

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y GANADERIA
Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria
Sub Dirección Técnica de Sanidad Vegetal

Departamento de Diagnostico Vigilancia y Campañas Fitosanitarias

Ficha de Identificación de *Thrips palmi*

Taxonomía:

Nombre: *Thrips palmi* Karny, 1925

Clase: Insecta

Orden: Thysanoptera Terebrantia,

Familia: Thripidae,

Genero: *Thrips*

Especie: *palmi*

Sinónimos:

Thrips clarus Moulton, 1928

Thrips leucadophilus Priesner, 1936

Thrips gossypicola Ramakrishna y Margabandhu, 1939

Chloethrips aureus Ananthakrishnan y Jagadish, 1967

Thrips gracilis Ananthakrishnan y Jagadish, 1968.



Foto: Cheryle O'Donell

Ficha de Identificación de *Thrips palmi*

Características para el Diagnóstico de los Géneros *Thrips* y *T. palmi*

Los especímenes pueden reconocerse como *Thrips* por la combinación de los siguientes caracteres (véase la Figura 1 para la ubicación de los diversos rasgos):

Antena	compuesta de siete u ocho segmentos distintos: segmentos III y IV con tricomas bifurcados o conos sensoriales.	(Figs. 2.1 y 2.2)
cabeza	con dos pares de setas ocelares (II y III);	(Fig. 2.3)
pronoto	con dos pares de setas posteroangulares	(Fig. 2.4)
ala anterior	1ª vena – hilera de setas con espacios (mayoría de las especies)	(Fig. 2.5)
tergitos abdominales V a VIII	con ctenidios pareados (peines – cada uno compuesto de una serie de protuberancias)	(Fig. 1)
tergito abdominal VIII	con ctenidios posteriores y medios al es-	(Fig. 2.6)

Los especímenes pueden identificarse como *Thrips palmi* Karny por la presencia de

Color del cuerpo	cuerpo de color amarillo claro sin áreas oscuras en la cabeza, tórax o abdomen: segmentos antenales I y II son pálidos	(Fig. 2.1)
segmento antenal V	generalmente amarillento en el extremo basal $\frac{1}{3}$ a $\frac{1}{2}$	(Fig. 2.1)
segmento antenal VI	longitud = 42–48mm	(Fig. 2.1)
cabeza: par de setas ocelares III	con sus bases fuera o tangencial al triángulo ocelar	(Fig. 2.3)
ala anterior: 1ª vena	con dos o tres setas en la mitad distal	(Fig. 2.5)
metanoto	con un par de poros metanotales (sencila campaniforme); con esculturación estriada, generalmente convergente en la parte posterior	(Fig. 2.7)
pleurotergitos abdominales	protuberancias sin microtrichia; setas secundarias ausentes	(Fig. 2.8)
tergito abdominal II	con cuatro setas laterales	(Fig. 2.9)
tergitos abdominales III y IV	S2 casi igual a S3	(Fig. 2.10)
tergito abdominal	con peines posteromarginales completos de microtrichia	(Fig. 2.6)
tergito abdominal IX	generalmente con dos pares de poros (anterior y medio)	(Fig. 2.11)
macho: esternitos	áreas glandulares transversales en esternitos III a VII	(Fig. 2.12)

Figura 1. Ubicación de los caracteres generales de *Thrips* (♀ - vista dorsal)

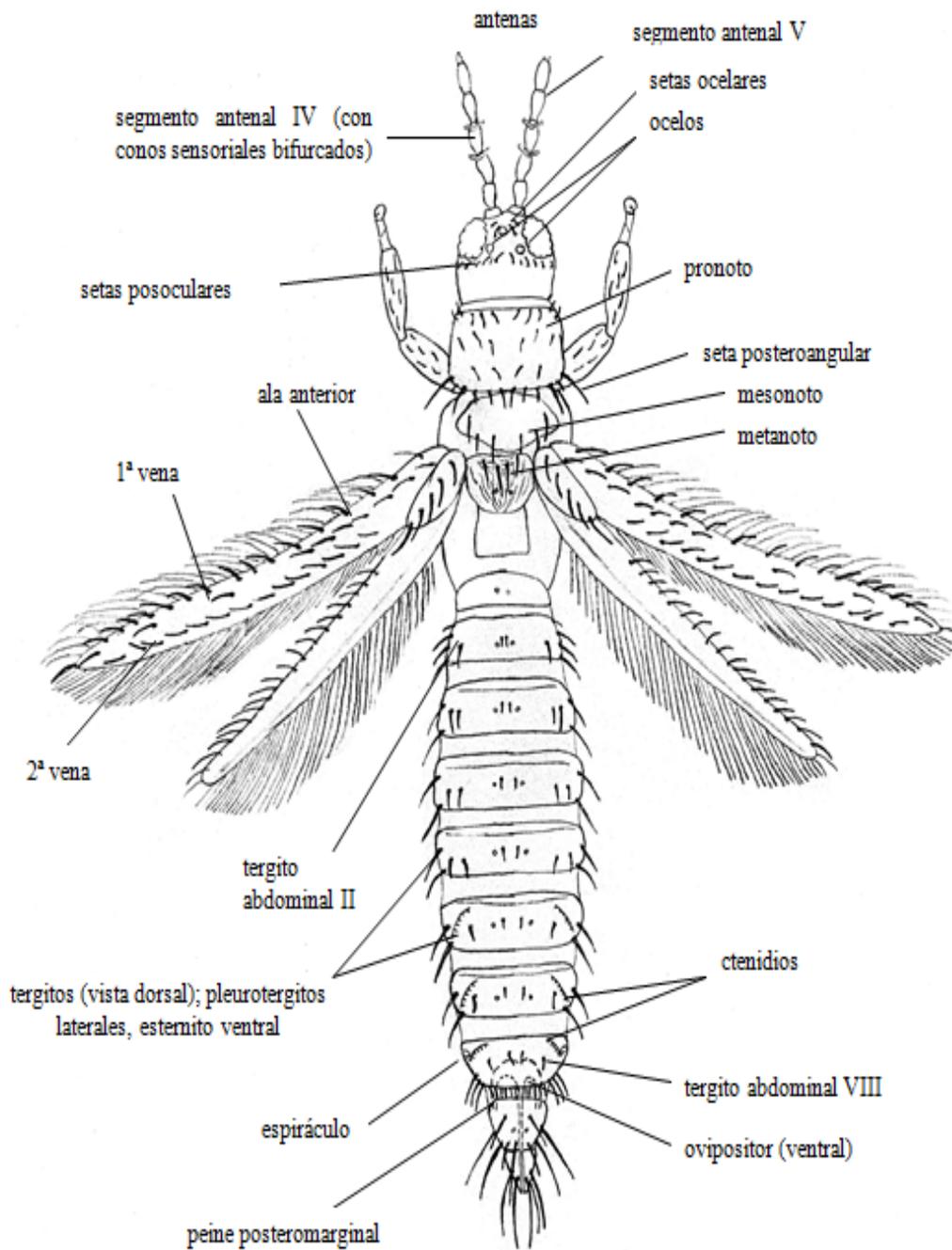
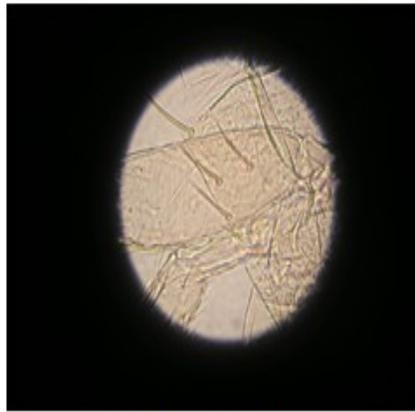
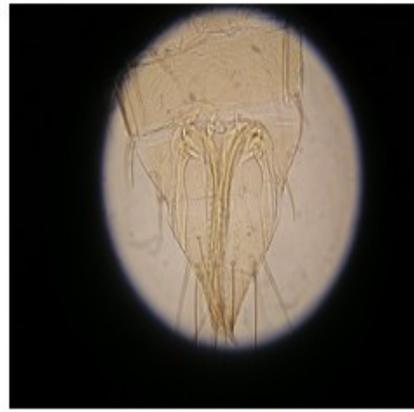


Figura 2. Caracteres de *Thrips palmi* (Fotografias)



4 Setas en el II Tergio



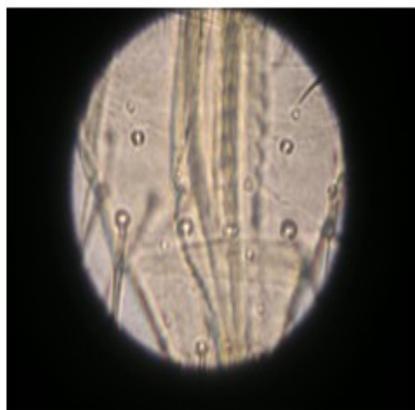
Aparato Reproductor



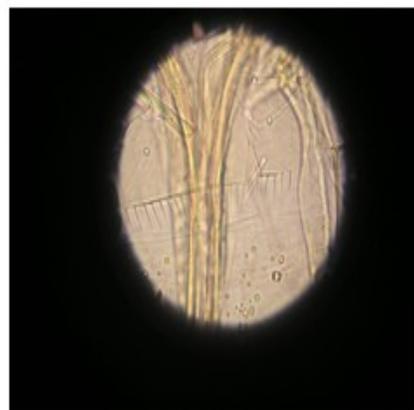
Cono sensorial (III y IV segmento Antenal)



VIII tergito (tenidia y espiraculo)



IX tergito 2 pares de poros



Peine continuo y fino (VIII tergito)

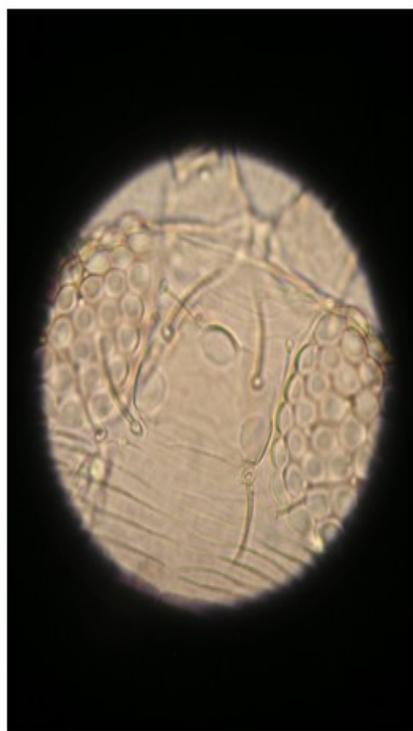
Fig. 2 continúa.



Protorax(setas antero-angulares-marginales)



Thrips palmi (hembra)



Triangulo Ocelar



Estructura Metatoraxica

Figura 3. Caracteres de *Thrips palmi* (dibujado por S. Kobro, Norwegian Crop Protection Institute, Noruega)

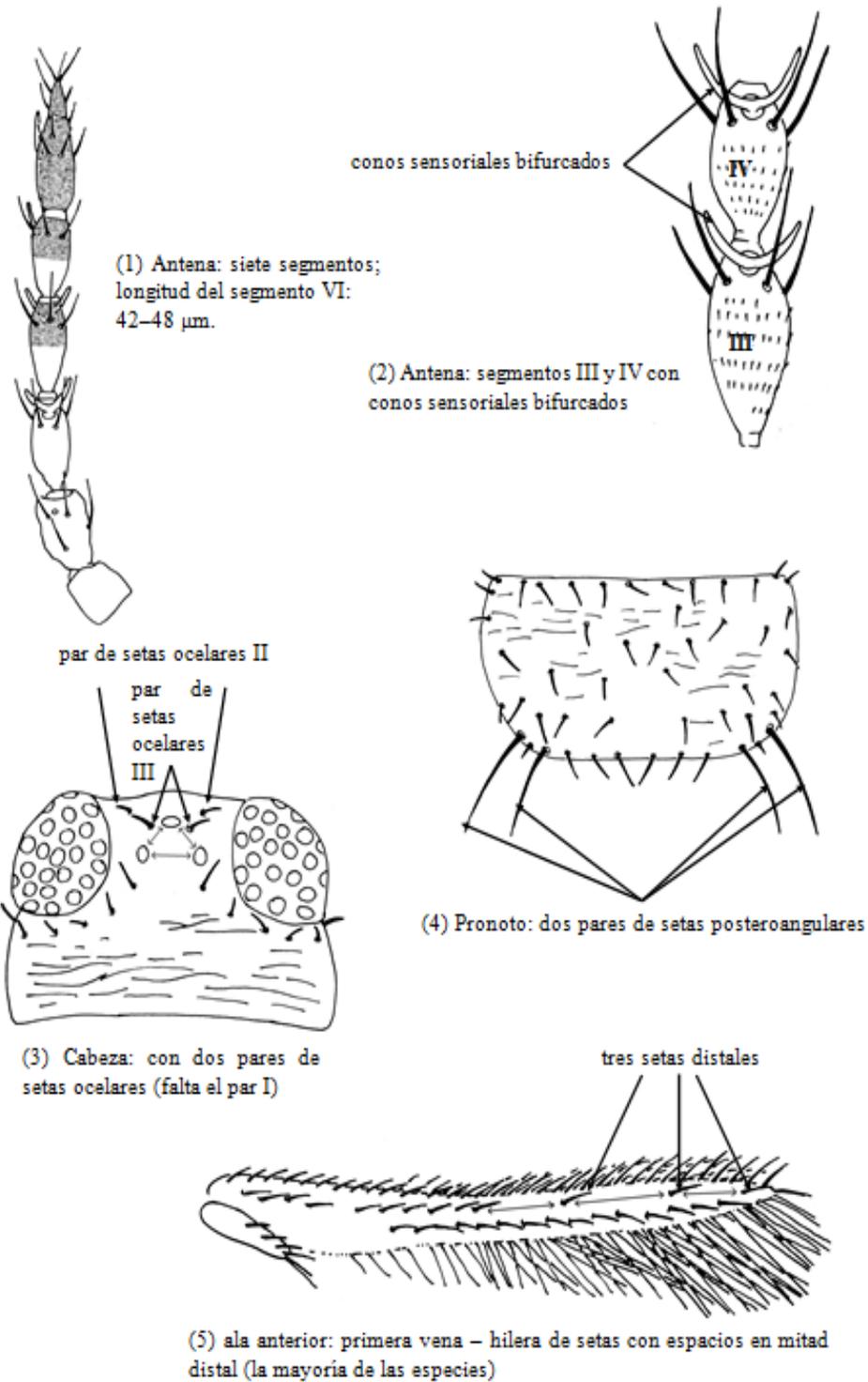
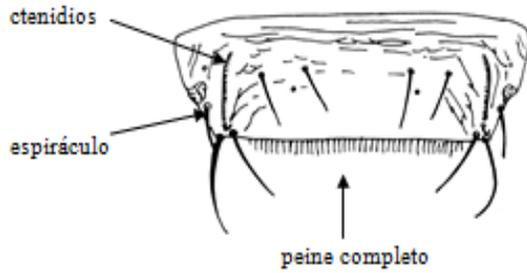
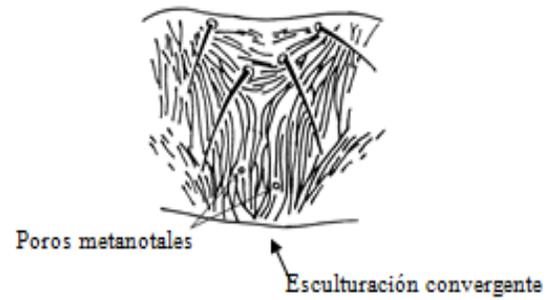


Fig. 3 continúa.



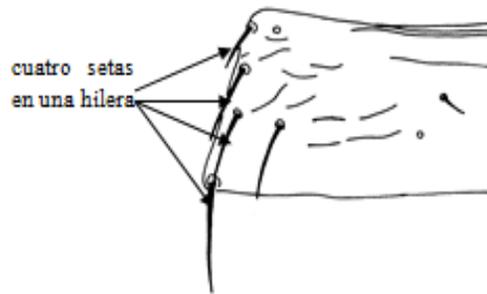
(6) Tergito abdominal VIII: abertura del espiráculo anterior al ctenidio lateral



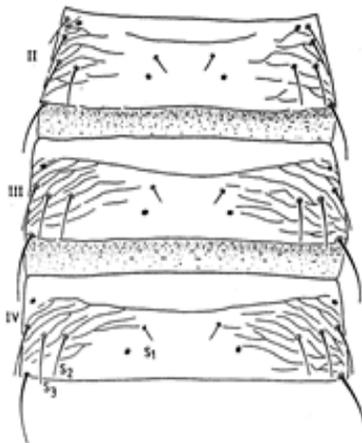
(7) Metanoto



(8) Pleurotergite abdominal



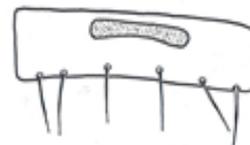
(9) Tergito abdominal II: cuatro setas laterales



(10) Tergitos II a IV, hembra: S2 casi el mismo tamaño que S3 (de zur Strassen, 1989).



(11) Tergito abdominal IX



(12) Esternito V del macho

Ensayos Moleculares Para la Identificación de Todos los Estados de Vida de *Thrips palmi*

Requisitos Para los Controles

Con todos los métodos moleculares es esencial el uso de controles apropiados; se debería incluir un extracto de *T. palmi* positivo y validado, como muestra adicional para asegurar que la amplificación ha tenido éxito. La amplificación por PCR, ya sea con TaqMan o PCR-RFLP, también debería realizarse en una muestra sin plantilla en donde se reemplace el extracto de ADN con agua. Este control negativo precave contra una posible contaminación del reactivo y falsos positivos.

1. Extracción de ADN

El ADN puede extraerse de los huevecillos individuales, adultos, pupario o larvas. El ADN se extrae utilizando métodos de extracción de ADN adecuados para insectos. Por ejemplo:

- Los trips pueden molerse en un tampón de lysis en un microtubo, utilizando un micro-mortero y luego se utiliza el High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche) de acuerdo a las instrucciones en el protocolo para tejido de mamífero. El ADN se eluye con 50 µl de 10 mM Tris, pH 8.5.
- Otra posibilidad es que se muele el trip en 50 µl de agua libre de nucleasas antes de añadir 50 µl de un compuesto 1:1 (volumen por volumen) de resina Chelex 100 (Bio-Rad) y agua libre de nucleasas, y luego se calienta a 95°C durante 5 min y se centrifuga a 11,000 g durante 5 min. **El sobrenadante se transfiere a un microtubo nuevo y se almacena a -20°C.**

2. Ensayo de PCR en Tiempo Real Basado en la Secuencia Generada por Marcador SCAR Para *Thrips palmi*

Este ensayo fue diseñado por Walsh *et al.* (2005) como un ensayo específico para una especie, para uso de las autoridades fitosanitarias de Inglaterra y el país de Gales contra *T. palmi*. Se evaluó analizando el ensayo contra 21 otras especies de trips, incluidas diez en el género *Thrips*. Estas eran en su mayoría, pero no exclusivamente, especies europeas.

Metodología

Los iniciadores de la PCR y sondas TaqMan específicos para *T. palmi* que se utilizan en este ensayo son los siguientes:

Iniciador de PCR: P4E8-362F (5'-CCGACAAAATCGGTCTCATGA-3')

Iniciador de PCR: P4E8-439R (5'-GAAAAGTCTCAGGTACAACCCAGTTC-3')

Sonda TaqMan: P4E8-385T (FAM 5'-AGACGGATTGACTTAGACGGGAACGGTT-3')

Ensayos moleculares Para la Identificación de Todos los Estados de Vida de *Thrips palmi*

Las reacciones de la PCR en tiempo real se establecen utilizando el estuche TaqMan PCR core reagent (Applied Biosystems) con 1ml (10–20 ng) de extracto de ADN, 7.5 pmol de cada iniciador y 2.5 pmol de sonda en un volumen total de 25ml. Las placas realizan los ciclos en condiciones genéricas del sistema (10 min a 95°C y 40 ciclos de 1 min a 60°C, 15 s a 95°C) ya sea en un equipo ABI Prism 7700 o ABI 7900HT Sequence Detection Systems (Applied Biosystems), utilizando recolección de datos en tiempo real. Los valores de Ct menores de 40 indican la presencia de ADN de *T. palmi*.

3. Ensayo de PCR en Tiempo Real Basado en la Secuencia COI Para *Thrips palmi*

Este ensayo fue diseñado por Kox *et al.* (2005) como un ensayo específico para una especie, para uso de las autoridades fitosanitarias de Países Bajos contra *T. palmi*. Se evaluó analizando el ensayo contra 23 otras especies de trips, incluidas 11 en el género *Thrips*. Estas eran en su mayoría, pero no exclusivamente, especies europeas.

Metodología

Los iniciadores de la PCR y sondas TaqMan específicos para *Thrips palmi* que se utilizan en este ensayo son los siguientes:

- La mezcla de reacción 25 ml contiene: 12.5 ml de 2x Taqman Universal master mix (Applied Biosystems), 0.9 mM de cada iniciador, 0.1 mM de sonda Taqman, 1.0 ml de ADN.
- El PCR en tiempo real se realiza en un instrumento adecuado para la detección del reporte de fluorescencia, tal como el equipo ABI Prism 7700 ó 7900 Sequence Detection Systems (Applied Biosystems) utilizando las siguientes condiciones: 10 min a 94°C; luego 40 ciclos de 15 s a 94°C y 60 s a 60°C.
- Los valores de Ct menores de 40 indican la presencia de ADN de *T. palmi*.

4. Ensayo de PCR-RFLP basado en la secuencia ITS2 para nueve especies de trips incluido *Thrips palmi*

Este ensayo (Toda y Komazaki, 2002) fue diseñado para separar nueve especies de trips, incluido *T. palmi*, que se encuentran en árboles frutales en Japón: *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *F. intonsa* (Trybom), *T. hawaiiensis* Morgan, *T. coloratus* Schmutz, *T. flavus*, *T. tabaci*, *T. palmi*, *T. setosus* Moulton, *Scirtothrips dorsalis* Hood.

Metodología

Los iniciadores de la PCR (localizados en las regiones 5.8 S y 28 S flanqueando la región ITS2 de ADN ribosomal) que se utilizan en este ensayo son los siguientes:

5'-TGTGAACTGCAGGACACATGA-3'

Ensayos moleculares Para la Identificación de Todos los Estados de Vida de *Thrips palmi*

T. palmi genera un producto de PCR de 588-bp (de las otras especies se producen fragmentos más largos o cortos). La mezcla de reacción 20 µl está compuesta de la siguiente forma: 1 µM de cada iniciador, 250 µM de dNTPs (Promega), 1 unidad de AmpliTaq Gold DNA polimerasa (Applied Biosystems), 2 µl de tampón de reacción 10 x [con 25 mM de MgCl₂], 0.5 µl de ADN. La PCR se realizó en un termociclador tipo Peltier de 96 pozos (por ejemplo, PTC200, MJ-Research) con los siguientes parámetros: 9 min a 94°C, 35 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 50°C, y 1 min a 72°C, seguido de una extensión final de 10 min a 72°C y enfriada rápidamente a temperatura ambiente. Los productos de la PCR se analizan por electroforesis en gel de agarosa.

Se digiere 5 µl de producto de la PCR (sin purificación) con la enzima *RsaI*, conforme a las instrucciones del fabricante. Los productos de la PCR digeridos se separan por electroforesis en gel de agarosa.

Los tamaños de los fragmentos de restricción producidos por *T. palmi* cuando el fragmento ITS2 se ha digerido con *RsaI* son los siguientes: 371, 98, 61 y 58 bp.

5. Ensayo de PCR-RFLP basado en la secuencia COI para diez especies de trips incluido *Thrips palmi*

Este ensayo de Brunner *et al.* (2002) fue diseñado para separar diez especies de trips, incluido *T. palmi*, que son en su mayoría, pero no exclusivamente, especies de plagas que se han encontrado en Europa: *Anaphothrips obscurus* (Müller), *Echinothrips americanus* Morgan, *Frankliniella occidentalis*, *Heliethrips haemorrhoidalis* (Bouché), *Hercinothrips femoralis* (Reuter), *Parthenothrips dracaenae* (Heeger), *Taeniothrips picipes* (Zetterstedt), *Thrips angusticeps* Uzel, *T. palmi*, *T. tabaci*.

Metodología

Los iniciadores de la PCR (localizados en la secuencia del gen mitocondrial COI) que se utilizan en este ensayo son los siguientes:

mtD-7.2F (5'-ATTAGGAGCHCCHGAYATAGCATT-3')

mtD9.2R (5'-CAGGCAAGATTAAAATATAAACTTCTG-3').

Estos iniciadores amplifican un fragmento de 433-bp en todas las especies separadas por este ensayo. La mezcla de reacción 50 µl estaba compuesta de la siguiente forma: 0.76 µM de cada iniciador, 200 µM de dNTPs (Promega), 1 unidad de Taq DNA polimerasa (Roche), 5 µl de tampón de reacción 10 x [con 15 mM de MgCl₂], 1 µl de ADN. La PCR se realizó en un termociclador tipo Peltier de 96 pozos (por ejemplo, PTC200, MJ-Research) con los siguientes parámetros: 1 min a 94°C, 40 ciclos de 15 s a 94°C, 30 s a 55°C, y 45 s a 72°C, seguido de una extensión final de 10 min a 72°C y enfriada rápidamente a temperatura ambiente.

Ensayos moleculares Para la Identificación de Todos los Estados de Vida de *Thrips palmi*

Se digiere 5 µl de producto de la PCR (sin purificación) con las enzimas *AluI* y *Sau3AI* en reacciones separadas conforme a las instrucciones del fabricante. Los productos del PCR digeridos se separan por electroforesis en gel de agarosa.

Los tamaños de los fragmentos de restricción producidos por *T. palmi* cuando el fragmento COI se ha digerido con *AluI* y *Sau3AI* son los siguientes:

AluI: 291 y 194 bp

Sau3AI: 350 y 135 bp.

Literatura Citada

IPPC 2010. Nimf 27 Protocolos de Diagnóstico; PD 1: *Trips palmi* Karni.

Foto *Trips palmi* Karni—Cheryl O'Donell