latent Ringspot Virus, Strawberry Mild Yellow Edge Potex virus, Arabic Mosaic Virus, Tomato Ringspot Virus, Raspberry Ringspot Virus-ch, Tobacco Streak Virus, Cherry Leaf Roll Virus-ch, Potato Virus A, Potato Virus M, Andean Potato Latent 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*, *Phomama cdonaldii*, *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 estadios 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

Detección e Identificación de Virus Fitopatógenos

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