

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 Frutales (Plantas de peral, manzana, frutillas, cítricos, arándanos, bananas, nueces, kiwi, cerezos, damasco, durazno y vides) y rosa

➤ **Ácaros**

Aceria mangiferae, Aceria sheldoni, Aculus fockeui, Amphitetranychus viennensis, Brevipalpus californicus, Brevipalpus chilensis, Brevipalpus lewisi, Brevipalpus phoenicis, Brevipalpus spp., Bryobia rubrioculus, Cenopalpus pulcher, Colomerus vitis, Eotetranychus carpini, Eotetranychus sexmaculatus, Epitrimerus pyri, Eriophyes erineus, Eriophyes pyri, Eutetranychus banksi, Eutetranychus orientalis, Lorryia formosa, Oligonychus perseae, Panonychus citri, Panonychus ulmi, Phyllocoptes unguilatus, Phyllocoptruta oleivora, Phytoneumus pallidus, Polyphagotarsonemus latus, Raoiella indica, Schizotetranychus hindustanicus, Tegolophus brunneus, Tetranychus cinnabarinus, Tetranychus mcdanieli, Tetranychus mexicanus, Tetranychus pacificus, Tetranychus turkestani, Tetranychus urticae, Tetranychus viennensis, Tetranychopsis horridus, Tuckerella flabellifera y Tydeus californicus.

➤ **Bacterias**

Brenneria rubrifaciens, Brenneria nigrifluens, Erwinia amylovora, Pseudomonas viridiflava, Xanthomonas fragariae, Xanthomonas axonopodis pv citri, Ralstonia solanacearum raza 1, Pseudomonas syringae pv. actinidiae, Pseudomonas syringae, Rhodococcus fascians, Xanthomonas axonopodis pv. difenbachiae, Xanthomonas campestris pv. juglandis, Xanthomonas fragariae, Xilophilus ampelina, Xylella fastidiosa.

➤ **Hongos**

Cylindrocarpon spp., Diplocarpon earlianum, Dendrophoma obscurans, Fusarium oxysporum f sp. fragariae, Fusarium oxysporum f sp. cubense, Gnomonia comari, Guignardia citricarpa, Peronospora fragariae, Phytophthora fragariae, Phytophthora cactorum, Phytophthora megasperma, Verticillium dahliae.

➤ **Insectos**

Adoxophyes orana, Aegorhinus superciliosus, Agrotis exclamationis, Agrotis segetum, Amphitetranychus viennensis, Anarsia lineatella, Anastrepha fraterculus, Anthonomus musculus, Anthonomus pomorum, Anthonomus pyri, Anthonomus signatus, Aonidiella aurantii, Apatemonachus, Archips podana, Archips rosana, Argyroresthia pruniella, Argyroresthia pulchellana, Argyrotaenia citrana, Aspidiotus destructor, Brachycaudus helichrysi, Cacoecimorpha pronubana, Caliroa cerasi, Carpophilus humeralis, Ceratitis capitata, Ceroplastes floridensis, Ceroplastes japonicus, Ceroplastes rubens, Ceroplastes rusci, Chaetocnema confinis, Choristoneura rosaceana, Chrysodeixis chalcites, Coccus perlatus, Coccus viridis, Conotrachelus nenúfar, Cossus cossus, Cryptophlebia leucotreta, Cydia funebrana, Cydia molesta, Cydia packardii, Cydia pomonella, Dasineura pyri, Diaphorina citri kuwayama,

Diaspidiotus perniciosus, Drosophila suzukii, Dysaphis pyri, Dysmicoccus neobrevipes, Edwardsiana crataegi, Empoasca decipiens, Enarmonia formosana, Epidiaspis leperii, Eriosoma lanigerum, Euproctis chrysorrhoea, Euzophera semifuneralis, Frankliniella occidentalis, Graphognathus leucoloma, Grapholita lobarzewskii, Helicoverpa armigera, Hemiberlesia lataniae, Hyalopterus pruni, Hyphantria cunea, Icerya purchasi, Janus compressus, Lepidosaphes ulmi, Leucoptera malifoliella, Lobesia botrana, Lopholeucaspis japónica, Lymantria díspar, Lymantria monacha, Metcalfa pruinosa, Myzus cerasi, Naupactus xanthographus, Nealiturus haematoceps, Oiketicus platensis, Operopthera brumata, Orgyia antiqua, Orthosia cerasi, Ostrinia nubilalis, Otiorynchus cribricollis, Otiorynchus ovatus, Otiorynchus rugosostriatus, Otiorynchus sulcatus, Pammene rhediella, Pandemis heparana, Panonychus ulmi, Pantomorus cervinus, Parabemisia myricae, Parlatoria oleae, Parthenolecanium corni, Parthenolecanium persicae, Parthenolecanium persicae, Peridroma saucia, Phenacoccus solenopsis, Philaenus spumarius, Phyllosticta solitária, Planococcus fícus, Planococcus fícus, Popilia japónica, Prays citri, Proeulia spp, Protospulvinaria pyriformis, Pseudaulacaspis pentagona, Pseudaulacaspis pentagona, Pseudococcus calceolariae, Pseudococcus jackbeardsleyi, Pseudococcus maritimus, Pysilla pyricola, Quadraspidiotus perniciosus, Scaphoideus titanus, Spinolota ocellana, Spodoptera exígua, Spodoptera littoralis, Synanthedon myopaeformis, Taeniothrips inconsequens, Tetraneura nigriabdominalis, Thrips major y Zeuzera pyrina.

➤ **Nematodos**

Aphelenchoides fragariae, Aphelenchoides ritzemabosi, Ditylenchus spp., Ditylenchus dipsaci, Meloidogyne hapla, Pratylenchus spp., Pratylenchus vulnus, Pratylenchus thornei, Pratylenchus penetrans, Meloidogyne spp., Nacobbus aberrans, Radopholus similis, Trichodorus spp., Xiphinema americanum, Xiphinema rivesi.

➤ **Virus**

Strawberry Latent Ringspot Virus, Strawberry Mild Yellow Edge Potex virus, Arabic *Mosaic Virus*, *Raspberry Ringspot Virus-ch*, *Tomato Ringspot Virus*, *Cherry Leaf Roll Virus-ch*, Apple Proliferation Phytoplasma, Apple Stem Pitting Virus, Apple Stem Grooving Virus, Apple Mosaic Virus, Apple Chlorotic Leaf Spot Virus, Plum Pox Virus, Prunus Necrotic Ringspot Virus, Prune Dwarf Virus, Blueberry Scorch Virus, Blueberry Shock Virus, Grapevine Virus A, Grapevine Virus B y Flavescente dorée

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 ensayo 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 estadios iniciales: *Plasmopara halstedii*, *Peronosclespora sorghi*, *Peronosclespora maydis*.
- Identificación por características morfo-métricas. CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International) IMI. 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