

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 OLEAGINOSAS (soja, girasol, maní, sésamo y olivo)

➤ **Ácaros**

Ditrymacus athiasellus, Aceria oleae, Brevipalpus russulus, Phyllocoptes unguiculatus, Raiiella macfarlanei.

➤ **Bacterias**

Clavibacter michiganensis subs. michiganensis, Curtobacterium flacumfaciens pv. flacumfaciens, Burkholderia caryophylli, Pseudomonas siringae pv. tagetis, Pseudomonas siringae pv. Aptata, Pseudomonas savastanoi pv. glycinea, Pseudomonas savastanoi pv. phaseolicola, Xanthomonas axonopodis pv. glycines.

➤ **Hongos**

Albugo tragopogi, Alternaria sesami, Alternaria zinniae, Alternaria helianthi, Cercospora sojina, Diaporthe caulivora, Diaporthe aspalathi, Diaporthe helianthi, Diaporthe heliantii, Fusarium oxysporum f. sp. Sesami, Fusarium poae, Fusarium sporotrichioides, Rosellinia necatrix, Peronospora manshurica, Phaeoacremonium aleophilum y Phialophora gregata, Phoma macdonaldii, Phomopsis longicolla, Phytophthora megasperma var. sojiae, Phytophthora sojiae, Plasmopara halstedii, Plenodomus lindquistii, Puccinia arachidis, Puccinia helianthi, Scopulariopsis sp., Rosellinia necatrix, Sclerotinia sclerotiorum, Septoria helianthi, Thecaphora freís, Verticillium dahliae, Verticillium albo-atrum.

➤ **Insectos**

Amphiserus cornutus, Araecerus fasciculatus, Bruchus spp., Cadra cautella, Callosobruchus chinensis, Callosobruchus spp., Carpophilu ssp., Chloridae virescens, Contarinia sorghicola, Cryptoles tespusillus, Delia platura, Dichroplus elongatus, Ditrymacus athiasella, Graphognathus leucoloma, Helicoverpa armígera, Helicoverpa zea, Heliothis virescens, Hemiberlesia lataniae, Hylesinus antipodus, Latheticus oryzae, Margaronia persimilis, Micrapates cabrata, Naupactus leucoloma, Naupactus xathographus, Nemapogon granellus, Oryzae philussurinamensis, Parlatoria oleae, Solenopsis invicta, Spodoptera frugiperda, Tribolium confusum, Trogoderma spp.

➤ **Nematodos:**

Ditylenchus dipsaci, Heterodera glycines, Meloidogyne spp., Paratrichodorus spp., Pratylenchus spp., Pratylenchus penetrans, Pratylenchus vulnus, Tylenchulus semi-penetrans, Xiphinema spp.

➤ **Virus:**

Tomato Ringspot Virus, Tobacco Ringspot Virus, Strawberry Latent Ringspot Virus, Cherry Leaf Roll Virus-ch

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*, *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

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