



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN ORIGINAL

MÉTODO RÁPIDO PARA LA DISCRIMINACIÓN DE *Thrips palmi* Karny (THYSANOPTERA: THIRIPIDAE) POR PCR

Guillermina Ortega Rodríguez¹, Dimas Mejía Sánchez^{1*}, Juan Fernando Solís Aguilar¹, Adriana Rosalía Gijón Hernández², Héctor Enrique Vega Ortíz³, Nancy Villegas Jiménez⁴ y Roberto Miguel Johansen Naime⁵

Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5. Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. México. C.P. 56230 ¹.

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, INIFAP. Av. Progreso Núm. 5 C.P. 04110. Ciudad de México ².

Laboratorio de Entomología y Acarología, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-SADER, Km 37.5 Carretera Federal México Pachuca, Tecámac, México, C.P. 5574, México ³.

Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). Salina Cruz 29, Roma Sur, Cuauhtémoc, 06760. Ciudad de México ⁴.

Instituto de Biología. UNAM ⁵.

guille_or@yahoo.com.mx; dimasms@gmail.com; jfsolis@hotmail.com ¹

gijon.adriana@inifap.gob.mx ²

enrique.vega@senasica.gob.mx ³

nvillegas@oirsa.org ⁴

naime@ib.unam.mx ⁵

✉ dimasms@gmail.com ²

Carretera Irapuato-Silao km 5 Irapuato, 36500. Guanajuato. México.

Folia Entomológica Mexicana (nueva serie), 2024, 10: 2024 1002.

Recibido: 10/01/2024

Aceptado: 21/06/2024

Publicado en línea: 24 de julio de 2024



CC BY-NC-SA

Atribución-NoComercial-CompartirIgual

**MÉTODO RÁPIDO PARA LA DISCRIMINACIÓN DE *Thrips palmi* Karny (THYSANOPTERA: THIRIPIDAE) POR PCR****RAPID METHOD FOR THE DISCRIMINATION OF *Thrips palmi* Karny (THYSANOPTERA: THIRIPIDAE) BY PCR**

Guillermina Ortega Rodríguez¹ , Dimas Mejía Sánchez^{1*} , Juan Fernando Solís Aguilar¹ ,
Adriana Rosalía Gijón Hernández² , Héctor Enrique Vega Ortiz³ , Nancy Villegas Jiménez⁴  y
Roberto Miguel Johansen Naime⁵ 

Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5. Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. México. C.P. 56230 ¹. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, INIFAP. Av. Progreso Núm. 5 C.P. 04110. Ciudad de México ². Laboratorio de Entomología y Acarología, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-SADER, Km 37.5 Carretera Federal México Pachuca, Tecámac, México, C.P. 5574, México ³. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). Salina Cruz 29, Roma Sur, Cuauhtémoc, 06760. Ciudad de México ⁴. Instituto de Biología. UNAM ⁵.

*Autor de correspondencia: dimasms@gmail.com

Recibido: 10/01/2024

Aceptado: 21/06/2024

Publicado en línea: 24/07/2024

Editor Asociado: José Antonio Sánchez García

RESUMEN. Para discriminar al trips oriental (*Thrips palmi*) de otros trips, se presenta un método rápido mediante el análisis del rDNA ITS2. Para ello se obtuvo el DNA de inmaduros y adultos de *T. palmi*, *T. tabaci* y *F. occidentalis*, de forma directa, macerando el insecto en agua grado PCR. El DNA fue empleado para amplificación molecular con iniciadores de la región ITS2. El amplicon de *T. palmi* generó el producto reportado de 588 pb en un gel de agarosa al 1.5% y permitió diferenciarla de los otros trips. El resultado se robusteció con la secuenciación directa del producto, así como RFLPs. Las secuencias fueron comparadas con otras secuencias disponibles en el GenBank. Asimismo, se realizó un análisis filogenético formando dos clados con una probabilidad de agrupación del 77% para *T. palmi* y *T. tabaci*. El método propuesto contribuye a la identificación del trips oriental y discriminarlo de otros trips, ya que se confunden con frecuencia con otras especies de trips como *T. tabaci* y *F. occidentalis*, sobre todo en estados inmaduros, por lo que se complica su identificación usando claves taxonómicas. La detección rápida de esta plaga polífaga contribuye a reducir el ingreso y dispersión a regiones, países o áreas libres de esta plaga.

Palabras clave: Trips, identificación molecular, secuenciación.

ABSTRACT. This paper presents a rapid method to discriminate *Thrips palmi* from other thrips by ITS2 rDNA analysis. For this purpose, DNA was obtained directly from the immature and adult stages of *T. palmi*, *T. tabaci* and *F. occidentalis*, by macerating the insect in PCR-grade water. This DNA source was

used for molecular amplification with primers of the ITS2 region. The amplicon of *T. palmi* generated the reported product of 588 bp in a 1.5% agarose gel and allowed differentiation from the other thrips. The result was further supported by direct sequencing of the product as well as RFLPs. The sequences were compared with other sequences available in GenBank. A phylogenetic analysis was also performed forming two clades with a 77% clustering probability for *T. palmi* and *T. tabaci*. The proposed PCR method contributes to the identification of oriental thrips and to discriminate it from other thrips, since they are frequently confused with other thrips species such as *T. tabaci* and *F. occidentalis*, especially in immature stages, which complicates their identification using taxonomic keys. Rapid detection of this polyphagous pest helps to reduce entry and spread to free regions, countries or areas of this pest.

Keywords: Thrips, molecular identification, sequencing.

INTRODUCCIÓN

En México, se encuentra presente el trips de las flores *Frankliniella occidentalis* Pergande, el trips de la cebolla *Thrips tabaci* Lindeman (Huerta y Chavarín, 2002) y el trips oriental *Thrips palmi* Karny. Este último trips es una plaga polífaga, sobre todo de solanáceas y cucurbitáceas, con mucha capacidad de reproducción y reconocida tolerancia a insecticidas, lo cual provoca que los cultivos invadidos presenten elevadas poblaciones y daños severos en un corto tiempo, además de transmitir el virus del bronceado del tomate (TSWV) (Elizondo *et al.*, 2003; Priti *et al.*, 2020; Ghosh *et al.*, 2021).

La identificación morfológica de los trips se realiza principalmente en adultos, usando claves taxonómicas adecuadas para la separación de especies. Sin embargo, no existen las mismas herramientas para separar especies en estados inmaduros como huevecillos y larvas. Para realizar el diagnóstico con ayuda de claves taxonómicas es necesario observar al microscopio especímenes adultos montados en preparaciones permanentes (Villegas, 2005; Herrera-Vásquez y Barba-Alvarado, 2013). En el diagnóstico de larvas, los hospederos otorgan información adicional importante para la identificación (OEPP/EPPO, 2006).

México, ha establecido acciones oficiales por medio de la Dirección General de Sanidad Vegetal, del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (DGSV-SENASICA), dependiente de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) para

confinar y erradicar a *T. palmi* (SENASICA-DGSV, 2016). Considerando la importancia de la plaga, las relaciones comerciales que se tienen con otros países en donde se comercializan productos o subproductos hospedantes de *T. palmi* y de la dificultad para identificarla en estados inmaduros, debido a su similitud con otras especies de trips amarillos, en el presente trabajo se presenta un método rápido para discriminar a *T. palmi* de otros trips amarillos en estado adulto e inmaduro, usando amplificación molecular PCR del ITS2 del DNA ribosomal. Por lo que el objetivo del presente estudio fue discriminar a *T. palmi* de *T. tabaci* y *F. occidentalis*, indistinto al estado biológico en que se presente, incluso asociado a otros trips.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico: Individuos de *F. occidentalis*, se colectaron en inflorescencias de aguacate (*Persea americana* L. cv. Hass); en Acaxochitlán municipio de Ocuilco, mientras que *T. tabaci* se colectó en cultivo de cebolla (*Allium cepa* L. var. cepa) San Juan Ahuhueyo, municipio de Ayala, ambos en el Estado de Morelos, México. Además, se utilizaron ejemplares de *Thrips palmi* conservados en alcohol al 70 % de la Colección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) de la DGSV-SENASICA, para usarlos en la estandarización del protocolo y como testigos positivos, estos ejemplares se colectaron en el cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb)) en el estado de Yucatán, México, por parte de técnicos del CNRF.

Método directo de obtención de DNA: El proceso de obtención de DNA que se aplicó a las diferentes especies de trips fue el siguiente: Primero, a un individuo conservado en alcohol al 70 % se le enjuagó con agua destilada por tres ocasiones, posteriormente al tubo eppendorf (2 mL) con el trips se agregaron 10 µL de agua grado PCR, se maceró rápidamente y se homogenizó; en seguida, se conservó a -20 °C. Este macerado se empleó para la amplificación molecular. Adicionalmente, se utilizó el método comercial de extracción de ADN Plant–DNA-Zol® (Invitrogen, thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos), como método comparativo, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Secuenciación del rDNA ITS2: La sección ITS 2 del rDNA, que flanquea las regiones 5.8 S y 28 S, se amplificó con los iniciadores siguientes: 3'-TGTGAACTGCAGGAACACCATGA-5' y 3'-GGTAATCTCACCTGAACTGAGGTC-5' diseñados por Toda y Komazaki (2002), los cuales generan un producto de amplificación para *T. palmi* de 588 pb. El PCR fue realizado en un volumen de reacción de 25 µL, conteniendo 0.8 µM de cada iniciador, 1X de Buffer para PCR, 2.5 mM de MgCl₂, 2U de Taq Polimerasa (Invitrogen™), 200 µM de dNTPs (Invitrogen™), 10 ng de DNA y agua grado PCR. Las condiciones de amplificación fueron a 95 °C por 9 min de desnaturalización inicial, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 50 °C por 30 seg, 72 °C por 1 min y 72 °C por 7 min como extensión final, en un termociclador 2720 (Applied Biosystems™, Corp., CA, USA). Una alícuota del amplicón de 5 µL se analizó por electroforesis en gel de agarosa (Promega, USA) al 1.5% (w/v) en Buffer TBE. El gel se tiñó con bromuro de etidium y se visualizó en un fotodocumentador (DNR minibis-pro). El producto amplificado se purificó a partir del gel utilizando el kit Wizard® SV gel and PCR Clean-Up System (Promega, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante y se secuenció de forma directa en un Genetic Analyzer 3100 (Applied Biosystem Corp., CA, USA).

Análisis filogenético de las secuencias de trips:

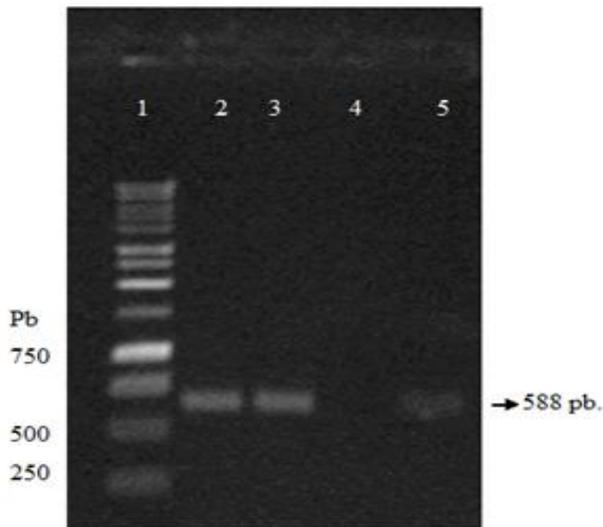
Con las secuencias obtenidas, se realizó el análisis filogenético mediante alineamiento múltiple usando Clustal W, incluido en el Software MegAling (Conway Inst., UCD Dublin, Ireland). Las secuencias obtenidas se depositaron en el banco de genes (GenBank) del NCB, USA. Los agrupamientos se determinaron utilizando el método NJ (Neighbor-Joining) a partir del rDNA ITS2. La confiabilidad de los agrupamientos se aseguró por un análisis bootstrap sobre 1000 réplicas (Tamura *et al.*, 2007). La matriz de porcentajes de similaridad y divergencias entre las secuencias obtenidas, se realizó con ayuda del Software DNASTar (DNASTar, Inc. Madison, Wis.).

RFLPs: Los productos amplificados fueron digeridos con las enzimas de restricción Hae III y Taq I (Roche®). La digestión con las enzimas se condujo en un volumen final de reacción de 30 µL, el cual contenía una mezcla de 15 µL. del producto amplificado, 7.5 Unidades de enzima, 1X de Buffer para enzima y agua grado PCR. La mezcla de reacción se sometió a 37 °C durante 20 h. El producto de la digestión se separó en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio y se visualizó en un fotodocumentador (**DNR minibis-pro**).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bajo las condiciones experimentales de la presente investigación se logró implementar un método directo de obtención de DNA de trips y con ello realizar una amplificación molecular para propósitos de detección y discriminación rápida de los trips *T. palmi* de *T. tabaci* y *F. occidentalis*, tanto de larvas como de estado adulto (Figura 1) obteniendo el producto de PCR, tanto por el método directo, como con el método comercial de referencia Plant–DNA-Zol.

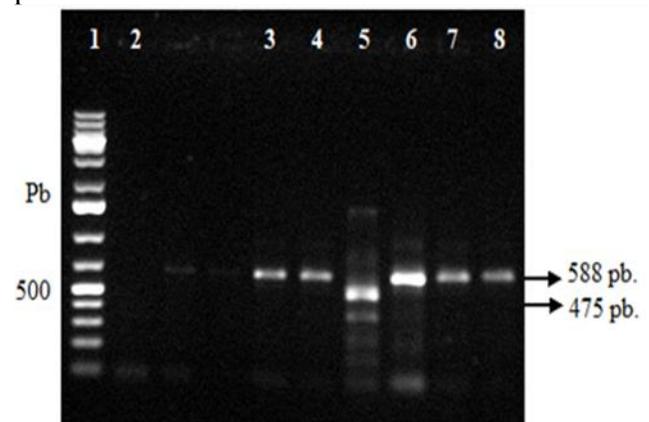
Figura 1. Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5 % proveniente de *Thrips palmi*. Carril: 1. Marcador de peso molecular de 1000 pb; 2. Método comercial Plant-DNA-Zol®; 3. Método directo; 4. Testigo negativo y 5. Testigo positivo.



El método propuesto en la presente investigación coincide con la metodología propuesta por Priti et al (2021), donde utilizan DNA de manera directa, también a partir de un individuo adulto de *T. palmi*, la diferencia perceptible con el método descrito en la presente investigación es un paso adicional de temperatura por 20 min y en ese caso, compararon la extracción cruda del DNA con el método CTAB y no perciben diferencias en la amplificación molecular. Tampoco se percibe si realizaron amplificaciones a partir de estados inmaduros. Sin embargo, es relevante diferenciarlos de otros estados inmaduros de trips, tanto en campo como para la movilización de productos y subproductos vegetales. En caso de que en un producto o subproducto de movilización se detecte *T. palmi*, sería demasiado complicado identificarlo por claves taxonómicas y mucho menos discriminarlo de otros trips. Por su parte Powers y Harris (1993) y Powers (2004) en su revisión de los métodos de diagnóstico, reportan un método similar de obtención de DNA. El método directo de obtención de DNA reportado en el presente trabajo, libera del uso de reactivos destinados para este fin y un ahorro de tiempo, aspecto fundamental cuando se considera la importancia de la plaga para diversos cultivos, además de su carácter regulado. La detección oportuna, incluyendo en sus estados inmaduros contribuye a reducir el ingreso a una región, su dispersión y establecimiento.

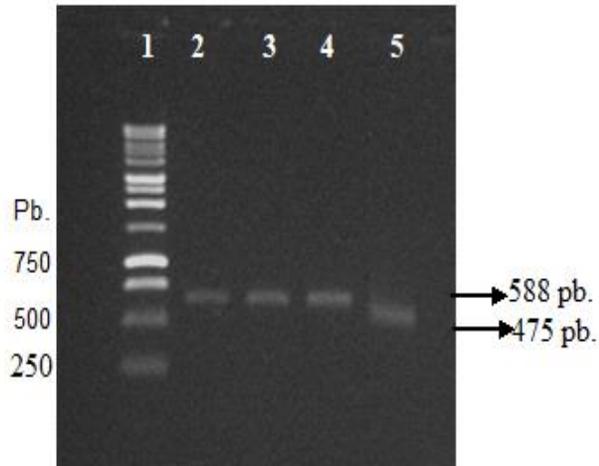
Los iniciadores utilizados están recomendados para especies de Thripidae. Con estos iniciadores se observa un fragmento sencillo de la región ITS2 del rDNA. El tamaño de los fragmentos o bandas para cada especie son fácilmente identificables, ya que van de 588 pb para *T. palmi* (Fig. 1), 475 pares de bases (pb) para *F. occidentalis* (Fig. 2) y de 521 pb para *T. tabaci* (Fig. 5). Lo anterior coincide con los resultados obtenidos por Toda y Komazaki (2002) y los reportados por la OEPP/EPPO (2006).

Figura 2. Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5 %. Carriles: 1. Marcador de peso molecular de 1000 pb; 2 Testigo negativo; 3, 4, 6 y 7. *Thrips palmi*; 5. *Frankliniella occidentalis* y 8. Testigo positivo.



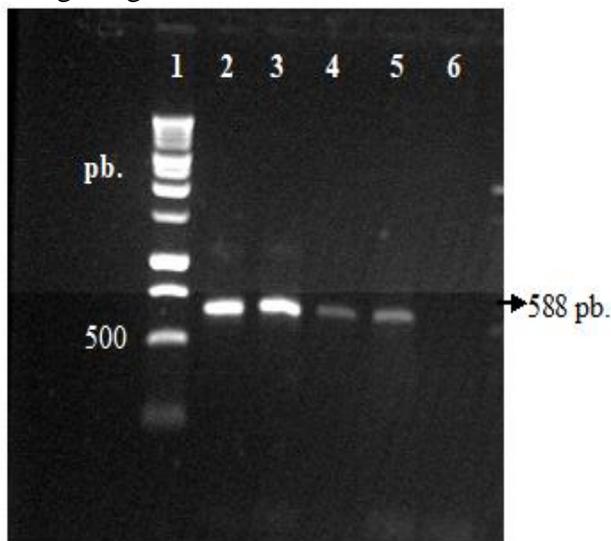
La detección de *T. palmi* se pudo realizar con un individuo y en mezcla con otro trips en proporción 1:1, en este caso, se probó en mezcla con *Gynaikothrips ficorum* Marchal (Fig. 3). Este resultado es de vital importancia para realizar el diagnóstico en esta especie de interés económico (Kox *et al.*, 2005; Walsh *et al.*, 2005; Sabahi *et al.*, 2017).

Figura 3. Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5 %. Carriles: 1. Marcador de peso molecular de 1000 pb; 2. *T. palmi* larva (1 individuo). 3. *Thrips palmi* adulto. 4. *Thrips palmi* adulto (1:1 con *Gynaikothrips ficorum*) y 5. *Frankliniella occidentalis* adulto (1:1 con *Gynaikothrips ficorum*).



Los resultados en el producto de PCR para cada una de las especies *T. palmi*, *T. tabaci*, y *F. occidentalis*, fueron los mismos sin importar sexo y/o estado biológico (Fig. 4) (Hettiaratchi *et al.*, 2000; Priti *et al.*, 2020; Sabahi *et al.*, 2017).

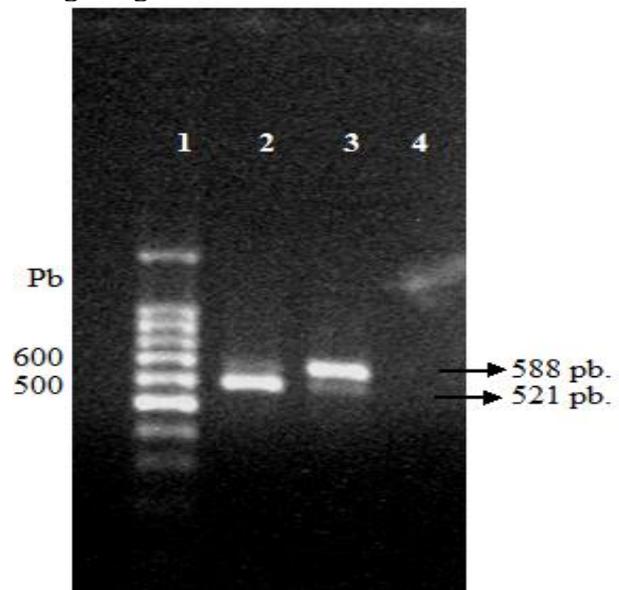
Figura 4. Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5 %. Carriles: 1. Marcador de peso molecular de 1000 pb; 2. DNA de *Thrips palmi* obtenido por método directo de adultos; 3. DNA de *Thrips palmi* obtenido por método rápido de larvas; 4. Positivo de *Thrips palmi* DNA por el método Plant-DNA-Zol®; 5. Positivo de *Thrips palmi*; 6. Testigo negativo.



El análisis de la OEPP/EPPO (2006), mencionan como desventaja el uso de los iniciadores específicos para la familia Thripidae, propuestos por Toda y Komazaki (2002), pero que no son específicos para *T. palmi*. Sin embargo, en la

presente investigación se evidenció como ventaja, ya que permite identificar de forma sencilla, rápida y precisa especies de Thripidae, diferenciados por el tamaño del fragmento (Inoue y Sakurai, 2007; Sabahi *et al.*, 2017). Mas aun, que se puede discriminar a *T. palmi* de otros trips que no son de interés económico (Villegas, 2005). Por la importancia de *T. palmi* y con el objeto de limitar su ingreso a una región, área o País, es fundamental que el diagnóstico sea eficiente, rápido y accesible económicamente, es decir, con un par de iniciadores determinar la mayor cantidad de especies, en este caso de especies de Thripidae. Las especies *T. palmi* y *T. tabaci* tienen semejanzas en cuanto a características morfológicas, tanto de larvas como de adultos. Es difícil discriminar especies de trips en los primeros estados larvales, sin embargo, mediante la técnica de PCR es posible diferenciarlas (Toda y Komazaki, 2002; Kox *et al.*, 2005; Walsh *et al.*, 2005; Herrera-Vásquez y Barba-Alvarado, 2013), ya que sus fragmentos difieren en peso con 67 pb (Fig. 5). Basado en el peso molecular de las bandas y con el uso de un marcador de peso molecular de 100 pb, se identificaron con facilidad las dos especies.

Figura 5. Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5 %. Carriles: 1. Marcador de peso molecular de 100 pb; 2. *Thrips tabaci*; 3. *Thrips palmi*; 4. Testigo negativo.



Toda y Komazaki (2002), sugieren el uso de la enzima de restricción Rsa I, para discriminar a *T. palmi* de otras especies de Thripidae como *T. tabaci*. Estas dos especies se pueden separar con facilidad con el producto de PCR (Figura 5), sin hacer uso de enzimas de restricción. Algo importante a considerar es que en México generalmente las muestras que proceden de la zona donde se presenta este trips, no se observan colonias mixtas de *T. palmi* y *T. tabaci*, pero si de *T. palmi* y *Frankliniella* spp. Esto último resulta de relevancia, sobre todo cuando en el comercio de productos o subproductos agropecuarios se encuentran estados inmaduros de trips y requiere identificar principalmente plagas de interés económico.

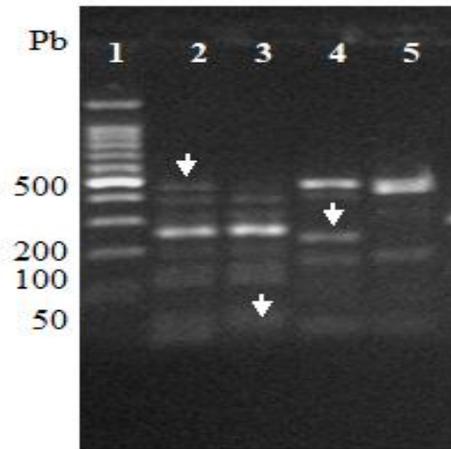
AFLPs: La acción de la enzima Taq I sobre el producto de PCR de *T. palmi*, mostró una diferenciación clara entre las dos especies (Cuadro 1), se digirió en seis fragmentos con uno en particular de 500 pb, y *T. tabaci* se digirió en cinco fragmentos con uno particular de 75 pb (Fig. 6).

La acción de la enzima Hae III sobre el producto de PCR de *T. palmi* resultó en cinco fragmentos, con uno en particular de 200 pb y para *T. tabaci* se obtuvieron tres fragmentos (Cuadro 1). Toda y Komazaki (2002), reportan digestión con la enzima Taq I para *T. palmi*.

Figura 6. Producto de la digestión en gel de agarosa al 2%. Carriles: 1. Marcador de peso molecular 100 pb; 2. *Thrips palmi* con enzima Taq I; 3. *Thrips tabaci* con enzima Taq I; 4. *Thrips palmi* con enzima Hae III; 5. *Thrips tabaci* con enzima Hae III.

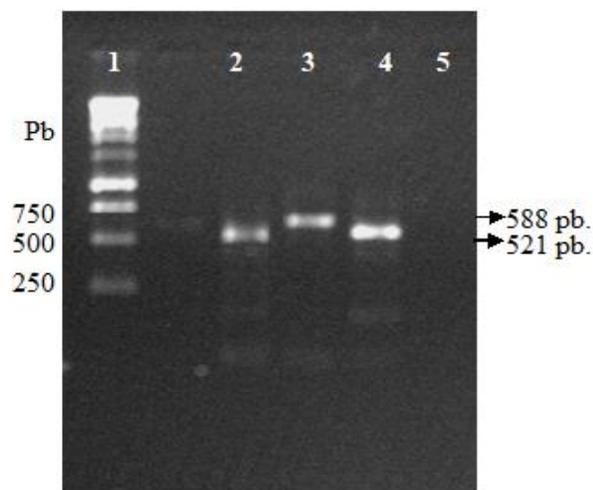
Cuadro 1. Tamaño de fragmentos amplificados por ITS2 y resultado de la digestión de las enzimas TAQ I y HAE III.

Especie	ITS2 (Frag. pb)	Enzima TAQ I	Enzima HAE III
<i>Thrips Palmi</i>	588	500, 400, 250, 200, 100, 50	500, 400, 200, 150, 60
<i>Thrips tabaci</i>	521	400, 250, 200, 100, 75	400, 150, 60



La técnica RFLP se constituyó como evidencia adicional para discriminar a *T. palmi* de *T. tabaci*, sin embargo, se consideraría un procedimiento opcional, ya que con el método de PCR propuesto en la presente investigación se pueden separar estas dos especies (Kox et al., 2005; Walsh et al., 2005). Un diagnóstico rápido en trips de importancia económica, o bien en el caso de especies con regulación fitosanitaria, contribuirá a un eficiente manejo de éstas (Toda y Komazaki, 2002; OEPP/EPPO, 2006; Kox et al., 2005; Walsh et al., 2005; Herrera-Vásquez y Barba-Alvarado, 2013). Por lo que el método sugerido en el presente trabajo se evaluó con muestras ciego y fue posible identificar a *T. palmi* y *T. tabaci* (Fig. 7).

Figura 7. Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5 %. Carriles: 1. Marcador de peso molecular de 1000 pb; 2. Muestra ciega; 3. Positivo de *Thrips palmi*; 4. Positivo de *Thrips tabaci*; 5. Testigo negativo.



Las secuencias obtenidas de las diferentes especies de trips, fueron comparadas con las secuencias disponibles en el banco de genes del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) mediante la alineación de las secuencias usando Clustal W y MegAlign del programa DNASTar. Los resultados indican una identidad de 99% con secuencias de *T. palmi* (Número de acceso EU35758), 99% de identidad con *T. tabaci* (Número de acceso EU35759) y 92% de identidad con *F. occidentalis* (Número de acceso EU382088).

Análisis Filogenético: Para la relación filogenética se utilizó a *Gynaikothrips ficorum* (Marchal), como grupo externo, perteneciente a la familia Phlaeothripidae (Mound, 2007) cuyo

número de acceso en el NCBI es EF468721 (Fig. 8).

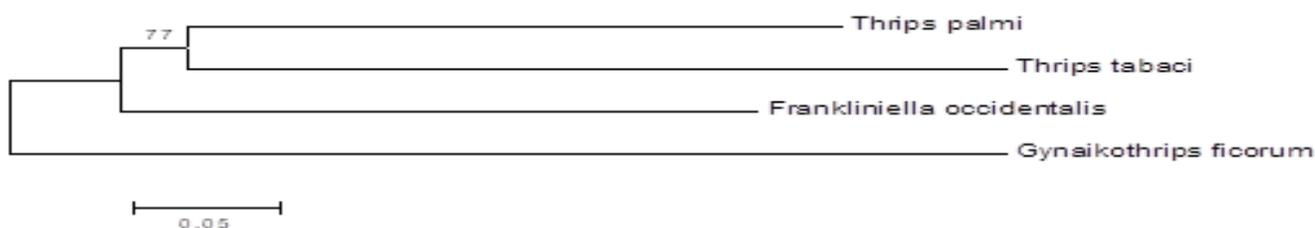
El dendrograma indica un origen común entre las tres especies, donde se observa una relación genética cercana como puede ser el pertenecer a la misma tribu Thripini. Además, existe una probabilidad del 77% de que las secuencias de nucleótidos provenientes de *T. palmi* y *T. tabaci*, alimentadas al software siempre formen un clado (Fig. 8).

También se puede apreciar la divergencia y similitud entre estas tres especies de trips (Cuadro 2). La amplificación molecular, el AFLPs, el análisis filogenético, así como las muestras ciegas empleadas dan robustez al método rápido de identificación y discriminación de *T. palmi* de otras especies de trips.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria de la Dirección General de Sanidad Vegetal del SENASICA, por proporcionar los ejemplares del trips oriental *Thrips palmi* Karny y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por su financiamiento, a través de la beca de posgrado del primer autor.

Figura 8. Relación filogenética entre las tres especies de trips.



Cuadro 2. Porcentaje de similitud y de divergencia. “Pair Distances of Untitled Clustal W (Slow/Accurate, IUB)” generado del software DNASTar.

		<i>Porcentaje de similitud</i>		
		<i>T. palmi</i>	<i>F. occidentalis</i>	<i>T. tabaci</i>
<i>Divergencia</i>	<i>T. palmi</i>	****	39.8	50.7
	<i>F. occidentalis</i>	100	****	50.8
	<i>T. tabaci</i>	79.2	64.0	****

LITERATURA CITADA

- Elizondo, A., Murguido, C., Pérez, I., Piedra, F., Peña, E., Martínez, M., Martell, M., Fernández, M., Sariol, H., Rodríguez, S., Jiménez, R., Granda, G., y Palacios, F. 2003. *Thrips palmi* Karny en la agricultura cubana. *Fitosanidad*, 7(2): 19-24.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209118162003>. Fecha de consulta 7 de junio de 2023.
- Ghosh, A., Jangra, S., Dietzgen, R.G., Yeh, W.-B. 2021. Frontiers approaches to the diagnosis of thrips (Thysanoptera): How effective are the molecular and electronic detection platforms? *Insects*, 12, 920: 1-26.
<https://doi.org/10.3390/insects12100920>.
- Herrera-Vásquez, J.Á. y Barba-Alvarado, A.A. 2013. Identificación de *Thrips palmi* Karny (THYSANOPTERA: THIRIPIDAE) en cultivos de cucurbitáceas en Panamá. *Agronomía Mesoamericana*. 24(1): 47-55.
<https://www.redalyc.org/pdf/437/43726204003.pdf>. Fecha de consulta 12 de junio de 2023.
- Hettiaratchi, U. P. K., Munasingha, D. H. N., Chandrasekharan, N. V., Karunanayake, E. H., and Jayasekera, N. 2000. A polymerase chain reaction based method for the detection of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research*, 90: 63-68. <https://doi.org/10.1017/S0007485300000092>.
- Huerta, P. y Chavarín P. 2002. Trips y minadores: identificación, biología y control. Manejo Fitosanitario de Ornamentales. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. *Avances de Investigación*. Pág. 55-66.
- Inoue, T., and Sakurai, T. 2007. The phylogeny of thrips (Thysanoptera: Thripidae) based on partial sequences of cytochrome oxidase I, 28S ribosomal DNA and elongation factor-1 α and the association with vector competence of tospoviruses. *Applied Entomology and Zoology*, 42 (1): 71-81.
<https://doi.org/10.1303/aez.2007.71>.
- Kox, L.F.F., Van Den Beld, H.E., Zjilstra, C., and Vierbergen, G. 2005. Real-time PCR assay for the identification of *Thrips palmi*. *Bulletin EPPO*, 35: 141–148. 2005 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2005.00797.x>.
- Mound, L. 2007. Department of Entomology, British Museum (Natural History). London England.
<http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto241.html>). Fecha de consulta 11 de noviembre de 2022
- OEPP/EPPO. 2006. Diagnostic *Thrips palmi*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. *Bulletin*, 36: 89-94. 10.1111/epp.12545.
- Powers, T.O., and Harris, T.S. 1993. A polymerase chain reaction method for the identification of five major *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*., 25:1-6.
- Powers, Tom. 2004. Nematode molecular diagnostics: from bands to barcodes. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 367-383. DOI:10.1146/annurev.phyto.42.040803.140348.
- Priti, Jangra, S., Baranwal, V.K. *et al.* A rapid field-based assay using recombinase polymerase amplification for identification of *Thrips palmi*, a vector of tospoviruses. *J Pest Sci* 94, 219–229 (2021). <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01284-w>.
- Priti, S.J., Baranwal, V.K., Dietzgen, R.G., Ghosh, A. 2020. A rapid field – based assay using recombinase polymerase amplification for identification of *Thrips palmi*, a vector of tospoviruses. *Journal of Pest Science*, 94: 219–229.
<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10340-020-01284-w.pdf>. Fecha de consulta 17 de noviembre de 2022.
- Sabahi S., Fekrat L., Zakiaghl, M. 2017. A simple and rapid molecular method for simultaneous identification of four economically important thrips species. *J. Agr. Sci. Tech.* 19: 1279-1290.
<http://jast.modares.ac.ir/article-23-3056-en.html>. Fecha de consulta 15 de febrero de 2023.
- SENASICA-DGSV. 2016. Trips oriental (*Thrips palmi* Karny 1925) (Thysanoptera: Thripidae). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia

Fitosanitaria-Grupo Especialista Fitosanitario. Ficha Técnica. Tecámac, México 17 p. <https://es.scribd.com/document/471416016/trips-palmi-ficha-tecnica-plaga-de-cuarentena>. Fecha de consulta 16 de noviembre de 2022.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., and Kumar, S. 2007. MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 24:1596-1599. <http://www.kumarlab.net/publications>. Fecha de consulta 19 de octubre de 2022

Toda, S., and Komazaki, S. 2002. Identification of trips species (Thysanoptera: Thripidae) on Japanese fruit trees by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism of the ribosomal ITS2 regions. *Bulletin of Entomological Research*, 92: 359-363. DOI: 10.1079/BER2002177.

Villegas, J.N. 2005. Biología y hábitos de trips oriental. Campaña contra trips oriental. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. DGSV-Ingenieros Agrónomos Parasitólogos, A.C. Campeche, México. Memorias del curso de capacitación para personal oficial SENASICA-SAGARPA.

Walsh, K., Boonham, N., Barker, I., and Collins, D.W. 2005. Development of a sequence-specific real-time PCR to the melon thrips *Thrips palmi* (Thysan., Thripidae). *Journal of Applied Entomology*, 129(5): 272-279. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2005.00960.x>