

## **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 PLANTAS ORNAMENTALES**

➤ **Ácaros:**

*Aceria aloinis, Brevipalpus claiformicus, Brevipalpus lewisi, Brevipalpus russulus, Brevipalpus spp., Eotetranychus spp., Tetranychus spp.*

➤ **Bacterias**

*Erwinia amylovora, Rhodococcus fascinas, Xanthomonas axonopodis pv. difenbacchiae.*

➤ **Hongos**

*Oidium chrysathemi, Phytium. splendens, Rhizoctonia tuliparum, Phialophora cinerescens, Sphaceloma rosarum.*

➤ **Insectos:**

*Diaphorina citri kuwayama, Liriomyza trifolii, Paysandisia archon, Rhynchophorus palmarum, Solenopsis invicta, Thrips palmi.*

➤ **Nematodos:**

*Aphelenchoides fragariae, Aphelenchoides bessegy, Ditylenchus destructor, Helicotylenchus spp., Heterodera trifolii, Longidorus spp., Paratrichodorus spp., Pratylenchus coffeae, Pratylenchus brachyurus, Pratylenchus fallax, Radopholus spp., Radopholus similis, Rotylenchulus reniformis, Trichodorus spp., Xiphinema spp., Xiphinema diversicaudatum.*

➤ **Virus:**

Tomato Ringspot Virus, Cherry Leaf Roll Virus-ch., Bamboo 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

### *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-selectivos 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