

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 LEGUMBRES (soja, poroto, arveja, garbanzo y lentejas)

➤ **Bacterias**

Curtobacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (sin. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*), *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *ptsi*, *Xanthomonas* spp., *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

➤ **Hongos**

Alternaria brassicicola, *Ascochyta rabiei*, *Botrytis cinerea*, *Botrytis fabae*, *Cercospora sojina*, *Cochliobolus miyabeanus*, *Colletotrichum* spp., *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, *Didymella rabiei*, *Elsionoe phaseoli*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *Mycosphaerella rabiei*, *Phoma exigua*, *Peyronella eapinodes* y *Peronospora viciae*, *Phialophora gregata*, *Phomopsis longicolla*, *Phytophthora phaseoli*, *Uromyces cicerisarietini*, *Peronosclerospora manshurica*, *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*.

➤ **Insectos**

Acanthoscelides obtectus, *Anticarsia gemmantalis*, *Araecerus fasciculatus*, *Bruchus pisorum*, *Bruchus rufimanus*, *Bruchus* spp., *Cadra cautella*, *Callosobruchus chinensis*, *Callosobruchus* spp., *Ceratitidis capitata*, *Delia antiqua*, *Diabrotica speciosa*, *Ephestia kuehniella*, *Gnatocerus cornutus*, *Liriomyza sativae*, *Maruca testulalis*, *Maruca vitrata*, *Pyralis farinalis*, *Spodoptera frugiperda*, *Tenebrio molitor*, *Tenebrio obscurus*, *Tribolium confusum*, *Trogoderma* spp.

➤ **Nematodos**

Ditylenchus dipsaci

➤ **Virus**

Tomato Ringspot Virus, Tobacco Ringspot 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

Protocolo para la 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

Protocolo para la 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

Protocolo para la 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