



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

MAESTRIA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

ESPECIES DE TRIPS ASOCIADAS A CULTIVOS COMERCIALES DE
ZARZAMORA EN MICHOACÁN Y JALISCO Y ESTADO DE LA RESISTENCIA A
INSECTICIDAS DE USO COMÚN

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA:

YESICA PAOLA CUBILLOS SALAMANCA



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
EXAMENES PROFESIONALES



NOVIEMBRE DE 2017

Chapingo, Estado de México

**ESPECIES DE TRIPS ASOCIADAS A CULTIVOS COMERCIALES
DE ZARZAMORA EN MICHOACÁN Y JALISCO Y ESTADO DE
LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS DE USO COMÚN**

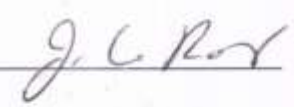
Tesis realizada por Yesica Paola Cubillos Salamanca bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

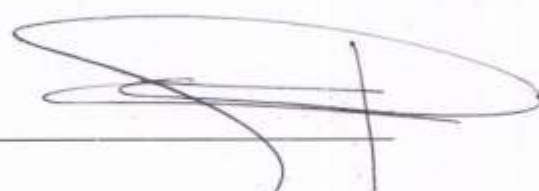
DIRECTOR: _____


Ph.D. ANGEL REBOLLAR ALVITER

CO-DIRECTOR: _____


DR. J. CONCEPCIÓN RODRÍGUEZ MACIEL

ASESOR: _____


DR. SAMUEL PINEDA GUILLERMO

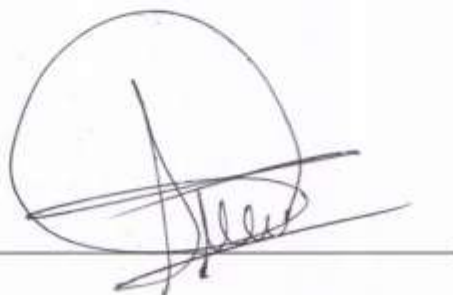
ASESOR: _____


DR. SAMUEL RAMÍREZ ALARCON

**ESPECIES DE TRIPS ASOCIADAS A CULTIVOS COMERCIALES
DE ZARZAMORA EN MICHOACÁN Y JALISCO Y ESTADO DE
LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS DE USO COMÚN**

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de **Yesica Paola Cubillos Salamanca** autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Ciencias en Protección Vegetal estuvo constituido por:

PRESIDENTE: _____



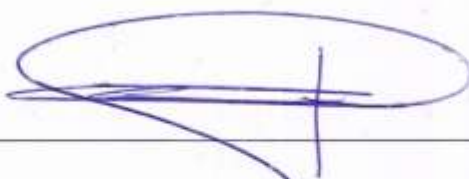
Ph.D. ANGEL REBOLLAR ALVITER

ASESOR _____



DR. J. CONCEPCIÓN RODRÍGUEZ MACIEL

ASESOR _____



DR. SAMUEL PINEDA GUILLERMO

ASESOR: _____



DR. SAMUEL RAMÍREZ ALARCON

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre	Yesica Paola Cubillos Salamanca
Fecha de nacimiento	31 de diciembre de 1992
Lugar de nacimiento	Pacho, Cundinamarca, Colombia
Profesión	Ingeniera Agroecológica
Cédula profesional	25345-309847 de Colombia

Desarrollo académico

Licenciatura	Ingeniería Agroecológica. Corporación Universitaria Minuto de Dios, Sede Zipaquirá, Cundinamarca, Colombia (2015)
Maestría	Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo. México, México. (2017)

RESUMEN

Yesica Paola Cubillos Salamanca

Especies de Trips asociadas a cultivos comerciales de zarzamora en Michoacán y Jalisco
y estado de la resistencia a insecticidas de uso común.

(Noviembre 22, 2017)

(Bajo la dirección de Angel Rebollar Alviter Ph. D).

Los trips son una plaga primaria del cultivo de zarzamora (*Rubus* sp.) en México. El objetivo de este estudio fue conocer las especies de trips asociadas al cultivo de zarzamora en Michoacán y Jalisco y la susceptibilidad de 13 poblaciones de campo de *Frankliniella occidentalis* contra malatión, bifentrina y spinosad, tres de los insecticidas más comúnmente utilizados en el área de producción. La identificación se realizó mediante técnicas morfológicas y moleculares y la evaluación de la resistencia mediante bioensayos con el método de inmersión foliar, las CL50 y CL95 se calcularon mediante análisis probit. Los estudios moleculares indicaron que las principales especies asociadas a zarzamora fueron *F. occidentalis* y *F. borinquen*. Además, la identificación morfológica añadió a *F. toluensis*, *Retanathrips funestus*, *Tenothrips frici* y una nueva especie del género *Frankliniella*. Todas las poblaciones evaluadas mostraron diferencias significativas en la sensibilidad a bifentrina, malatión y spinosad con la población susceptible (LC=95%) y mostraron resistencia a los tres insecticidas. Las proporciones de resistencia obtenidas en este estudio indica la existencia de resistencia de *F. occidentalis* a los tres insecticidas. Se sugiere establecer planes de gestión de resistencia en el contexto de MIP.

PALABRAS CLAVE: resistencia, organofosforados, spinosinas, piretroides, manejo integral de plagas.

ABSTRACT

Yesica Paola Cubillos Salamanca

Thrips Species associated with commercial crops of Blackberry in Michoacan and
Jalisco and state of resistance to common Insecticides

November 22, 2017

(Under the direction of Angel Rebollar Alviter Ph. D.)

Thrips are a primary pest of blackberry (*Rubus* sp.) cultivation in Mexico. The objective of this study was to know the thrips species associated with blackberry crop in Michoacán and Jalisco and the susceptibility of 13 field populations of *Frankliniella occidentalis* against the malathion, bifenthrin and spinosad three of the insecticides most commonly used in the production area. The identification was made by morphological and molecular techniques and the evaluation of resistance by bioassays with the leaf immersion method, the LC50 and CL95 were calculated by probit analysis. Molecular studies indicated that the main species associated with blackberry were *F. occidentalis*, *F. borinquen*. In addition, morphological identification added *F. toluensis*, *Retanathrips funestus*, *Tenothrips frici* and a new species of the genus *Frankliniella*. All the tested populations showed significant differences in sensitivity to bifenthrin, malathion and spinosad with the susceptible population (LC=95%) and showed resistance to the three insecticides. The proportions of resistance obtained in this study indicated reveals the existence of resistance of *F. occidentalis* to the three insecticides. It is suggested to establish Resistance Management plans in the context of IPM.

KEY WORDS: resistance, organophosphorus, spinosyns, pyrethroids, integral management of pests.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. JUSTIFICACIÓN.....	17
3. HIPÓTESIS.....	18
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo general.....	19
4.2. Objetivos específicos.....	19
5. REVISIÓN DE LITERATURA.....	20
5.1. El cultivo de Zarzamora en México.....	20
5.2. Biología de los Trips.....	21
5.2.1. Taxonomía.....	22
5.2.2. Ciclo de vida.....	23
5.3. Especies reportadas en <i>Rubus</i> sp.....	24
5.4. Hospederos.....	25
5.5. Identificación morfológica y molecular de los trips.....	26
5.5.1. Técnicas de identificación morfológica.....	26
Montaje y preparación.....	26
Claves taxonómicas.....	28
5.5.2. Técnicas de identificación molecular.....	28
Extracción de ADN.....	28
Genes a amplificar y primer específicos.....	29
5.6. Evaluación de la resistencia a insecticidas en insectos.....	31

5.6.1. Definición de resistencia.....	31
5.6.2. Factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia.....	31
5.6.3. Tipos de resistencia.....	32
5.6.4. Mecanismos de resistencia a insecticidas.....	34
5.6.5. Métodos de detección de resistencia.....	35
5.6.6. Insecticidas autorizados para el cultivo de zarzamora.....	36
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
6.1. Ubicación y áreas de muestreo de trips.....	38
6.2. Identificación de especies de trips asociadas zarzamora.....	38
6.2.1. Métodos de colecta y conservación de trips.....	38
6.2.2. Identificación morfológica.....	39
6.2.3. Identificación molecular.....	39
Extracción y cuantificación de ADN.....	39
Amplificación del ADN.....	41
Secuenciación y análisis filogenético.....	41
6.3. Evaluación de resistencia a insecticidas.....	42
6.3.1. Poblaciones de <i>F. occidentalis</i>	42
6.3.2. Cría de <i>F. occidentalis</i>	42
6.3.3. Intensidad de uso de insecticidas en las regiones de Michoacán y Jalisco.....	44
6.3.4. Insecticidas.....	45
6.3.5. Bioensayos.....	45
6.3.6. Análisis de datos de la evaluación de resistencia.....	46
7. RESULTADOS.....	47

7.1. Especies de trips asociadas a Zarzamora.....	47
7.2. Resistencia de <i>Frankliniella occidentalis</i> a spinosad, bifentrina y malation.....	54
8. DISCUSIÓN.....	60
9. CONCLUSIONES.....	70
10. ANEXOS.....	71
11. LITERATURA CITADA.....	73

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Insecticidas autorizados por Anaberries (2017) para el control de <i>F. occidentalis</i> en cultivos de zarzamora en México.....	24
Cuadro 2. Zonas de colecta de trips, en cultivo de zarzamora, para la identificación morfológica y molecular.	27
Cuadro 3. Origen de las poblaciones sometidas a evaluación de resistencia a insecticidas y sistemas de producción de zarzamora. 2016-2017.....	30
Cuadro 4. Concentraciones seleccionadas para evaluación de la resistencia en poblaciones de <i>F. occidentalis</i> provenientes de zarzamora (<i>Rubus</i> sp.) cultivada en Michoacán y Jalisco, México.....	34
Cuadro 5. Pendientes, concentraciones letales y proporciones de resistencia de las poblaciones de <i>F. occidentalis</i> tratadas con spinosad en 13 poblaciones provenientes de zonas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco, Mexico.....	44
Cuadro 6. Pendientes, concentraciones letales y proporciones de resistencia en las poblaciones de <i>F. occidentalis</i> tratadas con malation en 13 poblaciones provenientes de zonas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco, Mexico.....	45
Cuadro 7. Pendientes, concentraciones letales y proporciones de resistencia en las poblaciones de <i>F. occidentalis</i> tratadas con bifentrina en 13 poblaciones provenientes de zonas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco, Mexico.....	46

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Método de Espinosa *et al.* (2002) para cría masiva de *F. occidentalis*. A y B) vainas de frijol en proceso de desinfección, C) recipientes de cría y D) cámara bioclimática.31
- Figura 2.** Evaluación de resistencia de acuerdo al método propuesto por Bielza *et al.*, (2009). A) Secado en cámara de flujo laminar de las secciones de hoja de frijol impregnadas con los insecticidas, B) tubos eppendorf de 1.5 mL y D) Estereoscopio. ...34
- Figura 3.** A) Hembra adulta de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) colectado en el municipio de los Reyes de Salgado, Michoacán (8-10/2016) B) III y IV segmento antenal en forma de cono bifurcado, C) Pronoto, D) Tergitos IX y X.36
- Figura 4.** A) Hembra adulta de *Frankliniella borinquen* (Hood) Colectado en el municipio de Ziracuaretiro, Michoacán (23-09/2016). B) antena, pedicelo y segmentos IV – VIII, C) Tergitos IV y V, D) Tergito VIII D) Tergitos IX y X.....36
- Figura 5.** Productos de PCR, fotodocumentacion en gel de agarosa. Las muestras 17, 19 y 21 corresponden a individuos colectados en el municipio de Ziracuaretiro, las muestras 26 y 27 corresponden a individuos colectados en el municipio de los Reyes de Salgado y las muestras 51, 52, 58, 63, 67, 68 y 72 corresponden a muestras colectadas en el municipio de Tacámbaro. La muestra N hace referencia al control negativo. Las dobles barras que se observan en las muestras 17, 58, 63, 67, 68 y 72 obedecen a grandes cantidades de ADN.37
- Figura 6.** Árbol filogenético mediante el método *Neighbor joining* que muestra relación genética basada en secuencias de COI de tres especies de trips identificadas en cultivos de

zarzamora en Michoacán y Jalisco. Las letras corresponden al municipio donde se
 colectaron los individuos y el número a la muestra así: Z = Ziracuaretiro (24, 58, 8, 7, 6,
 1, 63, 24 y 4), T = Tacámbaro (16, 15, 14 y 19), R = Reyes de Salgado (12, 9 y 10) y M =
 Mazamitla (22, 23 y 21).40

Figura 7. Gráfica comparativa entre la CL95 de la población susceptible y CL95 de la
 población resistente para cada insecticida A) Z5 (spinosad), B) R2 (malation) y C) Z3
 (bifentrina).....43

1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de zarzamora (*Rubus* sp.) se considera como un cultivo no tradicional y relativamente nuevo en México, pero en la década de los 90's, se posicionó como un sistema productivo en auge y prometedor. Durante los últimos 10 años, México multiplicó 2.7 veces la producción de berries, siendo la zarzamora la segunda en importancia después de la fresa (*Fragaria* sp.) (SAGARPA, 2014).

Según el SIAP (2017), el cultivo de zarzamora cuenta con 12,433 hectáreas cultivadas, de las cuales el 93.5%; es decir 11,625 ha son cosechadas, con una producción total de 182,861 toneladas y un rendimiento promedio de 15.7 ton ha⁻¹, representando exportaciones de 5000 millones de pesos (mdp), siendo el estado de Michoacán el más representativo, el cual contribuye con el 96% de la producción nacional y el 98% del valor total generado, posicionándose como el principal productor y exportador de zarzamora del país, resaltando además que la región de Jalisco es líder en producción de arándano (*Vaccinium* sp.) y frambuesa (*Rubus idaeus*) y tiene una de las tasas de crecimiento más importante del país. Sin embargo la elevada concentración del cultivo de zarzamora en dichas regiones ha implicado un riesgo potencial, debido a la aparición de nuevos problemas fitosanitarios, y al crecimiento de plagas y enfermedades. Dentro de los principales problemas fitosanitarios se han documentado enfermedades como mildiu (*Peronospora sparsa* Berk.) (Boyzo-Marin *et al.*, 2015), moho gris, *Fusarium oxysporum* (Rebollar-Alviter *et al.*, 2016) y trips principalmente del género *Frankliniella* (Johansen-Naime *et al.*, 2003).

Entre estos problemas fitosanitarios sobresalen los trips, que son considerados una plaga cosmopolita identificada desde la década de los 90 en la región de California. De este grupo se han reportado más de 5000 especies pertenecientes al orden Thysanoptera, entre las cuales destaca el trips occidental de las flores *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera: Thripidae), por su distribución mundial, su capacidad de sobrevivir bajo condiciones muy cambiantes y por su alto potencial reproductivo (Mound, 2017). *Frankliniella occidentalis* ha sido reportado atacando más de 250 plantas cultivadas entre los que se destacan cultivos de cacahuete (*Arachis hypogaea*), zarzamora (*Rubus* sp.), fresa (*Fragaria* sp.), aguacate (*Persea americana*), hortalizas, flores, ornamentales, entre otros (Ripa *et al.*, 2008; Castresana *et al.*, 2008).

Plagas de este tipo se han manejado desde hace cerca de 50 años con aplicaciones de agroquímicos, como legado de la revolución verde, sin embargo, por causa del uso intensivo, varios de los insecticidas han perdido eficacia debido a que los insectos tienen la capacidad inherente de evolucionar, adaptarse y desarrollar resistencia para asegurar su supervivencia, situación que es muy común en zonas de cultivos intensivos (Cloyd y Cowles, 2011). Entre estos, los trips son una de las principales plagas que ha presentado resistencia a diferentes moléculas químicas, que hace algunos años eran eficaces en su control (IRAC, 2013). Se han reportado poblaciones de *F. occidentalis* resistentes a los grupos toxicológicos de los organoclorados, organofosforados, piretroides (Inmaraju *et al.*, 1992; Espinosa *et al.*, 2002), carbamatos (Bielza *et al.*, 2009) y spinosinas en gran variedad de cultivos hortícolas (Bielza *et al.*, 2007).

En poblaciones de *F. occidentalis* de cultivos hortícolas bajo invernadero en Almería se determinó que la resistencia ligada a spinosad es de tipo genética (Bielza *et al.*, 2007),

otras poblaciones colectadas en cultivos de rosas, claveles y crisantemos de San Diego California fueron resistentes a bifentrina, permetrina, metomilo, clorpirifos y abamectina con resistencia de tipo metabólica por aumento de las oxidasas de función múltiple (MFO) (Inmaraju *et al.*, 1992) y en poblaciones del sureste de España colectadas en pimiento dulce, tomate, lechuga, alcachofa, melón, pepino, clavel, habichuelas, durazno y ciruelo se evidenció resistencia a metamidofós, acrinatrina, endosulfán, deltametrina y formetanato (Espinosa *et al.*, 2002).

Los productores de zarzamora de los estados de Michoacán y Jalisco reportan fallas en el control por los insecticidas autorizados y pérdidas significativas de rendimiento y calidad a causa de los trips. Sin embargo, no se cuenta con estudios que evidencien la existencia de resistencia a insecticidas y las especies presentes en dichos cultivos. Estudios preliminares (no publicado) de la frecuencia de uso de insecticidas para el control de trips en Michoacán y Jalisco indicaron que el malatión, bifentrina y spinosad fueron los más usados. Dicha problemática probablemente se ve incrementada por la falta de conocimiento de las especies de trips que se asocian a este cultivo en las zonas productoras de estos estados.

Por lo anterior el objetivo de esta investigación fue identificar las especies de trips asociadas a cultivos comerciales de zarzamora en Michoacán y Jalisco y evaluar el estado de resistencia de la especie predominante a los insecticidas de mayor uso en las principales zonas productoras. Los resultados contribuirán al diseño de estrategias de manejo más efectivas que reduzcan los daños con una visión en el contexto del manejo integrado de plagas.

2 JUSTIFICACIÓN

Los sistemas agrícolas actuales se enfrentan a grandes retos derivados de diversos factores como el aumento en la demanda mundial de alimentos y los efectos adversos del cambio climático. En los sistemas intensivos de producción, se han presentado plagas y enfermedades cada vez más difíciles de combatir, debido a que generan resistencia a moléculas insecticidas que han sido usadas indiscriminadamente (Savary *et al.*, 2011; García-Méndez *et al.*, 2016). Por ello, se hace necesario implementar nuevas técnicas de control que permitan desarrollar estrategias de manejo capaces de hacer frente a las poblaciones de plagas cambiantes, partiendo del estudio y conocimiento del estado de resistencia a insecticidas. Rodríguez-Romero *et al.* (2011) consideraron la identificación de la plaga como la base para el desarrollo de un manejo integrado y García-Méndez *et al.* (2016) proponen los estudios de resistencia como una estrategia fundamental para elaborar dichos planes de manejo, puesto que conociendo el nivel de la susceptibilidad del blanco biológico a diferentes insecticidas, se pueden generar técnicas que combatan eficientemente la plaga. Estos estudios deben realizarse para cada zona específica teniendo en cuenta el historial del uso de insecticidas. Por ello, fue necesario identificar las especies de trips asociadas a cultivos de zarzamora en Michoacán y Jalisco y evaluar el estado de resistencia de la especie dominante a las moléculas insecticidas de mayor uso en la zona. Con dicho estudio se generó información relevante para los productores de la región respecto a las especies presentes en cada zona, el estado de la resistencia y contribuir al diseño de planes de manejo integrado de plagas basados en el manejo de la resistencia a insecticidas.

3 HIPÓTESIS

Ho1: *F. occidentalis* es la especie con mayor prevalencia en los cultivos de zarzamora en la regiones productoras de los estados de Michoacán y Jalisco.

Ho2: al menos una población de *F. occidentalis* presenta resistencia a una molécula insecticida evaluada.

4 OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- Identificar las especies de trips asociadas a cultivos comerciales de zarzamora en Michoacán y Jalisco y evaluar el estado de resistencia de la especie predominante a los insecticidas de mayor uso en la zona.

4.2. Objetivos Específicos

- Identificar taxonómica y molecularmente las diferentes especies de trips asociadas a cultivos de zarzamora en la región de Michoacán y Jalisco.
- Determinar el estado de resistencia en la especie de trips con mayor prevalencia en los cultivos de zarzamora frente a las moléculas insecticidas de mayor uso en las principales zonas productoras de los estados de Michoacán y Jalisco.

5 REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. El Cultivo de Zarzamora en México

La zarzamora pertenece al género *Rubus*, el cual comprende aproximadamente 700 especies; es una planta arbustiva espinosa, que alcanza alturas entre los 150 y 200 cm. Posee flores blancas o rosadas y frutos o polidrupas en forma de baya rojos, púrpuras o negros, se encuentra en forma de vida silvestre en grandes extensiones de las regiones templadas del mundo. El cultivo de zarzamora (*Rubus* sp.) se considera no tradicional y relativamente nuevo en México, se inició en Tetela de Volcán, Morelos en el año de 1985 (Pérez-Barraza y Vázquez-Valdivia, 2004); hacia la década de los 90 se posicionó como un sistema productivo en auge y en solo una década (de 1995 a 2006) alcanzó un crecimiento medio anual del 40% en su producción y del 170% referente a exportaciones (Sánchez, 2008).

Durante los últimos 10 años, la producción de berries se multiplicó 2.7, siendo la zarzamora la segunda en importancia después de la fresa; México se catalogó, para el año 2008, como el mayor exportador de zarzamora en fresco a nivel mundial. El mayor estado productor actualmente es Michoacán que representa el 96% de la producción nacional, actualmente la zarzamora cuenta con 12,433 hectáreas sembradas, con una producción total de 182,861 toneladas y un rendimiento promedio de 15.7 ton ha⁻¹ (SIAP, 2017).

La zarzamora ha logrado éxito comercial debido al mejoramiento genético de variedades y la producción de híbridos, sin embargo debido a la alta concentración del cultivo, en

zonas determinadas y por más de 10 años, se han presentado diferentes problemas fitosanitarios dentro de los cuales destacan los trips que se han convertido en limitantes para el cultivo (Albendin *et al.*, 2012; Aguirre *et al.*, 2013).

5.2. Biología de los trips

Los trips son insectos del orden Thysanoptera, el cual reúne cerca de 5000 especies. Se caracterizan por medir entre 1 y 5 mm. La mayoría de especies son tetrápteros con alas membranosas semejantes entre sí; sin embargo otras especies pueden ser ápteras o braquípteras (Triplehorn y Johnson, 2005). La cabeza es pequeña de tipo hipognato, con ojos compuestos, ocelos, antenas (moniliformes o filiformes) y aparato bucal raspador chupador (Capinera, 2001). Tienen la capacidad de reproducirse de forma anfigónica y por partenogénesis. Las hembras son de mayor tamaño y se caracterizan por tener el abdomen ovalado, la oviposición la realizan insertando los huevos en el interior de tejidos vegetales o sobre éstos (Triplehorn *et al.*, 2005). La mayoría son de hábitos fitófagos, sin embargo existen especies fungívoras, zoófagas y depredadoras (Mannion *et al.*, 2001). La metamorfosis es intermedia o neometábola: presentando huevo, larva (estado 1 y 2), ninfa (estado 1 y 2) y adulto.

Los trips son considerados una plaga de importancia económica debido a su corto ciclo de vida, el alto potencial reproductivo, el gran número de hospederos, alta movilidad facilitada por las corrientes de aire que permite su rápida distribución (Johansen-Naime *et al.*, 2003; Triplehorn *et al.*, 2005; Albendin *et al.*, 2012) y la capacidad de transmitir virus como el de la marchitez manchada del tomate (TSWV) en cultivos como tomate y crisantemo (Margaria *et al.*, 2014).

Las especies fitófagas causan dos tipos de daños: directos (Broughton *et al.*, 2015) e indirectos (Margaria *et al.*, 2014). Los daños directos se producen como resultado de la alimentación de la plaga donde laceran y desgarran tejidos vegetales, afectando severamente la calidad de la fruta causando manchado, coloraciones plateadas, frutos agrietados, partidos, deformes e incluso pueden causar la caída de estos (Aguirre *et al.*, 2013). Los daños indirectos se producen por la entrada de patógenos a través de las heridas (Ripa *et al.*, 2008), principalmente del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) (Margaria *et al.*, 2014).

5.2.1. Taxonomía

El orden Thysanoptera (Haliday, 1836) pertenece al reino Animalia, Phylum Arthropoda, Clase Insecta, Subclase Pterygota, Superorden Exopterygota. El orden Thysanoptera posee dos sub-ordenes: Terebrantia y Tubulifera. En el suborden Terebrantia se encuentran la mayoría de especies fitófagas y se clasifican aquellas especies donde la hembra presenta terebra, el abdomen es en forma cónica, mientras que en los machos es redondeado, las alas presentan microtriquias, las alas anteriores son paralelas con nervadura costal dispuestas en estado de reposo a lo largo del cuerpo (Mound, 2013).

En el suborden Tubulifera, la mayoría de especies son zoófagas y fungívoras, sin embargo algunas son fitófagas; la hembra no presenta terebra, el último segmento abdominal es tubular en ambos sexos, poseen alas anteriores sin microtriquias y sin nervadura costal (Mound, 2013).

Dentro del suborden Terebrantia se encuentran las familias Adiheterothripidae, Aeolothripidae, Fauriellidae, Hemithripidae, Heterothripidae, Karataothripidae,

Melanthripidae, Merothripidae, Thripidae, Triassothripidae y Uzelothripidae. Este suborden es el de mayor importancia económica debido a que se encuentra distribuido a nivel mundial e incluye cerca de 2400 especies; la familia Thripidae es la más numerosa con 2060 especies descritas, dentro de esta familia se encuentran los géneros *Frankliniella* que incluye 233 especies (Mound, 2007; Albendin *et al.*, 2012). La familia Thripidae a su vez se divide en cuatro subfamilias: Thripinae que contienen 225 géneros con 1700 especies dentro de las que destaca *Thrips tabaci* y *F. occidentalis*, la subfamilia Panchaethripinae cuenta con 35 géneros dentro de los cuales están 125 especies, de las que destacan *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché) y *Selenothrips rubrocinctus* (Giard), la subfamilias Dendrothripinae y Sericothripinae poseen 13 y 3 géneros, respectivamente (Torres-Vila *et al.*, 1998; Mound, 2007).

Dentro del suborden Tubulifera se encuentra la familia Phlaeothripidae, dividida en dos subfamilias: Phlaeothripinae e Idolothripinae, la subfamilia Phlaeothripinae cuenta con 370 géneros que incluyen a 2800 especies, aunque más de la mitad de especies presentan hábitos alimenticios fungívoros, algunas especies del genero *Liothrips*, *Haplothrips* y *Gynaikothrips* han sido reportadas asociadas a cultivos de aguacate, liliaceas y orchidaceas (Mound, 2007).

5.2.2. Ciclo de vida

Los trips tienen un ciclo de vida corto, entre 15 y 23 días, con condiciones ambientales favorables: temperaturas entre 13°C y 25°C (considerando que algunas especies toleran niveles máximos de 50°C y mínimos de 5°C), y humedad relativa del 60%, las hembras pueden vivir en promedio 45 días y los machos cerca de 60 días (Bustillo, 2009).

Los trips pasan por cuatro estadios: huevo, larva (L1 y L2), ninfa (proninfa y ninfa) y adulto, la mayoría de especies ovipositan dentro de los tejidos vegetales, sin embargo algunas especies poseen ovipositor débil y realizan las posturas en la superficie de la planta. El huevo puede ser oblongo, alargado u oval, de color blanquecino de 0.27 mm de longitud aproximadamente y eclosionan entre 3 y 4 días (Zhang *et al.*, 2007). El primer instar larval es de amarillo claro y hasta el segundo instar se logra diferenciar los sexos, poseen gran actividad alimenticia y movilidad, las ninfas ciclan en el suelo, tienen baja actividad alimenticia y poca movilidad, los adultos presentan coloración oscura, órganos desarrollados y las hembras son de mayor tamaño que los machos (Goldarazena, 2011).

Su reproducción puede ser de forma anfigónica o por partenogénesis de tres tipos: telitoca donde la especie se perpetúa por hembras no fecundadas, la partenogénesis arrenotoca (característico del género *F. occidentalis*) donde las hembras no fecundadas dan lugar a machos haploides y la partenogénesis deuterótoca que está influenciada por la temperatura, dándose origen a una nueva generación de machos si la temperatura es fresca y de hembras si son temperaturas altas (Nault *et al.*, 2006; Kummy Moritz, 2008).

5.3. Especies de trips documentadas en *Rubus* sp.

A nivel mundial, en el cultivo de zarzamora se han documentado principalmente especies de trips de los géneros *Frankliniella* y *Thrips* en países de sur, centro y norteamérica y en el oriente español (Johansen-Naime *et al.*, 2001; Ripa *et al.*, 2008). Liñán (1998) reportó las especies *Aeolothrips intermedius* Bagnal, *Drepanothrips reuteri* Uzel, *Frankliniella intonsa* Trybom, *F. occidentalis*, *Thrips angusticeps* Uzel, *Thrips meridionalis* Priesner, asociadas a cultivos de rosáceas.

En México se ha documentado con mayor frecuencia las especies *F. occidentalis* y *T. tabaci*, afectando cultivos de zarzamora y fresa (Johansen-Naime *et al.*, 2003; Ávila-Quezada *et al.*, 2005; Aguirre *et al.*, 2013). Sin embargo Johansen-Naime *et al.* (2001) indicaron que existen 54 especies de trips fitófagos identificadas en México, como plagas de importancia económica asociadas a frutales. Dentro de los principales géneros se encuentran *Frankliniella*, *Scirtothrips*, *Thrips* y *Bravothrips*, afectando cultivos de rosáceas, aunque no se especifica si en zarzamora. Otra especie documentada en México en cultivos de zarzamora silvestre fue *Neohydatothrips signifer* (Priesner) (Johansen-Naime *et al.*, 2001; Ripa *et al.*, 2008).

5.4. Hospederos

Las principales especies de trips reportadas en zarzamora pertenecen a los géneros *Frankliniella* y *Thrips* (Johansen-Naime *et al.*, 2001). Dentro de estos géneros destacan las especies *F. occidentalis* y *T. tabaci*. Sin embargo *F. occidentalis* es una especie altamente polífaga, de distribución cosmopolita que puede afectar a mas de 250 especies vegetales distribuidas en 65 familias que figuran como hospederos, dentro de las que destacan solanáceas como papa (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), rosáceas como durazno (*Prunus pérsica*), ciruelo (*Prunus domestica*), zarzamora (*Rubus* sp.), fresa (*Fragaria* sp.), caryophyllaceas como el clavel (*Dianthus caryophyllus*), asteráceas como el crisantemo (*Chrysanthemum* sp.), fabáceas como el frijol (*Phaseolus vulgaris*) y chícharo (*Pisum sativum*), cucurbitáceas como el melón (*Cucumis melo*), calabaza (*Cucurbita maxima*) y pepino (*Cucumis sativus*) malváceas dentro de las que destaca el algodón (*Gossypium* sp.), lauráceas como el aguacate (*Persea americana*), entre otras (CABI, 2017).

En Mexico *F. occidentalis* se ha documentado asociada a cultivos de aguacate, durazno (*Prunus persica*), rosas (*Rosa centifolia*), calabaza, crisantemo. Sin embargo para el caso específico de zarzamora silvestre se ha detectado a la especie *F. brunnescens* (Johansen-Naime *et al.*, 2001). Respecto a *T. tabaci*, también es una especie con distribución cosmopolita y además de encontrarse en zarzamora, se ha reportado asociada a cultivos de cebolla (*Allium cepa*), ajo (*Allium sativum*), puerro (*Allium ampeloprasum*), repollo (*Brassica oleracea*), frijol, tomate, pepino, espárragos (*Asparagus officinalis*), alfalfa (*Medicago sativa*), algodón y ornamentales (Alston y Drost, 2008).

5.5. Identificación morfológica y molecular de los trips

La identificación de trips normalmente se realiza mediante caracteres morfológicos; sin embargo, para mayor precisión se requiere reforzar esta identificación mediante técnicas moleculares ya que estas brindan mayor certeza en el diagnóstico, detección e identificación de especies; la identificación morfológica se ve limitada a los especímenes adultos, puesto que no existen claves taxonómicas adecuadas para identificación de otros estadios como huevo, larva o ninfa, mientras la identificación molecular permite utilizar cualquier estadio de la plaga.

5.5.1. Técnicas de identificación morfológica

Montaje y preparación

Para la identificación morfológica existen diversos protocolos que describen los procesos de colecta de individuos, preservación, montaje y preparación para revisión al microscopio. Mound y Kibby (1998) desarrollaron un protocolo aceptado a nivel mundial

en la identificación de plagas fitófagas del orden Thysanoptera. Este protocolo indica que se deben transferir los especímenes del líquido de conservación (alcohol al 75%) a etanol al 70%, usando alfileres entomológicos se debe desplegar las patas, alas y antenas. Cada espécimen se ubica con la parte ventral hacia arriba en una gota de Medio Hoyer sobre el centro de un portaobjetos y se cubre con el cubreobjetos. Posteriormente se debe introducir el portaobjeto a un horno de secado a 40°C durante 6 horas y por último se procede a hacer el estudio.

Echeverria-Flores *et al.* (2004) realizaron el proceso de identificación morfológica de trips en el cultivo de aguacate mediante separación de morfos de acuerdo a colecciones de referencia y recomendaron el envío de muestras a especialistas para corroboración.

El protocolo desarrollado por Johansen-Naime y Mojica-Gúzman (1997) es utilizado cuando se requiere identificar gran cantidad de especímenes, debido a la rapidez del método; el protocolo descrito consiste en someter a los especímenes en un proceso de deshidratación progresiva en alcoholes al 70, 80, 96 y 100%, donde se dejan en reposo por espacio de 10 minutos en cada concentración. Posteriormente, los insectos se transfieren a aceite de clavo por 5 minutos con el objetivo de ser aclarados y por último se montan de forma individual en una gota de bálsamo de Canadá sobre un portaobjetos, dejando secar los montajes a temperatura ambiente. Este procedimiento también es conocido como preparación rápida para estudio de identidad taxonómica y técnica permanente del bálsamo de Canadá (Lacasa *et al.*, 1988).

Claves taxonómicas

Las claves taxonómicas más utilizadas para identificación de trips son las de Lewis (1968), Johansen-Naime (1987), Mound *et al.* (1993), Soto y Retana (2003), Johansen-Naime y Mojica-Gúzman (2003) y Mound y Kibby (1998).

5.5.2. Técnicas de identificación molecular

La identificación molecular consiste en la aplicación de técnicas biotecnológicas para identificar organismos mediante estudio de su ADN (Herrera-Vásquez y Barba-Alvarado, 2013). Existen diversos protocolos específicos para identificar toda clase de organismos. Sin embargo, la mayoría obedece a técnicas de extracción de ADN, amplificación con PCR (reacción en cadena de la polimerasa), PLFR (polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción), electroforesis y secuenciación.

Extracción de ADN

La extracción de ADN puede realizarse de huevos, larvas, pupas o adultos, incluso de individuos incompletos, para la extracción de ADN los trips se maceran en un tampón de lisis en un microtubo (de 1.5 ml), utilizando un micromortero. El homogeneizado se recoge con un equipo de extracción de ADN a base de una proteinasa-K. Otro método consiste en moler el individuo 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 y agua libre de nucleasas, calentado a 95°C y centrifugado a 11.000 g durante 5 minutos. El sobrenadante se transfiere a un microtubo y se almacena a -20°C (Mound y Morris, 2007).

Genes a amplificar y primers específicos

Estudios de Toda y Komazaki (2002) describen el procedimiento de PCR - PLFR basado en la secuencia ITS2 para la identificación de nueve especies de trips (del género *Thrips* y *Frankliniella*). El método consiste de una PCR convencional donde se utilizaron primers localizados en las regiones 5.8 S y 28 S flanqueando la región ITS2 de ADN ribosomal, estos fueron: 5'-TGTGAACTGCAGGACACATGA-3' y 5'-GGTAATCTCACCTGAACTGAGGTC-3'. Para la mezcla de reacción se utilizaron 20 µl compuestos de: 1 µM de cada primer, 250 µM de dNTPs, 1 unidad de AmpliTaq Gold DNA polimerasa, 5,2 µl de tampón de reacción 10x (con 25 mM de MgCl₂) y 0,5 µl de ADN. La PCR se realizó en un termociclador convencional con las siguientes condiciones: 9 minutos a 95°C, 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 30 segundos a 50°C, y 1 minuto a 72°C, seguido de una extensión final de 7 minutos a 72°C y el proceso de enfriado fue a temperatura ambiente. Los productos de la PCR se analizaron por electroforesis en gel de agarosa al 20% donde se digirieron 5 µl de producto de la PCR sin purificación con la enzima RsaI.

Brunner *et al.* (2002) documenta el procedimiento mediante PCR-PLFR basado en la secuencia del citocromo oxidasa subunidad I (COI) para la identificación de 10 especies de trips. Los primers específicos empleados se encuentran localizados en la secuencia del gen mitocondrial COI, estos son: mtD-7.2F (5'-ATTAGGAGCHCCHGAYATAGCATT-3') y mtD9.2R (5'-CAGGCAAGATTAAAATATAAACTTCTG-3').

Estos primers amplifican un fragmento de 433 pb en todas las especies. Se empleó 50 µl de mezcla de reacción, compuestos de: 0,76 µM de cada primer, 200 µM de dNTPs, 1

unidad de Taq ADN polimerasa, 5 µl de tampón de reacción 10x (con 15 mM de MgCl₂), 1 µl de ADN. La PCR se realizó en un termociclador estándar con las siguientes condiciones: 1 min a 94°C, 40 ciclos de 15 Segundos a 94°C, 30 segundos a 55°C, y 45 segundos a 72°C, seguido de una extensión final de 10 minutos a 72°C y proceso de enfriado a temperatura ambiente. Posteriormente se analizaron 5 µl de producto de la PCR por electroforesis en gel de agarosa al 1.0-2.0% para medir el tamaño del fragmento producido después de la amplificación. Por último se digieren 5 µl de producto de la PCR sin purificación con las enzimas AluI y Sau3AI en reacciones separadas.

Los productos de la PCR digeridos se separan por electroforesis en gel de agarosa y posteriormente se realiza la secuenciación. La amplificación por PCR en tiempo real o PCR-PLFR también se realiza en una muestra sin ADN sirviendo como control negativo indicando una posible contaminación del reactivo y falsos positivos; con todos los métodos moleculares se debe usar controles apropiados, se debe incluir un extracto de las especies de trips de interés, positivo validado, como muestra adicional para asegurar que la amplificación tenga éxito (Brunner *et al.*, 2002). Para el orden Thysanoptera existen cuatro primers específicos: ITS1 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'), ITS2 (5'-TGTGAACTGCAGGACACATG-3') c, CS249 (5'- TCGTAACAAGGTTTCCG-3') y CS250 (5'-GTTRGTTTCTTTTCCTC-3') (Rodríguez-Romero *et al.* 2011). Las condiciones de PCR recomendadas para estos primers son: desnaturalización inicial a 95°C por 3 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 minuto, alineamiento a 54°C por 1 minuto, extensión a 72°C por 1 minuto y 45 segundos, por ultimo 1 ciclo de extensión prolongada a 72°C por 15 minutos, las electroforesis se realizaron en un gel de agarosa al 1% utilizando la solución amortiguadora TBE 1X (Rugman *et al.*, 2006).

5.6. Evaluación de la resistencia a insecticidas en insectos

5.6.1. Definición de resistencia

Según el Comité de acción de resistencia a Insecticidas (IRAC, 2017) la resistencia a insecticidas se define como “*un cambio heredable en la sensibilidad de una población de una plaga que se refleja en repetidos fallos de un producto para alcanzar los niveles de control esperados al ser usado de acuerdo con las recomendaciones de la etiqueta para esa plaga*”.

La resistencia se ha convertido en un limitante en la protección de cultivos, derivada del uso abusivo o mal uso de insecticidas en el control de una plaga, que conlleva a la selección de los individuos que poseen características fenotípicas de resistencia y a la evolución de la población (IRAC, 2017).

Todas las poblaciones se distribuyen de forma normal existiendo individuos altamente susceptibles, otros altamente resistente y la mayoría de la población se encuentra dentro de la media, debido a la variabilidad natural. Cuando se usa un insecticida de forma intensiva ya sea aumentando la dosis porque la anterior no ejercía el control esperado o aumentando la frecuencia de aplicaciones, se está ejerciendo una presión de selección que obliga a la evolución de la población (Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009).

5.6.2. Factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia

Los factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia se clasifican en tres tipos: genéticos, ecológicos o poblaciones y operacionales (Georghiou y Taylor, 1977). Dentro de los factores genéticos se encuentra la frecuencia de genes de resistencia, todas las

poblaciones tienen una cantidad de individuos resistentes que se encuentra entre el orden de 10^{-2} hasta 10^{-13} , la evolución de la resistencia depende en gran parte de la frecuencia inicial de dichos genes ya que entre mayor número de individuos resistentes existan en una población, la evolución de la resistencia será más rápida; la dominancia de los genes de resistencia es un factor genético que se puede ver favorecido por factores operacionales, debido a que cuando se utilizan dosis subletales se están seleccionando individuos homocigotos susceptibles (SS) y heterocigotos (RS) y por tanto la resistencia es funcionalmente dominante, mientras que cuando se aplican dosis letales se seleccionan individuos homocigotos resistentes (RR) y la resistencia es de tipo recesiva (Georghiou y Taylor, 1977; Després *et al.*, 2007).

En cuanto a los factores biológicos o poblacionales se hace referencia al potencial biótico de la plaga, entre mayor número de generaciones por año y mayor descendencia tenga dicha plaga la resistencia evoluciona más rápidamente. El ácaro de los frutales *Panonychus ulmi* presenta hasta 10 generaciones por año y ha desarrollado resistencia a diferentes insecticidas mientras que el ácaro *Bryobia rubrioculus* presenta dos generaciones por año y no se han documentado casos de resistencia, por último los factores operacionales son aquellos manipulados por el hombre y hacen referencia al uso de insecticidas, dosis, frecuencia, tipo de aplicación entre otros (Georghiou, 1981).

5.6.3. Tipos de resistencia

Los tipos de resistencia a insecticidas se clasifican en resistencia cruzada positiva, resistencia cruzada negativa y resistencia múltiple. La resistencia cruzada positiva hace referencia a la protección contra varios insecticidas debido a la expresión de un solo

mecanismo de resistencia. Por ejemplo, los organofosforados y carbamatos son dos grupos de insecticidas químicamente diferentes, sin embargo comparten el mismo mecanismo de resistencia (inhibición de la acetilcolinesterasa) y pueden presentar resistencia cruzada positiva (Mani, 1985). Una población de *Phenacoccus solenopsis* resistente a spinosad, la cual evidenció altos niveles de resistencia a spinetoram teniendo en cuenta que dicha población nunca estuvo expuesta a este último insecticida (Azfal y Shad, 2017).

La resistencia cruzada negativa hace referencia al fenómeno de que entre más resistente sea una población a determinado insecticida más susceptible es a otro, por ejemplo se reportó que la resistencia a organofosforados en mosquitos *Culex quinquefasciatus* aumentó la susceptibilidad a piretroides (Lagunes, 1980). En *F. occidentalis* se determinó que el pirimicarb, oxamil y propamocarb sirvieron como potenciadores contra poblaciones resistentes a acrinatrina cuando este se aplicaba en mezcla con dosis subletales de alguno de dichos carbamatos (Bielza *et al.*, 2009). Los mismos resultados se obtuvieron en el caso de spinosad en mezcla con tiametoxan como medida para combatir poblaciones de *F. occidentalis* resistentes a spinosad (Guillen y Bielza, 2012).

La resistencia múltiple se da cuando existe protección contra varios insecticidas debido a la coexistencia de varios mecanismos de resistencia seleccionados de manera independiente. Un individuo es resistente a diferentes clases de insecticidas que comparten diferentes modos de acción y diferentes enzimas que los metabolizan, debido a la presencia de múltiples mecanismos de resistencia. Por ejemplo, la catarinita de la papa *Leptinotarsa decemlineata* ha desarrollado resistencia a cerca de 38 insecticidas diferentes (Mota-Sánchez *et al.*, 2002).

5.6.4. Mecanismos de resistencia a insecticidas

Los mecanismos de resistencia hacen referencia a las estrategias que utilizan y desarrollan las plagas para tolerar el efecto de un insecticida y estas estrategias son de cuatro tipos: resistencia por comportamiento, resistencia por penetración reducida en el integumento, resistencia metabólica y resistencia genética (Miller, 1988).

La resistencia por comportamiento consiste en pautas de comportamiento modificadas en aquellos insectos resistentes que hacen que evaden las zonas contaminadas con insecticida y al no entrar en contacto con éste no mueren. El mecanismo por penetración reducida otorga niveles de resistencia muy bajos, y hace referencia a modificaciones y/o desarrollo de una cutícula más gruesa y cerosa que evita que el insecticida penetre en el cuerpo del insecto en suficiente cantidad como para causar su muerte (Bielza, 2013).

La resistencia metabólica es el mecanismo más universal y uno de los primeros en desarrollarse, éste se da cuanto se produce mayor cantidad de enzimas de detoxificación (Esterasas, P-450 monooxigenasas u oxidasas de función múltiple MFO y glutatión S-transferasas). Por ejemplo, los piretroides son metabolizados principalmente por MFO mientras que los organofosforados se ven afectados por las esterasas (Zhang *et al.*, 2008).

La resistencia genética confiere el nivel de resistencia más alto en una población, este tipo de resistencia hace referencia a una alteración o mutación genética en uno o más nucleótidos que codifican para la proteína responsable del efecto biológico. También llamada punto de acción la cual se vuelve inmune al efecto de dicho insecticida; esta resistencia es heredable y es muy difícil de revertir, sin embargo solo se presenta cuando

se hace uso de elevadas dosis y altas frecuencias de aplicación de un mismo insecticida o insecticidas que comparten el mismo MoA (Bielza, 2013).

5.6.5. Métodos de detección de resistencia

La detección temprana de la resistencia constituye una herramienta fundamental para la protección de cultivos, ésta se realiza en primera instancia mediante la determinación de la línea base de respuesta que es el rango natural de variación presente en una población sin que existan alelos de resistencia en un nivel detectable (Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009). La determinación de la línea base permite conocer los rangos normales de respuesta de una población a un insecticida para así poder monitorear y detectar a tiempo cambios potenciales en la susceptibilidad de la población y la frecuencia de aparición de genes de resistencia (Bernardi *et al.*, 2014).

La metodología para determinar la línea base de respuesta son los bioensayos donde se somete una población a diferentes concentraciones de un insecticida y se evalúa la mortalidad después de un tiempo establecido. Con base en esto se puede calcular la concentración que causa la mortalidad de determinado porcentaje de la población conocida como concentración letal (CL50, CL90, CL95) la cual sirve como punto de referencia para comparar diferentes poblaciones de campo y tomar medidas para el manejo de la resistencia a insecticidas (MRI) (Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009).

Existen diversas metodologías documentadas para la detección y evaluación de los niveles de resistencia. Para el caso de trips, las metodologías más usadas son por inmersión de un medio que sirve como alimentación para el insecto como vainas de frijol (IRAC, 2009) y hojas de frijol o pimiento (Bielza *et al.*, 2009).

Otra metodología usada es mediante ensayos tópicos donde se pone el insecticida en contacto directo con el integumento del insecto (Inmaraju *et al.*, 1992; Espinosa *et al.*, 2005; Bielza *et al.*, 2007). Para todos los bioensayos se recomiendan usar hembras adultas debido a su mayor tamaño, peso y esperanza de vida, ya que una dosis que sea capaz de matar una hembra podrá causar la mortalidad de los machos y el restante de la población (Bielza *et al.*, 2009).

5.6.6. Insecticidas autorizados para el cultivo de zarzamora

Los insecticidas autorizados por la Asociación Nacional de Exportadores de Berries (Aneberries) para control de *F. occidentalis* en zarzamora en México (Cuadro 1), se clasifican en cuatro grupos de acuerdo a su MoA: piretroides, neonicotinoides, spinosinas y organofosforados (IRAC, 2017). Además se cuenta con cuatro productos biorracionales.

Cuadro 1. Insecticidas autorizados por Anaberries (2017) para el control de *F. occidentalis* en cultivos de zarzamora en México.

Insecticida	Grupo químico	*IRAC	MoA	Nombre comercial
Esfenvalerato	Piretroide	3A	Modulador del canal de sodio	Sumialpha MX
Zeta-cipermetrina	Piretroide	3A	Modulador del canal de sodio	Mustang Max EW, Fury EW
Bifentrina	Piretroide	3A	Modulador del canal de sodio	Talstar 100 CE
Acetamiprid	Neonicotinoide	4A	Moduladores competitivos del receptor nicotínico de la acetilcolina	Rescate 20 PS, Mospilan 20 PS
Tiametoxam	Neonicotinoide	4A	Moduladores competitivos del receptor nicotínico de la acetilcolina	Unikum, Actara 25 GS, Actara
Spinosad	Spinosina	5	Modulador alostérico del receptor nicotínico de la acetilcolina	Entrust SC
Spinetoram	Spinosina	5	Modulador alostérico del receptor nicotínico de la acetilcolina	Exalt
Malation	Organofosforado	1B	Inhibidor de la acetilcolinesterasa	Luchation 1000-E, Malation 1000-CE, Fyfanon 1000-CE

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Ubicación y áreas de muestreo de Trips

El desarrollo de la investigación consistió de dos fases; la primera correspondió a la recolección de los individuos en los municipios de Ziracuaretiro, Los Reyes de Salgado y Tacámbaro, en el estado de Michoacán y en los municipios de Mazamitla, Jocotepec y Zacoalco de Torres, en el estado de Jalisco, en cultivos de zarzamora (Cuadro 2).

La segunda etapa correspondió a la evaluación de resistencia de diferentes poblaciones de *F. occidentalis* a los insecticidas malation, bifentrina y spinosad.

6.2. Identificación de especies de trips asociadas a zarzamora

6.2.1. Métodos de colecta y conservación

Para la colecta de los trips, se seleccionaron al azar 30 plantas de zarzamora en cada parcela muestreada (Cuadro 2). De estas plantas se cortaron 3 flores por planta y se depositaron en recipientes de plástico de 11 cm de diámetro por 17 de altura, provistos de cinco capas de papel absorbente en el fondo y tapa de rosca con un agujero de 6 cm de diámetro con tela organza para permitir la aireación.

El 50% de los ejemplares se conservaron en viales de 2 ml con alcohol al 75% para la identificación morfológica y el 50% restante se conservaron vivos en los recipientes de colecta para la identificación molecular. Cada muestra se etiquetó con sus respectivos datos de recolección.

6.2.2. Identificación morfológica

La identificación morfológica se realizó por parte del Dr. Jacinto Berzosa Duran de la Universidad Complutense de Madrid, España. Se enviaron cinco ejemplares adultos de cada sitio muestreado (Cuadro 2) de cultivos de zarzamora en tubos eppendorf de 1.5 mL con alcohol al 75%. Adicionalmente se enviaron ejemplares colectados en un cultivo de arándano en el municipio de Mazamitla. Un 5% de los individuos se conservaron y se montaron de acuerdo con el protocolo de Johansen-Naime y Mojica-Gúzman (1997) para corroboración de la identificación. Las preparaciones fueron revisadas por el Dr. Francisco José Avendaño (Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Facultad de Agrobiología, Morelia Michoacán, México) siguiendo las claves taxonómicas de Johansen-Naime (1987) y Johansen-Naime y Mojica-Gúzman (2003).

6.2.3. Identificación molecular

Extracción y cuantificación de ADN

La identificación molecular se realizó en el Laboratorio de Genética de Semillas del Colegio de Posgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México. La extracción de ADN se realizó de acuerdo al protocolo propuesto por Doyle (1991) mediante el método CTAB 2% y acetato de sodio con algunas modificaciones: por cada muestra se procesó solamente un individuo para evitar tener mezcla de especies, se utilizaron tubos para maceración de 2 ml debido al tamaño de los trips. Para los lavados con isopropanol se utilizaron tubos de 1.5 ml debido a los bajos volúmenes que se manejaron. Para la suspensión de la pastilla de ADN en HPLC se usaron 20 µl debido al tamaño de esta. La cuantificación de ADN se realizó en un NanoDrop 200 Thermo Scientific R MA (Wilmington, Delaware USA).

Cuadro 2. Zonas de colecta de trips, en cultivo de zarzamora, para la identificación morfológica y molecular.

Municipio	Ubicación	Fecha de colecta
Ziracuaretiro	19.686356 N – 101.237611 W	Septiembre 2016
	19.421750 N – 101.928456 W	Septiembre 2016
	19.422244 N – 101.928658 W	Septiembre 2016
	19.421643 N – 101.923072 W	Septiembre 2016
	19.337309 N – 101.904036 W	Septiembre 2016
	19.349755 N – 101.928753 W	Septiembre 2016
	19.385355 N – 101.917974 W	Septiembre 2016
Los Reyes de	19.546267 N – 102.410477 W	Octubre 2016
Salgado	19.575181 N – 102.462801 W	Octubre 2016
	19.557960 N – 102.509841 W	Octubre 2016
	19.613603 N – 102.488224 W	Octubre 2016
	19.653716 N – 102.457993 W	Octubre 2016
Tacámbaro	19.226306 N – 101.480483 W	Noviembre 2016
	19.222212 N – 101.522260 W	Noviembre 2016
	19.217533 N – 101.475304 W	Noviembre 2016
	19.208585 N – 101.446778 W	Noviembre 2016
	19.209575 N – 101.445288 W	Noviembre 2016
	19.209797 N – 101.450205 W	Noviembre 2016
	19.212891 N – 101.447591 W	Noviembre 2016
Mazamitla	19.570060 N – 103.042621 W	Febrero 2017
	19.925054 N – 103.064569 W	Febrero 2017
Jocotepec	20.337366 N – 103.484107 W	Octubre 2017
Zacoalco	20.220336 N – 103.543769 W	Octubre 2017

Amplificación del ADN

Se amplificó el gen citocromo oxidasa I (COI) , utilizando los primers LCO y HCO (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG – 3', 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA - 3') (Folmer *et al.*, 1994), los cuales permitieron la amplificación de un fragmento de 658 pb mediante PCR convencional en un Termociclador C1000 Touch TM BioRad Foster (California, USA) con las siguientes condiciones térmicas: desnaturalización inicial a 94°C por 1:00 min, seguida por 5 ciclos de 94°C por 30 s, 45°C por 1:30 min, 72°C por 1:00 min, 35 ciclos de 94°C por 30 s, 57°C por 1:30 min, 72°C por 1:00 min y extensión final de 72°C por 5:00. Los productos de PCR tuvieron un volumen final de 15 µL y se conservaron a 4°C hasta realizar la electroforesis en gel de agarosa al 1% para determinar el tamaño del fragmento y revelado en un fotodocumentador (Infinity-3026/WL/LC/26MX, ICT, S.L. Barcelona, España).

Secuenciación y análisis filogenético

Los productos de PCR se purificaron y limpiaron con exosap (Affymetrix, DNA Link, Inc., CA, USA) y se secuenciaron en el Laboratorio de Genética de Semillas del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, en un secuenciador 3130 DNA Analyzer de 4 capilares (Applied Biosystems CA, USA). Las secuencias se analizaron con el software BioEdit v.7.0.1. y se compararon con las depositadas en la plataforma BLAST (Altschul *et al.*, 1997), Instrumento de Búsqueda de Alineamientos Locales Básicos de la base de datos del Centro Nacional para la información Biotecnológica (NCBI). El análisis filogenético se realizó con el software MEGA 7, utilizando el método “*neighbor joining*” con corrección de Poisson (Saitou y Nei, 1987).

6.3. Evaluación de resistencia a insecticidas

6.3.1. Poblaciones de *F. occidentalis*

Se recolectaron 13 poblaciones de campo de *F. occidentalis* provenientes de cultivos de zarzamora en etapa de floración (Cuadro 3) en los meses de febrero, abril y octubre de 2017, bajo sistema de producción convencional en los municipios de Ziracuaretiro, Los Reyes de Salgado, Michoacán y Mazamitla, Jocotepec y Zacoalco de Torres, Jalisco. Asimismo, se incluyó una población colectada en un cultivo de zarzamora bajo producción orgánica, en el municipio de Mazamitla, Jalisco (M2).

La población susceptible se obtuvo de un cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) del invernadero de Toxicología del Colegio de Posgraduados Campus Montecillo Texcoco Estado de México, la cual ha estado libre de aplicaciones de plaguicidas por 10 años. Se seleccionó la especie *F. occidentalis* para los ensayos de resistencia debido a que fue la de mayor frecuencia en la zona de estudio (82.4%).

6.3.2. Cría de *F. occidentalis*

Los insectos de campo se trasladaron al laboratorio donde se sacudieron de las flores sobre un papel blanco y se transfirieron a los recipientes de cría con un aspirador bucal. Para la cría masiva de *F. occidentalis* se utilizó el protocolo propuesto por Espinosa *et al.* (2002) con algunas modificaciones que consistieron en utilizar envases de plástico similares a los que se implementaron en la colecta, de 11 cm de diámetro por 17 cm de altura, provistos de cinco capas de papel absorbente y una esponja de poliuretano en el fondo que actuó como refugio para las ninfas de los insectos.

Cuadro 3. Origen de las poblaciones sometidas a evaluación de resistencia a insecticidas y sistemas de producción de zarzamora. 2016-2017

Población	Municipio de colecta	Ubicación	Producción
Z1	Ziracuaretiro	19.686356 N - 101.237611 W	Convencional
Z2	Ziracuaretiro	19.422244 N - 101.928658 W	Convencional
Z3	Ziracuaretiro	19.421643 N - 101.923072 W	Convencional
Z4	Ziracuaretiro	19.349755 N - 101.928753 W	Convencional
Z5	Ziracuaretiro	19.385355 N - 101.917974 W	Convencional
R1	Los Reyes de Salgado	19.575181 N - 102.462801 W	Convencional
R2	Los Reyes de Salgado	19.613603 N - 102.488224 W	Convencional
R3	Los Reyes de Salgado	19.365502 N - 102.295200 W	Convencional
R4	Los Reyes de Salgado	19.363253 N - 102.295210 W	Convencional
M1	Mazamitla	19.570062 N - 103.042621 W	Convencional
M2	Mazamitla	19.925054 N - 103.064561 W	Orgánica
J1	Jocotepec	20.337366 N – 103.484107 W	Convencional
ZT1	Zacoalco de Torres	20.220336 N – 103.543769 W	Convencional
SUSC	Texcoco de Mora	19.464170 N – 98.908634 W	Convencional

Los recipientes de cría contaron con tapas de rocas con una abertura de 6 cm de diámetro con tela organza para permitir la aireación y evitar el exceso de humedad. Como fuente de alimentación se utilizaron vainas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% durante cinco minutos y remojadas en una solución de agarosa al 5% para hacerlas más apetecibles a los insectos. Las vainas se dejaron secar a temperatura ambiente antes de ser depositadas en los recipientes de cría.

Después de un periodo de cinco días, las vainas ovipositadas se retiraron y se transfirieron a recipientes con las mismas condiciones y se mantuvieron en cámaras bioclimáticas (MOD TFFU2065FWA Thermo Scientific™ Precision™, Asheville, USA) a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa del $50 \pm 5\%$ y fotoperiodo de 12:12 h (Luz: oscuridad) hasta la emergencia de los adultos (Figura 1). Las vainas de frijol se renovaron cada vez que fue necesario.



Figura 1. Método de Espinosa *et al.* (2002) para cría masiva de *F. occidentalis*. A y B) vainas de frijol en proceso de desinfección, C) recipientes de cría y D) cámara bioclimática.

6.3.3. Intensidad de uso de insecticidas en las regiones de Michoacán y Jalisco

Con base en estudios previos de diagnóstico de la resistencia (Rebollar-Alviter no publicado) se encontró que los trips estuvieron entre las principales plagas que afectan los cultivos de zarzamora en Michoacán y que los tres grupos insecticidas de mayor uso para el control de trips en los años 2012 y 2013 fueron las spinosinas, organofosforados y

piretroides. Dentro de las spinosinas, el spinosad fue el producto más usado, seguido por malation dentro del grupo de organofosforados y bifentrina dentro de los piretroides.

6.3.4. Insecticidas

Se emplearon formulaciones comerciales de malation 520 g kg⁻¹ CE (Lucathion®; Química Lucava SA de CV, Celaya, Guanajuato México), bifentrina 100 g kg⁻¹ CE (Talstar®; FMC Agroquímica de México S. de R.L. de C.V., Zapopan, Jalisco, México) y spinosad 120 g kg⁻¹ SC (SpinTor®; Dow AgroSciences, Tetla, Tlaxcala, México).

Los insecticidas fueron seleccionados con base en la frecuencia de uso en la zona de estudio, según los resultados obtenidos del estudio previo de frecuencia de uso de insecticidas en el cultivo (Rebollar-Alviter no publicado).

En primera instancia se calculó la ventana de respuesta biológica que corresponde al rango de dosis decrecientes logarítmicamente que causan entre el 0 y 100% de mortalidad de la población de referencia (1000, 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0 mg.L⁻¹), con ello se definieron las concentraciones a evaluar de cada uno de los insecticidas (Cuadro 4).

6.3.5. Bioensayos

Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Toxicología Agrícola del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo Texcoco Edo de México.

La técnica de inmersión de hoja se usó para evaluar la resistencia a insecticidas en trips hembras adultos (Figura 2) (Bielza *et al.*, 2009). Se utilizaron tubos eppendorf de 1.5 mL en los cuales se introdujo una sección de hoja de frijol (30 x 5 mm) del tercio medio de plantas de 45 días variedad flor de mayo, las cuales se sumergieron previamente durante

10 s en la solución insecticida y posteriormente se dejaron secar por 15 minutos en cámara de flujo laminar. En cada tubo se depositaron 15 trips adultos de la F1 con un aspirador bucal. Se usaron tres repeticiones por dosis ($n = 15$) y ocho dosis por tratamiento más un testigo (Cuadro 4). Para el testigo, las hojas se sumergieron en agua destilada. Los tubos se cerraron con papel parafilm y se mantuvieron en posición vertical en cámara bioclimática en condiciones de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa del $50 \pm 5\%$ y fotoperiodo de 12:12 h (Luz: oscuridad).

La mortalidad se evaluó 24 horas después de la aplicación de los tratamientos y los insectos que no presentaron movimiento se consideraron muertos. Cada ensayo se repitió dos veces.

6.3.6. Análisis de datos de la evaluación de resistencia

Previo al análisis de datos, se corrigió la mortalidad observada en el testigo (Abbot, 1925), la cual no excedió más del 10%. Para el análisis de los datos se usó el Procedimiento Probit incluido en el software SAS ver 9.3 (Statistical Analysis System, Cary, NC USA).

Se estimaron las concentraciones letales 50 (CL50) y 95 (CL95), tomando los totales de las tres repeticiones de cada uno de los experimentos ($n = 90$). Las poblaciones se consideraron significativamente diferentes si sus límites fiduciales no se traslaparon con un nivel de confianza del 95% (Robertson y Preisler, 1992).

Para determinar las proporciones de resistencia 50 y 95 (RR50 y RR95), se dividió la CL50 y CL95 de cada una de las poblaciones de campo sobre la CL50 y CL95 de la población de referencia.

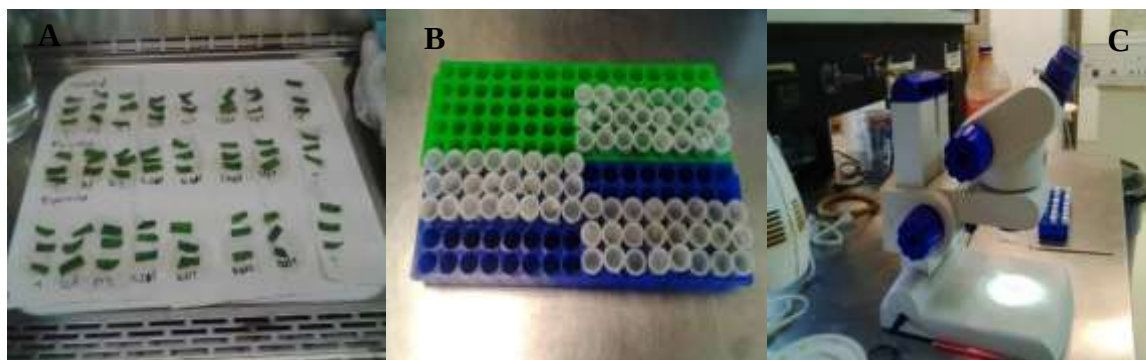


Figura 2. Evaluación de resistencia de acuerdo al método propuesto por Bielza et al., (2009). A) Secado en cámara de flujo laminar de las secciones de hoja de frijol impregnadas con los insecticidas, B) tubos eppendorf de 1.5 mL y D) Estereoscopio.

Cuadro 4. Concentraciones seleccionadas para evaluación de la resistencia en poblaciones de *F. occidentalis* provenientes de zarzamora (*Rubus* sp.) cultivada en Michoacán y Jalisco, México.

Spinosad (mg.L ⁻¹)	Malation (mg.L ⁻¹)	Bifentrina (mg.L ⁻¹)
100	1000	100
30	300	30
10	100	10
3	30	3
1	10	1
0.3	3	0.3
0.1	1	0.1
0.03	0.3	0.03
0	0	0

7. RESULTADOS

7.1. Especies de trips asociadas a zarzamora

Con base en los estudios morfológicos, reportados por el especialista, las muestras colectadas en la fecha 08 de octubre de 2016 en el municipio de Los Reyes de Salgado se identificaron tres especies de trips asociadas a cultivos de zarzamora: *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895, (Thysanoptera: Thripidae) (5 hembras) (Figura 3), *F. tolucensis* Watson, 1942 (Thysanoptera: Thripidae) (1 hembra) (en las parcelas 19.575181 N – 102.462801 W y 19.613603 N – 102.488224 W),) y *Retanathrips funestus* (en la parcela 19.546267 N – 102.410477 W) Hood, 1915 (Thysanoptera: Thripidae) (1 hembra). En el municipio de Tacámbaro de las muestras colectadas en la fecha 11 de noviembre de 2016 las especies encontradas fueron: *Tenothrips frici* Uzel, 1895 (Thysanoptera: Thripidae) (1 macho), *F. occidentalis* (3 hembras) (19.222212 N – 101.522160 W) y una nueva especie del género *Frankliniella* (1 macho) (19.226305 N – 101.480483 W).

En el estado de Jalisco en el municipio de Mazamitla en cultivos de zarzamora de las muestras colectadas el 16 de febrero de 2017 se encontraron las especies *F. occidentalis* (1 hembra) y *Tenothrips frici* (1 hembra) (19.57006 N – 103.04262 W) y en arándano (*Vaccinium* sp.) la especie *F. occidentalis* (2 hembras) (19.925054 N – 103.064569 W). Sin embargo, mediante el análisis molecular se encontró una especie mas: *F. borinquen* (Figura 4). Todas las especies identificadas morfológicamente corresponden a muestras colectadas en las mismas parcelas de las que se obtuvieron las especies para identificación molecular, a excepción de las parcelas donde se obtuvieron las especies de *F. borinquen*.

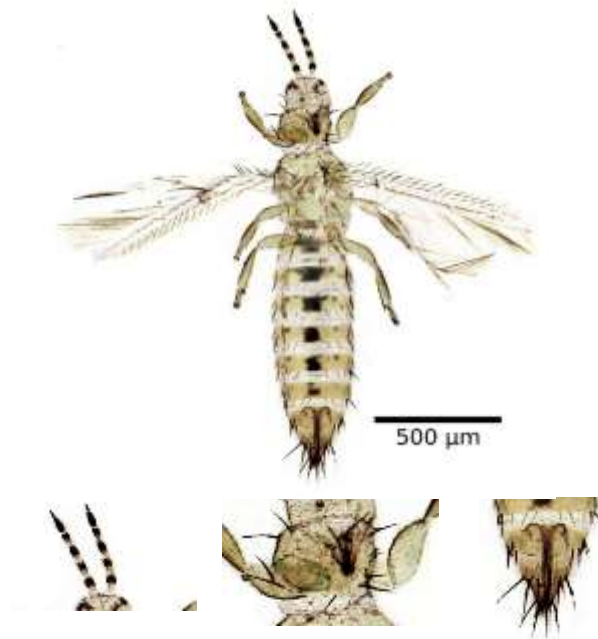


Figura 3. A) Hembra adulta de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) colectado en el municipio de los Reyes de Salgado, Michoacán (8-10/2016) B) III y IV segmento antenal en forma de cono bifurcado, C) Pronoto, D) Tergitos IX y X.

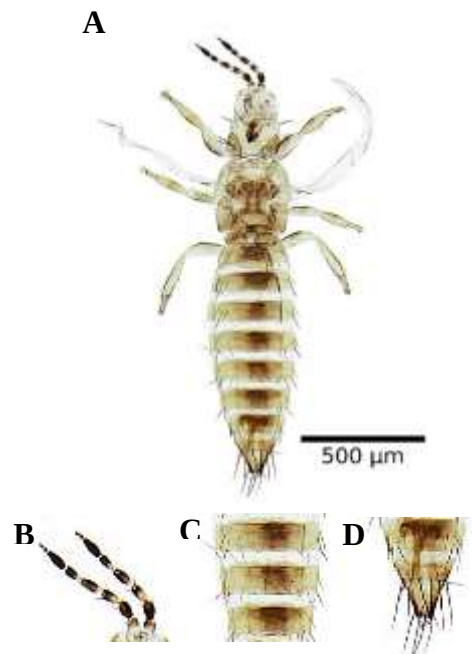


Figura 4. A) Hembra adulta de *Frankliniella borinquen* (Hood) Colectado en el municipio de Ziracuaretiro, Michoacán (23-09/2016). B) antena, pedicelo y segmentos IV – VIII, C) Tergitos IV y V, D) Tergito VIII D) Tergitos IX y X

Como resultados de la fotodocumentacion se observ' que se amplificaron fragmentos de cerca de 600 pb (Figura 5).

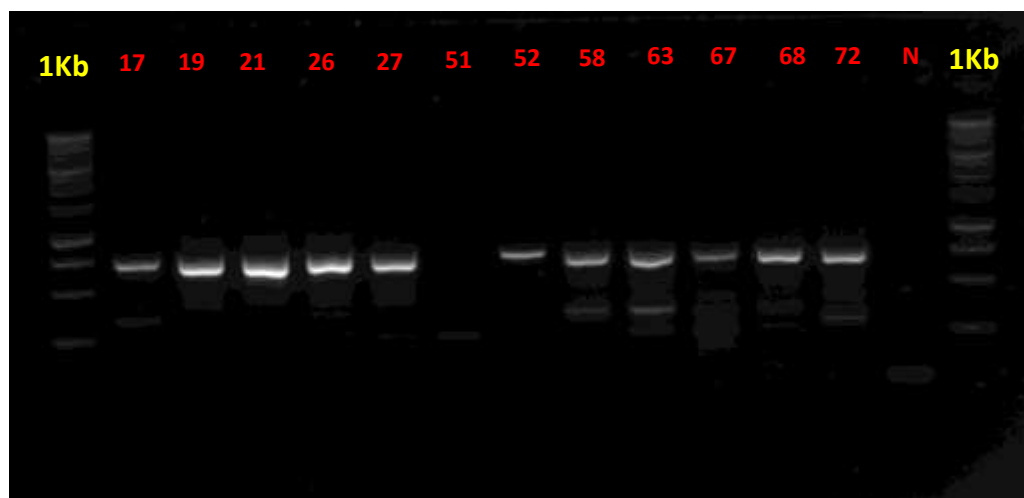


Figura 5. Productos de PCR, fotodocumentacion en gel de agarosa. Las muestras 17, 19 y 21 corresponden a individuos colectados en el municipio de Ziracuaretiro, las muestras 26 y 27 corresponden a individuos colectados en el municipio de los Reyes de Salgado y las muestras 51, 52, 58, 63, 67, 68 y 72 corresponden a muestras colectadas en el municipio de Tacámbaro. La muestra N hace referencia al control negativo. Las dobles barras que se observan en las muestras 17, 58, 63, 67, 68 y 72 obedecen a grandes cantidades de ADN.

La identificación basada en análisis molecular y filogenético (Figura 6) comparando las secuencias depositadas en el Genbank indicó la presencia de tres especies en todas las zonas de estudio: *F. occidentalis*, *F. borinquen* y *Frankliniela* spp. Para *F. occidentalis* se evidenciaron tres haplotipos (F-COI2, F-COI3 y F-COI9) en 14 de las 19 muestras tomadas distribuidas en 16 cultivos comerciales de zarzamora en las diferentes zonas de muestreo la distribución fue la siguiente: siete en el municipio de Ziracuaretiro (19.686356

N – 101.237611 W, 19.337309 N- 101.904036 W, 19.349755 N – 101.928753 W, 19.385355 N – 101.917974 W, 19.397276 N – 101.916708 W), tres en el municipio de Los Reyes de Salgado (19.546267 N – 102.410477 W, 19.575181 N – 102.462801 W, 19.613603 N – 102.488224 W), dos en Tacámbaro (19.222212 N – 101.522160 W) y dos en Mazamitla (19.57006 N – 103.04262 W), uno en un cultivo de arándano (19.925054 N – 103.064569 W).

Las secuencias presentaron identidad del 100% con las documentadas en aguacate en Michoacán. Además se encontró una especie no identificada mediante técnicas morfológicas la cual fue *F. borinquen* asociada a cultivos de zarzamora en dos zonas de Ziracuaretiro (19.422244 N – 101.928658 W, 19.421643 N – 101.933070 W) y una en Tacámbaro (19.209797 N – 101.450205 W). *Frankliniella* sp., se encontró en una zona de zarzamora en Tacámbaro (19.226305 N – 101.480483 W) y en una de Mazamitla (19.925054 N – 103.064569 W).

De acuerdo al análisis filogenético las especies de *F. occidentalis* se agruparon en tres clados. En el primer clado se encontraron secuencias de especies de los municipios de Ziracuaretiro (Z24, Z58, Z8, Z7, Z6, Z1, Z63), Tacambaro (T16, T15) y Los Reyes de Salgado (R12) con una identidad de 98%. En el segundo clado se agrupó una sola secuencia de *F. occidentalis* perteneciente al municipio de Ziracuaretiro (Z24) y en el tercer clado las especies agrupadas de *F. occidentalis* correspondieron a los municipios de Mazamitla, Jalisco (M22, M23) y Los Reyes de Salgado (R9, R10) y son las que presentan identidad del 100% con las secuencias de *F. occidentalis* reportadas en aguacate en el municipio de Periban (KR092419.1).

Las secuencias de *Frankliniella* sp., tanto de Mazamitla (M21) como de Tacámbaro (T14) se agruparon en un clado (5) con identidad de 98%. Por último las secuencias de *F. borinquen* de Ziracuaretiro (Z4, Z5) y Tacámbaro (T19) se agruparon en un clado (6) con 99% de identidad. La secuencia de *T. tabaci* se tomó como referencia (Figura 6).

Se infiere que estas agrupaciones se deben a la cercanía entre los sitios de colecta; por ejemplo, en el primer clado se agrupan especies de los tres municipios de Michoacán, en el segundo clado se agruparon secuencias de Los Reyes y Mazamitla que aunque no pertenecen al mismo estado, se encuentran geográficamente cerca (94 km de distancia).

Tomando en cuenta las diferentes zonas de muestreo, la frecuencia de *F. occidentalis* fue de 14 (82.4%), mientras que la de *F. borinquen* y *Frankliniella* spp., fue 3 (17.6%) y 2 (11.8%), respectivamente. De estas especies, la de mayor frecuencia y que se asoció a la deformación de frutos en zarzamora por falta de polinización fue *F. occidentalis*.

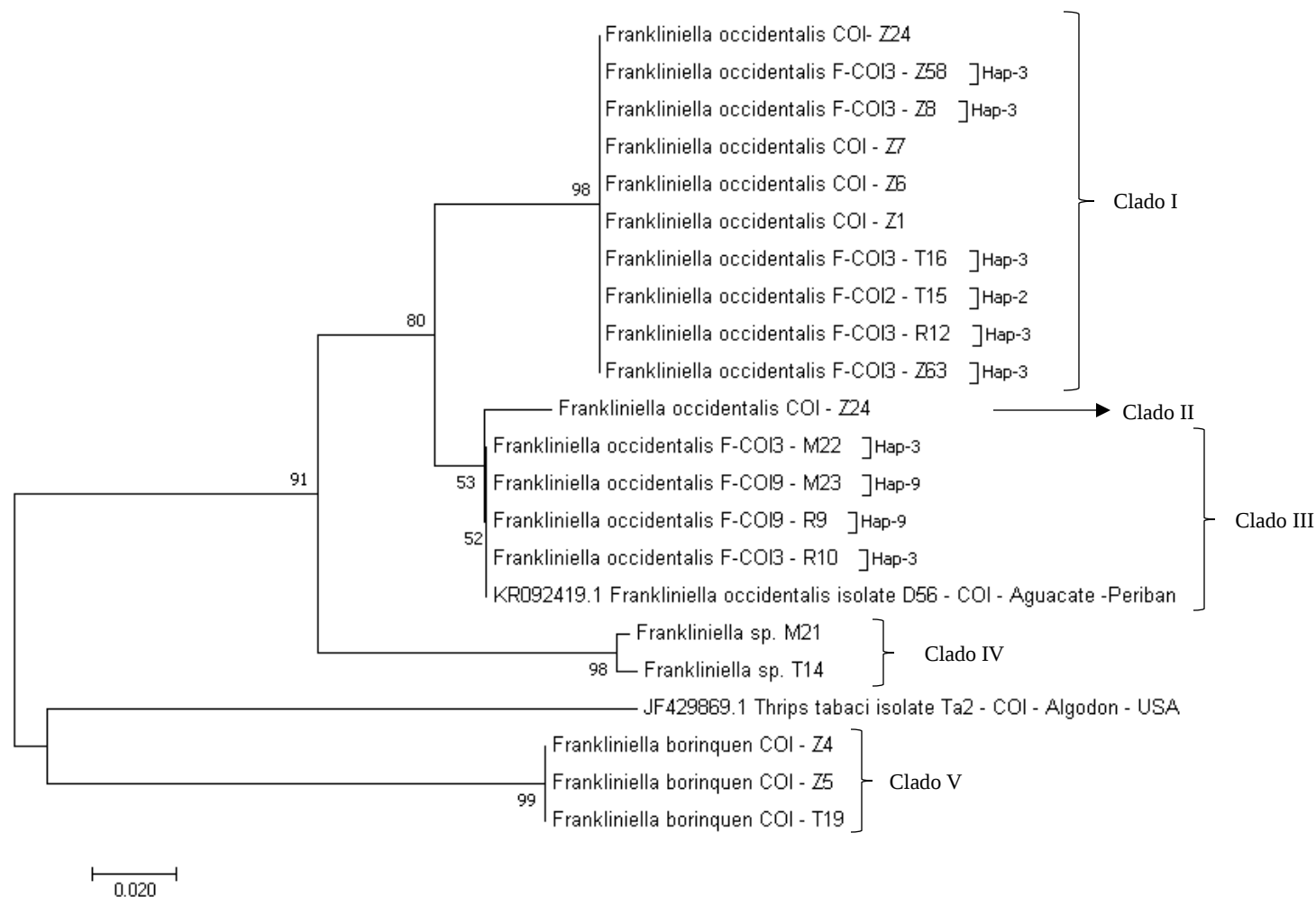


Figura 6. Árbol filogenético mediante el método *Neighbor joining* que muestra relación genética basada en secuencias de COI de tres especies de trips identificadas en cultivos de zarzamora en Michoacán y Jalisco. Las letras corresponden al municipio donde se colectaron los individuos y el número a la muestra así: Z = Ziracuaretiro (24, 58, 8, 7, 6, 1, 63, 24 y 4), T = Tacámbaro (16, 15, 14 y 19), R = Reyes de Salgado (12, 9 y 10) y M = Mazamitla (22, 23 y 21).

7.2. Resistencia de *Frankliniella occidentalis* a spinosad, bifentrina y malation

La estimación de la CL50 y CL95 indicó que la población de referencia mostró una alta susceptibilidad para los tres insecticidas evaluados, con valores de CL50 de 0.01, 0.11 y 0.0140 mg L⁻¹ y CL95 de 0.47, 4.73 y 0.39 mg L⁻¹ para spinosad, malation y bifentrina respectivamente (Figura 7).

Para el caso de spinosad existieron diferencias significativas (LC = 95%) en las CL50 estimadas entre 12 de las poblaciones de campo evaluadas y la población susceptible (Cuadro 5). La población M2 correspondiente a individuos colectados en el sistema de producción de zarzamora orgánica en Mazamitla Jalisco, no presentó diferencias significativas con la población susceptible con base en la separación de sus límites fiduciales (Cuadro 5). Para el municipio de Ziracuaretiro las poblaciones Z2 y Z5 presentaron los valores de CL50 más altos con 1.45 y 2.48 mg L⁻¹ y con del orden de 145 y 248 respectivamente. Para el caso del municipio de los Reyes de Salgado, R4 fue la población que presentó la CL50 más alta (1.20 mg L⁻¹), con RR50= 120. Los municipios de Jocotepec y Zacoalco de Torres presentaron las RR50 más bajas después de la población M2 con RR50 de 6 y 7 respectivamente.

A nivel de CL95, las poblaciones Z1 proveniente de Ziracuaretiro, Michoacán, y M2 de Mazamitla, Jalisco, no presentaron diferencias significativas con la población susceptible (LC = 95%), las RR95 estuvieron más bajas comparadas con las RR50 y en este caso las poblaciones Z5 y R3 fueron las que presentaron los valores más altos con RR95 iguales a 214 y 159 respectivamente (Cuadro 5).

Para el caso de malatión, todas las poblaciones evaluadas presentaron diferencias significativas con la población susceptible tanto a nivel de CL50 como de CL95 (LC = 95%). Los valores de CL50 estuvieron dentro del rango de 3.96 a 274.8 mg L⁻¹, con RR50 entre 36 para el caso de la población Z1 que fue la más baja y 2498 para la población R2 proveniente de Los Reyes de Salgado con el valor más alto (Cuadro 6). Respecto a las CL95 se obtuvieron valores entre 34.23 – 8640 mg L⁻¹ para las poblaciones Z1 y Z3, las dos pertenecientes al municipio de Ziracuaretiro, con RR95 de 7 y 1272 respectivamente (Cuadro 6).

Con relación a bifentrina la CL50 de la población susceptible fue de 0.014 mg L⁻¹ y las 13 poblaciones de campo evaluadas fueron significativamente diferentes a esta (LC=95%) basados en la separación de sus límites fiduciales (Cuadro 7). Las CL50 variaron entre 0.06 mg L⁻¹ para el caso de la población Z1 y 13.63 mg L⁻¹ para la población Z3 con RR50 de 4 y 974 respectivamente, también pertenecientes al municipio de Ziracuaretiro. Las dos poblaciones de Mazamitla, junto con la de Jocotepec y Zacoalco de Torres presentaron los valores más bajos de RR50 (11, 9, 6 y 9 respectivamente). En cuanto a las CL95, la población Z1 presentó el valor más bajo (0.93 mg L⁻¹) y la población Z3 presentó el valor más alto (711.16 mg L⁻¹) con RR95 de 2 y 1823, respectivamente, las dos provenientes de Ziracuaretiro (Cuadro 7).

Entre los tres insecticidas evaluados, los mayores niveles de resistencia se presentaron para malatión y de los dos estados, Michoacán fue el que presentó los mayores problemas de resistencia.

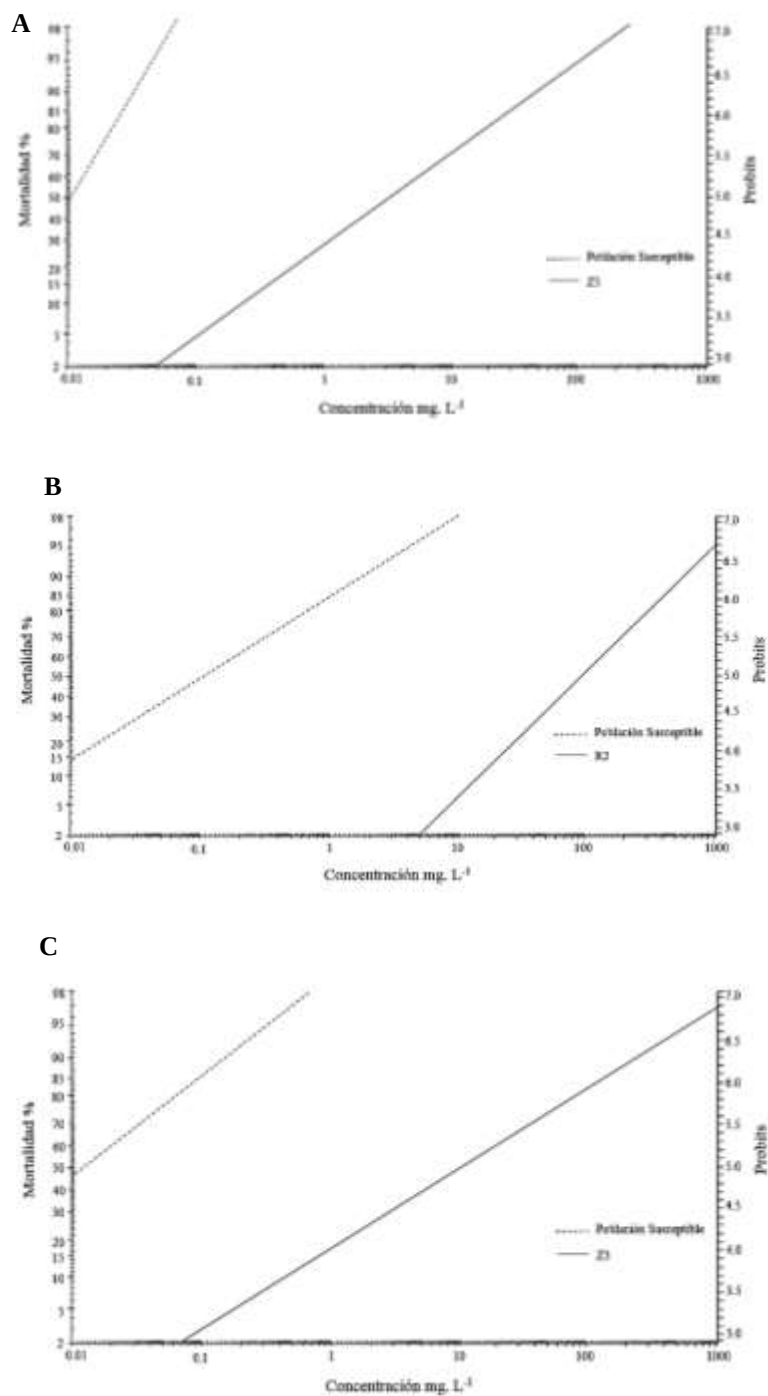


Figura 7. Gráfica comparativa entre la CL95 de la población susceptible y CL95 de la población resistente para cada insecticida A) Z5 (spinosad), B) R2 (malation) y C) Z3 (bifentrina)

Cuadro 5. Pendientes, concentraciones letales y proporciones de resistencia de las poblaciones de *F. occidentalis* tratadas con spinosad en 13 poblaciones provenientes de zonas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco, México.

Población	n	b ± EE	CL50 (95%LC)		CL95 (95%LC)		Pr > χ^2	RR50	RR95
Susceptible	786	0.99 ± 0.07	0.01	(0.01 – 0.02)	0.47	(0.30 – 0.82)	0.96	1	1
Z1	582	1.62 ± 0.16	0.08	(0.06 – 0.10)	0.82	(0.50 – 1.62)	0.81	8	2
Z2	568	1.34 ± 0.13	1.45	(1.08 – 1.92)	24.50	(14.70 – 51.23)	0.90	145	52
Z3	579	1.08 ± 0.12	0.68	(0.49 – 0.99)	22.33	(10.17 – 74.06)	0.93	68	48
Z4	585	0.96 ± 0.09	0.70	(0.50 – 0.98)	36.08	(17.63 – 99.87)	0.97	70	77
Z5	564	1.02 ± 0.09	2.48	(1.78 – 3.48)	100.42	(51.63 – 255.15)	0.92	248	214
R1	639	1.13 ± 0.12	0.28	(0.20 - 0.38)	7.85	(4.21 - 19.56)	0.85	28	17
R2	658	1.42 ± 0.17	0.74	(0.56 - 1.00)	10.47	(5.76 – 26.91)	0.65	74	22
R3	661	0.71 ± 0.10	0.37	(0.19 – 0.61)	74.76	(25.13 - 523.77)	0.97	37	159
R4	668	1.51 ± 0.13	1.20	(0.93 – 1.56)	14.62	(9.29 – 27.09)	0.94	120	31
M1	582	1.00 ± 0.09	0.28	(0.20 – 0.39)	11.94	(6.01 – 31.36)	0.94	28	25
M2	604	1.07 ± 0.09	0.02	(0.01 – 0.03)	0.93	(0.53 - 2.04)	0.91	2	2
J1	533	1.29 ± 0.11	0.70	(0.53 – 0.93)	13.12	(7.84 – 26.37)	0.81	6	3
ZT1	556	1.04 ± 0.10	0.79	(0.55 – 1.09)	30.26	(16.60 – 70.52)	0.65	7	6

n = Número de individuos evaluados, b ± EE = pendiente, error estándar, CL50 y CL95 = Concentración letal que causa mortalidad del 50 y 95% de la población (mg L⁻¹), Pr > χ^2 = Probabilidad de que la línea log Dosis-Probit ajuste a una línea recta, RR50 y RR95 = proporciones de resistencia.

Cuadro 6. Pendientes, concentraciones letales y proporciones de resistencia en las poblaciones de *F. occidentalis* tratadas con malation en 13 poblaciones provenientes de zonas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco, México.

Población	n	b ± EE	CL50 (95%LC)		CL95 (95%LC)		Pr > χ^2	RR50	RR95
Susceptible	782	1.01 ± 0.07	0.11	(0.08 – 0.15)	4.73	(2.81 – 9.34)	0.96	1	1
Z1	587	1.76 ± 0.16	3.96	(3.15 – 5.00)	34.23	(23.01 – 58.81)	0.82	36	7
Z2	585	0.96 ± 0.09	71.69	(51.35 – 101.28)	3692	(1802 – 10201)	0.89	652	781
Z3	560	0.94 ± 0.09	158.47	(112.49 – 223.63)	8640	(4219 – 24035)	0.95	1441	1827
Z4	578	1.41 ± 0.11	216.22	(167.71 – 278.96)	3188	(2052 – 5707)	0.84	1966	674
Z5	592	1.31 ± 0.11	88.89	(66.92 – 116.21)	1596	(1014 – 2933)	0.94	808	337
R1	663	1.27 ± 0.11	96.93	(72.72 – 127.52)	1925	(1199 – 3632)	0.87	881	407
R2	674	1.23 ± 0.12	274.80	(204.46 – 365.49)	6015	(3492 – 13015)	0.96	2498	1272
R3	669	1.13 ± 0.12	96.60	(70.85 – 132.26)	2771	(1468 – 6977)	0.91	878	586
R4	676	1.25 ± 0.12	28.57	(21.44 – 37.89)	590.42	(341.57 – 1288)	0.77	260	125
M1	573	1.17 ± 0.11	30.01	(21.83 - 40.34)	768.42	(459.50 – 1549)	0.83	273	162
M2	591	1.03 ± 0.09	20.04	(14.67 – 27.58)	777.52	(411.21 – 1881)	0.82	182	164
J1	531	0.94 ± 0.10	21.32	(13.87 – 30.90)	1199	(615.85 – 3147)	0.75	194	253
ZT1	561	0.98 ± 0.12	21.72	(14.79 – 31.08)	1031	(481.03 - 3388)	0.73	197	218

Cuadro 7. Pendientes, concentraciones letales y proporciones de resistencia en las poblaciones de *F. occidentalis* tratadas con bifentrina en 13 poblaciones provenientes de zonas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco, México.

Población	n	b ± EE	CL50 (95%LC)		CL95 (95%LC)		Pr > χ^2	RR50	RR95
Susceptible	799	1.14 ± 0.07	0.014	(0.010 – 0.017)	0.39	(0.26 – 0.65)	0.71	1	1
Z1	582	1.37 ± 0.13	0.06	(0.04 – 0.08)	0.93	(0.58 – 1.80)	0.84	4	2
Z2	583	1.33 ± 0.13	7.53	(5.57 – 9.96)	129.70	(78.78 – 263.88)	0.83	538	333
Z3	615	0.95 ± 0.09	13.63	(9.62 – 19.15)	711.16	(357.52 – 1889)	0.84	974	1823
Z4	581	0.93 ± 0.09	2.07	(1.45 – 2.96)	123.62	(58.36 – 361.99)	0.88	148	317
Z5	583	1.00 ± 0.09	1.17	(0.83 – 1.61)	51.41	(27.42 – 123.99)	0.96	84	132
R1	672	1.04 ± 0.09	0.71	(0.51 – 0.97)	26.94	(14.28 – 64.79)	0.91	51	69
R2	680	1.27 ± 0.12	0.88	(0.66 – 1.17)	17.20	(10.17 – 36.02)	0.98	63	44
R3	670	1.23 ± 0.12	0.84	(0.63 – 1.12)	18.08	(10.40 – 39.74)	0.91	60	46
R4	669	1.17 ± 0.12	1.01	(0.75 – 1.37)	25.53	(14.02 – 60.33)	0.84	72	65
M1	589	1.07 ± 0.10	0.16	(0.11 – 0.21)	5.43	(2.95 – 12.61)	0.89	11	14
M2	599	1.25 ± 0.11	0.12	(0.09 – 0.16)	2.47	(1.52 – 4.75)	0.95	9	6
J1	522	1.45 ± 0.14	0.67	(0.50 – 0.89)	9.18	(5.75 – 17.66)	0.75	6	2
ZT1	535	1.07 ± 0.10	1.00	(0.71 – 1.39)	34.87	(19.22 – 80.21)	0.79	9	7

8. DISCUSIÓN

Los trips han sido una plaga de importancia económica en los últimos años para la región productora de zarzamora en los estados de Michoacán y Jalisco, México. Los resultados de la identificación morfológica indicaron la presencia de cinco especies, sobresaliendo; entre ellas; *F. occidentalis*, en las principales áreas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco. Los estudios moleculares y filogenéticos también coincidieron en la presencia de *F. occidentalis* como especie principal, pero no coincidieron en las demás especies determinadas con métodos morfológicos.

En el caso de los métodos moleculares se detectó la presencia de dos especies y una probable nueva especie. La presencia de haplotipos de *F. occidentalis* evidencia la posible variación genética en las poblaciones de esta especie en zarzamoras, que motiva su estudio desde el punto de vista morfológico y molecular a fin de corroborar si las especies determinadas morfológicamente, efectivamente son tal o corresponden a variaciones genéticas de una misma especie. Schutze *et al.*, (2015) documentaron resultados similares con diferentes especies del género *Bactrocera*, donde mediante técnicas de identificación morfológica lograron distinguir el complejo de *Bactrocera* en cuatro de las especies mas relevantes: *B. dorsalis*, *B. papayae*, *B. philippinensis* y *B. carambolae*; sin embargo, mediante técnicas de identificación molecular (análisis multi-locus) no encontraron diferenciación genética entre *B. dorsalis*, *B. papayae* y *B. philippinensis*, indicando que posiblemente estas tres especies representan una sola especie fenotípicamente plástica, indistinguible genéticamente y con la capacidad de distribuirse por todo el mundo.

Por el contrario, Hoddle *et al.*, (2008) obtuvieron resultados opuestos en la determinación de relaciones entre especies de tisanópteros del género *Scirtothrips* mediante técnicas morfológicas y moleculares. A nivel molecular determinaron que la especie *S. dorsalis* estaba compuesta por al menos tres especies separables identificables pero indistinguibles morfológicamente. Otro caso de ello se documentó en áfidos del género *Hyalopterus* donde mediante técnicas morfológicas se describieron dos especies (*H. pruni* y *H. amygdali*), pero mediante técnicas moleculares los datos proporcionaron fuerte evidencia de tres especies dentro de este género (Lozier *et al.*, 2008).

Lo anterior evidencia la necesidad de conciliar los métodos morfológicos y moleculares a través de la complementariedad de dichas técnicas para la definición de especies.

Ambas técnicas coincidieron en la presencia de *F. occidentalis*, siendo la principal especie causante de deformaciones y falta de calidad en los frutos de zarzamora. El trips occidental de las flores, es una de las plagas más importantes de los cultivos, al atacar más de 250 especies (CABI, 2017). En zarzamora las pérdidas en campo pueden superar el 70% si no se realizan acciones de control efectivas (Rebollar-Alviter, comunicación personal).

Tanto *F. occidentalis* como las demás especies detectadas en este estudio, constituyen el primer reporte en México en zarzamoras cultivadas. *F. occidentalis* ha sido ampliamente reportada en otros cultivos en México, entre los cuales sobresalen durazno, rosas, calabaza, crisantemo y cabe destacar que algunas de estas especies también se han reportado como plagas fitofagas asociadas a cultivos de aguacate (*Persea americana*) de Michoacán, en especial *F. occidentalis* (Johansen-Naime *et al.*, 2001).

La existencia de *F. borinquen*, es una especie fitófaga que ha sido previamente reportada en la cuenca del valle de México (Johansen-Naime *et al.*, 2009) asociada a malezas como *Senecio praecox* aledañas a cultivos de *S. tuberosum* (Lot y Cano-Santana, 2009), *Tithonia diversifolia* aledaña a cultivos de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) (Ochoa-Martínez *et al.*, 1999; Goldarazena *et al.*, 2008) y en la zona del Soconusco Chiapas se reportó asociada a cultivos de mango (*Mangifera indica*) (López-Guillen *et al.*, 2014). En Ziracuaretiro y Tacámbaro, Michoacán es común la presencia de *T. diversifolia* en las zonas productoras de zarzamora. Para cultivos de zarzamora de la Región de Michoacán y Jalisco este es el primer reporte de esta especie.

La especie *F. tolucensis* fue descrita por primera vez en plantas del género *Eryngium* a 3900 msnm en el volcán Nevado de Toluca de la ciudad de Toluca estado de México (Watson, 1942). Sin embargo, no ha sido documentada como plaga de cultivos, y en específico en *Rubus* sp., más estudios se requieren a fin de confirmar si efectivamente los ejemplares identificados por el especialista corresponden a esta especie, dadas las condiciones contrastantes del nevado de Toluca y Los Reyes, Michoacán.

R. funestus es una especie presente en Centroamérica y en países como Puerto Rico, México, Jamaica, Trinidad y Costa Rica (Mound y Marullo, 1996). *T. frici*, conocido como el trips mediterráneo del diente de león (*Taraxacum* sp.), ha sido asociado a plantas de la familia Asteraceae, particularmente a malezas como *Hypochaeris* sp., y *Centaurea* sp. Sin embargo, no se ha observado causando daños a cultivos, su distribución es mundial, pero habita principalmente en áreas templadas cálidas, ha sido reportado en países de África, Asia, Australia, Nueva Zelanda, Europa, Norte, Centro y Suramérica

(Mound y Marullo, 1996; Moritz *et al.*, 2001). No existen reportes previos que consignen a esta especie como plaga de importancia en *Rubus* sp.

Los resultados obtenidos en esta parte del estudio evidencian como la especie de trips plaga más importante a *F. occidentalis* usando métodos morfológicos y moleculares, incluyendo la presencia de haplotipos, lo que evidencia parcialmente un proceso de diversificación genética que requiere un estudio a mayor profundidad de la estructura genética de la población. Las especies identificadas solo con base en la morfología, deberán ser corroboradas por métodos moleculares en estudios posteriores.

Respecto a la evaluación de resistencia, los resultados indicaron que malation fue el insecticida que presentó los valores más altos de CL50, CL95 y RR, en especial en el municipio de Los Reyes de Salgado, Michoacán, seguido de Ziracuaretiro. Es probable que al ser uno de los insecticidas más utilizados, la presión de selección haya sido mayor, pues en estas zonas de producción de zarzamora, dicho insecticida se usa desde hace más de 25 años. Resultados similares se encontraron en poblaciones de *F. occidentalis* colectadas en cultivos de manzana, chile, algodón, lechuga, durazno, clavel, fresa y tomate en Australia, donde evidenciaron niveles medios (1.8) a altos (2.8) de resistencia a malation debido a que este fue uno de los productos autorizados para el control de dicha plaga y uno de los de mayor historial de uso (Herron y James, 2005).

Por otro lado, Dagh y Tung (2007) documentan la existencia de diferentes poblaciones de *F. occidentalis* que no mostraron resistencia al malatión, a pesar de la intensidad en las aplicaciones y el tiempo en el mercado. Los autores sugieren que posiblemente fue por las condiciones de la zona donde se colectaron, ya que los genes de resistencia se mantuvieron en una frecuencia baja por la alta tasa de inmigración de individuos susceptibles.

De los tres insecticidas evaluados, el spinosad fue la última molécula insecticida en ingresar al mercado, su comercialización a nivel mundial inicio en 1999 (Thompson *et al.*, 2000). Por su elevada eficacia en el control de trips, alta disponibilidad comercial del producto y costo accesible, este compuesto ha sido usado ampliamente en las zonas productoras de zarzamora de Michoacán y Jalisco, donde se llegaron a realizar hasta nueve aplicaciones por temporada de acuerdo a información obtenida de campo en el desarrollo de esta investigación. No tuvieron en cuenta las recomendaciones incorporadas en la etiqueta para manejo de la resistencia a insecticidas (MRI), donde se describe que el uso se debe limitar a un máximo de tres aplicaciones por ciclo de cultivo (Bielza *et al.*, 2007), dando como resultado poblaciones con altas RR50, por ejemplo Z5 con RR = 248.

Adicionalmente, el spinetoram, otra espinosina, es ampliamente usado en zarzamora para el control de la mosca del vinagre de las alas manchadas, *Drosophila suzukii* M. (Diptera: Drosophilidae), lo que incrementa aún más la presión de selección sobre los trips. En invernaderos de España donde se realizaron más de 10 aplicaciones de spinosad por ciclo de cultivo, similar al número de aplicaciones realizadas en Michoacán, se encontraron poblaciones con RR>13500 en Almería y RR>3682 en Murcia en dos años de uso del producto (Bielza *et al.*, 2007a). En poblaciones de Beijing China se documentaron proporciones de resistencia más bajas debido a la menor presión de selección, donde se obtuvieron RR de 35.38 y 80.8 en una población de laboratorio y campo respectivamente (Wang *et al.*, 2011).

Al respecto, se ha observado que la resistencia de *F. occidentalis* a spinosad está asociada a una modificación en el punto de acción (Espinosa *et al.*, 2002); es decir, es de tipo genético debido a la mutación G275E en el receptor nicotínico de la acetilcolina (nAChR)

donde ocurre el cambio de un nucleótido en la secuencia que codifica para la subunidad alfa 6 (F α 6) del nAChR, este cambio es el remplazo de una glicina (g) en insectos susceptibles, por ácido glutámico (E) en insectos resistentes (Puinenan *et al.*, 2013).

Asimismo, en otras plagas como *Bactrocera dorsalis* (Hendel) también se encontró que la insensibilidad en el sitio de acción es la responsable de la resistencia hacia spinosad y las alteraciones fueron detectadas en el mismo gen (subunidad B α 6 del nAChR). Las secuencias de individuos resistentes presentaron inserciones, deleciones y codones de parada prematuros modificando la secuencia de 1467 pb que codifican para el nAChR haciéndolo insensible al spinosad (Hsu *et al.*, 2012). Resultados similares se obtuvieron para *Plutella xylostella* (Linneo) en las secuencias del ADNc de la subunidad alfa 6 (Pxyl α 6) de individuos resistentes a spinosad, donde también se encontraron codones de paradas prematuros, mientras que en los individuos susceptibles no, por lo que se concluyó que las proteínas producidas a partir de estas transcripciones se vieron alteradas y no cumplieron la función de receptor (Rinkevich *et al.*, 2010).

Para el caso de bifentrina, los resultados indicaron que las RR50 variaron entre 4 y 974. Para poblaciones de *F. occidentalis* colectadas en invernaderos de San Diego y Santa Bárbara, California, se reportaron RR entre 70 - 106 y 142 – 275, respectivamente. Sin embargo, la RR50 más alta obtenida que se estimó en este estudio fue de 974 para la población Z3 colectada directamente de campo en el municipio de Ziracuaretiro. Las poblaciones de San Diego y Santa Bárbara, California, se sometieron a aplicaciones con sinergistas como butóxido de piperonilo (PBO) donde se evidenció que este sinergista sinergizó el efecto de bifentrina, causando mayor mortalidad de la plaga, indicando que las MFO fueron el mecanismo de resistencia. Aunque para bifentrina no se determinó el

tipo de resistencia, para permetrina -otro insecticida que comparte el mismo modo de acción, se concluyó que la resistencia asociada fue de tipo metabólica por aumento de la producción de MFO (Inmaraju *et al.*, 1992). En New South Wales y Queensland, Australia, se obtuvieron RR de 23 – 61, para poblaciones de campo. Sin embargo, el tipo de resistencia de *F. occidentalis* hacia bifentrina en este estudio tampoco se determinó (Thalavaisundaram *et al.*, 2008). La resistencia en *F. occidentalis* es autosómica no influenciada por efectos maternos (Zhang *et al.*, 2008) y se expresa como un rasgo recesivo, relacionado con un solo locus (Bielza *et al.*, 2007).

Desde el primer reporte de *D. suzukii* en noviembre del 2011 en México (García-Ávila *et al.*, 2016), las aplicaciones de piretroides (Por ejemplo zeta-cipermetrina y bifentrina) y spinosinas (spinetoram y spinosad), se han incrementado de manera alarmante, dado el riesgo que representa la presencia de esta plaga invasora en las áreas productoras de berries en México y esta situación aumenta la presión de selección sobre los trips.

Los productos autorizados para diferentes grupos de insectos pueden ejercer presión de selección sobre diversas poblaciones, aunque estas no sean la plaga objetivo (blanco), ya que la resistencia a un grupo de insecticidas también afecta a otro grupo cuando comparten mecanismos de resistencia. Por ejemplo, cuando se realiza una aplicación de zeta-cipermetrina para controlar *D. suzukii* también se está ejerciendo presión de selección sobre otras plagas como trips y ácaros, aunque estos no sean el blanco biológico. En poblaciones de *F. occidentalis* procedentes de Dinamarca, Kenia y Suiza resistentes al insecticida diclorvós se evidenció resistencia cruzada a metiocarb, teniendo en cuenta que este último insecticida no se aplicó nunca en el cultivo (Brodsgaar, 1994). En poblaciones de *Choristoneura rosaceana* colectadas en cultivos hortícolas de Washington que nunca

estuvieron expuestas a spinetoram se detectó resistencia cruzada a este insecticida por uso previo del spinosad (Sial *et al.*, 2010).

Los problemas de resistencia de *F. occidentalis* representan un obstáculo para el éxito de los sistemas productivos y el manejo de la plaga a largo plazo; por ello, se deben implementar planes de manejo de la resistencia a Insecticidas (MRI). Existen diferentes métodos de manejo de la resistencia dentro de los cuales destacan el manejo por moderación, saturación y ataque múltiple. El manejo de la resistencia por moderación hace referencia al uso de todas las técnicas disponibles que buscan mantener la población plaga por debajo del umbral de acción con el objetivo de reducir el número de aplicaciones de insecticidas. El manejo por saturación hace referencia al uso de elevadas dosis de insecticidas en espacios combinados, por ejemplo en cebos, trampas o aplicaciones con sinergistas. El manejo por ataque múltiple hace referencia al uso diversificado de insecticidas, es decir a aplicaciones rotacionales de acuerdo a los modos de acción (Georghiou, 1994).

Para el caso específico de Michoacán donde se presentaron los mayores problemas de resistencia, se plantea la posibilidad de integrar los tres tipos de manejo, iniciando con la suspensión temporal de los insecticidas que presentaron altas RR, rotar con otros insecticidas que presenten diferente modo de acción, como los neonicotinoides (Broughton y Herron, 2009) e integrar tácticas no químicas como el control físico, cultural, legal, biológico y genético.

En el caso de Jalisco se recomienda que los insecticidas se usen sólo cuando sean imprescindibles, seleccionándolos cuidadosamente basados en monitoreos previos y estableciendo umbrales de acción bien fundamentados (Zhao *et al.*, 2002).

Los insecticidas de reciente incorporación deben usarse bajo un programa de MRI con el objetivo de prolongar su efectividad y mantener la susceptibilidad de las poblaciones mediante monitoreo periódico, ya que es una herramienta valiosa para el éxito en el control de la plaga (Thalavaisundaram *et al.*, 2008). El éxito de programas de MRI se ha reportado en diversas plagas, como *Helicoverpa armigera* en cultivos de algodón en el Norte de la India (Aggarwal *et al.*, 2006).

Contra *F. occidentalis* se han reportado casos exitosos de MRI en cultivos de pepino en Estados Unidos (Reitz *et al.*, 2003) y en el sur de España (Sánchez *et al.*, 2000), donde las tácticas no químicas desempeñaron un papel fundamental y la rotación de insecticidas retrasó y revirtió el desarrollo de la resistencia, conservando altas frecuencia de genes susceptibles en las poblaciones. Para poblaciones de *F. occidentalis* resistentes a spinosad, acrinatrina, metiocarb y formetanato colectadas en cultivos de Murcia y Almería, España, se propuso al ciantraniliprol como una nueva herramienta valiosa para el control de trips basado en la rotación de insecticidas de acuerdo a los MoA (Bielza y Guillen, 2014).

ShengYin *et al.*, (2014) recomendaron el uso de inhibidores enzimáticos (sinergistas) para aumentar el efecto insecticida sobre poblaciones de *F. occidentalis* que evidenciaron resistencia de tipo metabólica. Broughton *et al.*, (2015) recomendaron el uso de trampas amarillas adhesivas con semioquímicos como parte del manejo integrado de *F. occidentalis* en cultivos bajo sistemas de invernadero. *F. occidentalis* es una plaga con

diferentes características que le dan una alta propensión a desarrollar resistencia a insecticidas, como alto potencial biótico, corto ciclo de vida y flexibilidad para habitar diferentes ambientes. Diferentes programas de manejo han sido exitosos, cuando se basan en tácticas no químicas, usando principalmente técnicas de control biológico y resistencia en la planta huésped (Gao *et al.*, 2012). El MRI es un componente importante del MIP, resaltando que cada vez existen mayores probabilidades de perder herramientas para su control y se crea la necesidad de establecer mejores estrategias y prácticas de manejo.

Este estudio representa el primer reporte de especies de trips asociadas a cultivos de zarzamora en la región productora de Michoacan y Jalisco, México. También representa el primer estudio sobre resistencia de 13 poblaciones de campo de *F. occidentalis* a tres de los insecticidas más usados en la zona y pertenecientes a diferentes grupos químicos de acuerdo a su clasificación por MoA del IRAC. Estos resultados brindarán las bases para ajustar las técnicas para el diseño de programas de manejo de la resistencia y de programas de manejo Integrado de trips en zonas productoras de zarzamora y futuros estudios sobre evaluación de estrategias de manejo integrado de trips bajo el escenario de resistencia.

9. CONCLUSIÓN

Mediante técnicas morfológicas y moleculares se identificaron las especies de trips asociadas a cultivos de zarzamora y arándano de Michoacán y Jalisco: Las especies encontradas fueron *F. occidentalis*, siendo esta la más frecuente (82.4%), seguida por *F. borinquen* (17.6%). Adicionalmente, los estudios morfológicos sugieren la presencia de *F. tolucensis*, *R. funestus*, *T. frici* y una especie no identificada del género *Frankliniella* (11.8%). Respecto a los estudios de resistencia se encontraron diferencias significativas en todas las poblaciones evaluadas en cada uno de los insecticidas con la población de referencia con base en la separación de sus límites fiduciales (LC = 95%), con RR para malation, bifentrina y spinosad entre 36-2498, 4-974 y 2-248 respectivamente. Las poblaciones de trips colectadas en el estado de Michoacán presentaron los valores más altos de RR de resistencia a los tres insecticidas ensayados.

10. ANEXOS

ANEXO 1: Protocolo de Extraccion de ADN (Doyle, 1991)

1. En un tubo de 2 mL previamente marcado se agregó 100 µl de CTAB, se introdujo el insecto vivo el cual fue macerado con micromorteros previamente desinfectados, y se agregó 900 µl más de CTAB.
2. Luego se incubó a baño maría a 96°C por 60 minutos.
3. Posteriormente se centrifugó a 11,000 xg por 5 min, y se pasó el sobrenadante con una micropipeta a tubos de 2 mL nuevos.
4. Se agregó 500 µL de cloroformo-alcohol Isoamilico (24:1) y se agitó por inversión por 10 min.
5. Luego se centrifugó a 11,000 xg durante 10 min y se extrajo la fase acuosa con micropipeta y se depositó en tubos nuevos de 2 mL.
6. Se agregó 700 µL de cloroformo-alcohol Isoamilico (24:1), y nuevamente se agitó por inversión durante 10 min y centrifugó a 11,000 xg por 10 min.
7. Se transfirió la fase acuosa (sobrenadante) con una micropipeta a tubos nuevos de 1.5 mL con 950 µL de Etanol al 100% previamente enfriados a -20°C y se mezcló por inmersión al menos 10 veces. Luego se incubó por al menos 2 horas a – 20°C.
8. Pasadas las dos horas se centrifugó a 11,000 xg durante 30 min y se decantó evitando perder la pastilla.
9. Se suspendió la pastilla en 400 µL de agua HPLC y se incubó a 55°C por 15 min.

10. Se añadió 34 μL de NaOAc 3M (Acetato de Sodio 3 Molar) y 1mL de Etanol al 95% e incubó a -20°C por 1 hora
11. Se centrifugó a 11,000 xg durante 5 min y se decantó el sobrenadante
12. Lavado: se agregó 600 μL de Isopropanol al 70% y se centrifugó por 10 min a 11,000 xg y se decantó evitando perder la pastilla. Luego se secó la pastilla por al menos 30 min en la cámara de flujo laminar.
13. Por último se suspendió la pastilla en 20 μL de HPLC y se incubó a 80°C durante 10 min.

11. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology* 18: 265-267.
- Aggarwal, N., D. S. Brar, T. Basedow. 2006. Insecticide Resistance Management of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and its effect on pests and yield of cotton in North India. *Journal of Plant Diseases and Protection* 113(3):120-127.
- Aguirre U, L. A., M. A. Miranda S, M. A. Urías L., C. F. Orona C, I. H. Almeyda L, R. Johansen N y M. Tucuch C. 2013. Especies de trips (Thysanoptera) en mango, fluctuación y abundancia. *Revista Colombiana de Entomología* 39(1): 9–12.
- Albendin, G., M. C. García y J. M. Molina. 2012. El trips de las flores y su control en el cultivo de la fresa. *Vida Rural* 80: 34–38.
- Alston, D. G. and D. Drost. 2008. Onion Thrips (*Thrips tabaci*). UTAH Pest Fact Sheet 117(08): 1-5.
- Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D. J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389-3402.
- Ávila-Quezada G. D., D. Téliz-Ortiz, H. Vaquera-Huerta, H. González-Hernández, R. Johansen-Naime. 2005. Progreso temporal del daño por trips (Insecta: Thysanoptera) en aguacate (*Persea americana* Mill.). *Agrociencia* 39: 441-447.

- Azfal M, B. S. and Shad, S. A. 2017. Spinosad resistance in an invasive cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis*: Cross-resistance, stability and relative fitness. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 20(2): 457-462.
- Bielza, P., E. Fernandez, C. Cravalos and J. Abellan. 2009. Carbamates synergize the toxicity of acrinathrin in Resistant Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Journal Economic Entomology* 102(1): 393-397.
- Bielza, P., V. Quinto, J. Contreras, M. Torné, A. Martín and P. J. Espinosa. 2007. Resistance to spinosad in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) in greenhouses of south-eastern Spain. *Pest Management Science* 63: 682-687.
- Bielza, P., V. Quinto, E. Fernández, C. Grávalos and J. Contreras. 2007a. Genetics of Spinosad Resistance in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal Economic Entomology* 100(3): 916-920.
- Bielza, P. and Guillen, J. 2014. Cyantraniliprole: a valuable tool for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) management. *Pest Management Science* 71(8): 1068-1074.
- Bielza, P. Mecanismos de resistencia a Insecticidas, Memorias de Conferencia IRAC, 2013.
- Boyzo-Marin J., H. V. Silva-Rojas y A. Rebollar-Alviter. 2015. Biorational treatments to manage dryberry of blackberry of blackberry caused by *Peronospora sparsa*. *Crop Protection* 16: 121-126.
- Broughton, S and G. A. Herron. 2009. Potential New Insecticides for the Control of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) on Sweet Pepper, Tomato, and Lettuce. *Journal Economic Entomology* 102(2): 646-651.

- Broughton, S., J. M. Anne y D. Andrew. 2015. Thrips (Thysanoptera) damage to apples and nectarines in Western Australia. *Crop Protection* 72: 47-56.
- Broughton S., D. A. Cousins and T. Rahman. 2015. Evaluation of semiochemicals for their potential application in mass trapping of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) in roses. *Crop Protection* 67: 130-135.
- Bustillo, A. E. 2009. Evaluación de insecticidas químicos y biológicos para controlar *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) en cultivos de espárragos. *Revista Colombiana de Entomología* 35(1): 12–17.
- CABI. 2017. Invasive species compendium: *Frankliniella occidentalis* (Western Flower Thrips). Centre for Agricultural Bioscience International. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/24426>.
- Capinera, J. L. 2001. Handbook of Vegetable Pests Chapter Order Thysanoptera - Thrips. pp 535-550.
- Castresana, J., E. Gagliano, L. Puhl, S. Bado, L. Vianna y M. Castresana. 2008 Atracción del trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) con trampas de luz en un cultivo de *Gerbera jamesonii* (G.). *IDESIA* 26:51-56.
- Cloyd, R. A. y R. S. Cowles. 2011. Manejo de resistencia: principios de resistencia, modo de acción y rotación de insecticidas.
- Dagh, F. and I. Tung. 2007. Insecticide resistance in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) collected from horticulture and cotton in Turkey. *Australian Journal Entomology* 46: 320–324.

Doyle, J. J. 1991. DNA protocols for plants. pp. 283-293 in: G. Hewitt, A. W. B. Johnson, and J. P. W. Young (eds.), Molecular Techniques in Taxonomy. NATO ASI Series H, Cell Biology Vol. 57. Altschul, SF; Madden, TL; Schaffer, AA; Zhang, J; Zhang, Z; Miller, W; Lipman, DJ. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research 25: 3389-3402.

Echeverri-Florez, F. E., C. E. Loaiza-Marín y M. Cano-Ortiz. 2004. Reconocimiento e identificación de trips fitófagos (Thysanoptera: Thripidae) y depredadores (Thysanoptera: Phlaeothripidae) asociados a cultivos comerciales de aguacate *Persea* spp., en los departamentos de Caldas y Risaralda (Colombia). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín 57(1): 2178-2189

Espinosa, P. J., P. Bielza, J. Contreras and A. Lacasa. 2002. Insecticide resistance in field populations of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) in Murcia (south-east Spain). Pest Manag Sci 58:967–971.

Espinosa, P. J., J. Contreras, V. Quinto, C. Grávalos, E. Fernández and P. Bielza. 2005. Metabolic mechanisms of insecticide resistance in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Pest Manag Sci 61: 1009–1015.

Espinosa, P., J. Fuentes, J. Contreras, P. Bielza y A. Lacasa. 2002. Método de cría en masa de *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas, 28, 385–390.

Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marinebiology and biotechnology 3(5): 294-299

Gao, Y, Z. Lei, S. R. Reitz. 2012. Western flower thrips resistance to insecticides: detección, mecanismos and management strategies. *Pest Management Science* 68(8): 1111-1121.

García-Méndez, V. H., L. D. Ortega-Arenas, J. A. Villannueva-Jimenez y H. Sánchez-Arroyo. 2016. Susceptibilidad de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) a insecticidas en Veracruz México. *Agrociencia* 50: 355–365.

García-Ávila, C. J., D. B. Bravo-Pérez, I. Ruiz-Galván, G. Romero-Gómez, A. Quezada-Salinas, S. Hernández-Pablo, J. A. López-Buenfil, J. G. Florencio-Anastasio, R. González-Gómez y N. Acevedo-Reyes. 2016. Presencia de la mosca del vinagre de las alas manchadas *Drosophila suzukii* (Matsumara, 1931) (Díptera: Drosophilidae) en México. *Entomología agrícola* 3: 354-360.

Georghiou, G. P. and C. E. Taylor. 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *Journal Economic Entomology* 70: 319-323.

Georghiou, G.P. 1981. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods: an index of cases reported through 1980. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Goldarazena, A. 2011. Contribución al conocimiento de la Fauna del Orden Thysanoptera (Clase Insecta, Orden Thysanoptera) en Euskal Herria. NEIKER Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario.

Goldarazena, A., F. Gattesco, R. Atencio and C. Korytowski. 2008. An update checklist of the Thysanoptera of Panama with comments on host associations. *Check List* 8(6): 1232-1247.

- Guillen, J. y P. Bielza. 2012. Thiametoxam acts as a target-site synergist of spinosad in resistant strains of *Frankliniella occidentalis*. Pest Management Science 69(2): 188-194.
- Herrera-Vásquez, J. A. y A. A. Barba-Alvarado. 2013. Identificación de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera : Thripidae) en cultivos de curcubitáceas en Panamá. Agronomía Mesoamericana 24(1): 47–55.
- Herron, G.A. and T. M. James. 2005. Monitoring insecticide resistance in Australian *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) detects fipronil and spinosad resistance. Australian Journal of Entomology 44: 299-303.
- Hoddle, M. S., J. M. Heraty, P. F. Rugman-Jones, L. Mound and R. Stouthamer. 2008. Relationships among species of Scirtothrips (Thysanoptera: Thripidae, Thripinae) using molecular and morphological data. Annals of Entomological Society of America. 101(3): 491-500.
- Hsu, J. C., F. Hai-Tung, W. Wen-Jer, M. Scott, D. Geib, M. Ching-hua and V. John. 2012. Truncated transcripts of nicotinic acetylcholine subunit gene $Bd\alpha 6$ are associated with spinosad resistance in *Bactrocera dorsalis*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 42: 806-815.
- Inmaraju, J. A., T. D. Paine, J. A. Bethke, K. L. Roob and J. P. Newman. 1992. Western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) resistance to insecticides in coastal California greenhouses. Journal Economic Entomology 85: 9–14.
- IRAC. 2017. Clasificación del Modo de acción de Insecticidas y acaricidas Versión actualizada en Julio de 2017, basada en la 6ª edición de IRAC internacional, Comité de acción de resistencia a Insecticidas.

IRAC. 2013. La resistencia de los trips en cultivos intensivos. Comité de acción de resistencia a Insecticidas

Johansen-Naime, R., M. Y. Sánchez-Roncancio, H. González-Hernández, A. Mojica-Guzmán y S. Anaye-Rosales. 2001. Trips (Insecta: Thysanoptera) asociados a frutales de los Estados de México y Morelos, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 40(2): 169–187.

Johansen-Naime, R. M. y A. Mojica-Guzmán. 1997. Importancia agrícola de los trips. Manual sobre Entomología y Acarología Aplicada, Memorias Seminario/Curso "Introducción a la Entomología y Acarología Aplicada", Mayo 22-24, UPAEP, Puebla, Pueb. Pp 11-18 SME-UPAEP.

Johansen-Naime, R. M. 1987. El género *Leptothrips* Hood, 1909 (Thysanoptera: Phlaeothripidae) en el Continente Americano: Su sistemática, filogenia, biogeografía, biología, conducta y ecología. Monografías del Instituto de Biología, UNAM, 3: 1-246.

Johansen-Naime, R. M. and A. Mojica-Guzmán. 2003. The Mexican *Frankliniella aurea* assemblages in the "Intonsa Group" (Insecta, Thysanoptera: Thripidae). *Acta Zoológica Mexicana* 89: 201-240.

Johansen-Naime R., A. Mojica-Guzmán y E. Mejorada-Gómez E. 2009. Los Tisanopteros (Insecta) del Valle de México, una introducción. *Entomología Mexicana* SM: 998-1003.

Kumm, S. y G. Moritz. 2008. First detection of Wolbachia in arrhenotokous populations of Thrip species (Thysanoptera: Thripidae an Phlaeothripidae) and its role in reproduction. *Environmental Entomology*. 37(6): 1422-1428.

- Lacasa, A., J. C. Tello y M. C. Martínez. 1988. Los tisanópteros asociados al cultivo del clavel en el Sureste español. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 14: 77–88.
- Lagunes, T. A. 1980. Impact of the use of mixtures and sequences of insecticides in the evolution of resistance in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). Doctoral dissertation. Department of Entomology. University of California, Riverside. USA.
- Lagunes-Tejeda, A., J. Rodríguez-Maciel y J. Loera-Barocio. 2009. Susceptibilidad a Insecticidas en Poblaciones de Artrópodos de México. *Agrociencia* 43: 173-196.
- Lewis, J. S. 1968. The thrips: or Thysanoptera, of Illinois. *Natural History Survey Division* 29(4): 338.
- López-Guillen G., J. Rosa-Cancino y A. 2014. Goldarazena. Abundancia y fluctuación poblacional de trips asociados a hojas de mango ataulfo en el Soconusco Chiapas. *Entomología Mexicana* 1: 824-828.
- Lot, A. y Z. Cano-Santana. 2009. Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Ángel, Universidad Nacional Autónoma de México pp228
- Lozier, J. F., R. G. Footitt, G. L. Miller, N. J. Mills and G. K. Roderick. 2008. Molecular and morphological evaluation of the aphid genus *Hyalopterus* Koch (Insecta: Hemiptera: Aphididae) with a description of a new species. *Zootaxa* 1688: 1-19.
- Mani, G. S. 1985. Evolution of resistance in the presence of two insecticides. *Genetics*. 109: 761-783.

Mannion, C., A. Hunsberger, K. Gabel y L. Buss. 2006. Los Trips (Piojitos) del Tabebuia (Tabebuia Thrips - Holopothrips tabebuia). IPM, Integrated Pest Management Florida. IFAS Extension.

Margaria, P., L. Bosco, M. Vallino, M. Ciuffo, C. Mautino, L. Tavella and M. Turina. 2014. The NSs Protein of Tomato spotted Wilt Virus is required for persistent infection and transmission by Frankliniella occidentalis. Journal of Virology 88(10): 5788-5802.

Márquez-Luna, J. 2005. Técnicas de colecta y preservación de insectos. Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa 37: 385–408.

Miller, T. A. 1988. Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. Parasitology Today. 4: 13-5

Moritz, G., D. C. Morris and L.A. Mound. 2001. ThripsID - Pest thrips of the world. ACIAR and CSIRO Publishing Collingwood, Victoria, Australia, CDROM ISBN 1 86320 296 X

Moritz, G., M. Paulsen, C. Delker, S. Picl, S. Kumm. 2001a. Identification of thrips using ITS-RFLP analysis. Thrips and Tospoviruses: Proceedings of the 7TH International Symposium on Thysanoptera. 2001: 365-367.

Mota-Sánchez, D., P. S. Bills and M. E. Whalon. 2002. Arthropod resistance to pesticides: status and overview, pp. 241-271. In: W. B. Wheeler [ed.] Pesticides in agriculture and the environment. Marcel Dekker, Inc. New York. USA.

Mound, L. 2017. Thysanoptera (Thrips) of the World - a checklist. CSIRO Australia.

- Mound, L. 2013. Order Thysanoptera Haliday. 1836. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.) Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda 2013). Zootaxa 3703(1): 049-050
- Mound, L. and G. Kibby. 1998. Thysanoptera: an identification guide 2nd edn. Wallingford: CAB International. 70 pp.
- Mound, L. A. and R. Marullo. 1996. The Thrips of Central and South America: An Introduction. Memoirs on Entomology International 6: 1–488.
- Mound, L. A. 2007. New Australian spore-feeding Thysanoptera (Phlaeothripidae – Idolothripinae). Zootaxa 1604: 53–68.
- Mound, L. A. 2007a. Thysanoptera (Thrips) of the World – a checklist. <http://www.ento.csiro.au/thysanoptera/worldthrips.html>.
- Mound, L., A. P. Retana y G. Heaume. 1993. Claves ilustradas para las familias y los géneros de Terebrantia (Insecta: Thysanoptera) de Costa Rica y Panamá. Revista de Biología Tropical 41(3): 709–727.
- Nault, B. A., A. M. Shelton, J. L. Gangloff-kaufmann, M. E. Clark, J. L. Werren, J. C. Cabrera-La Rosa and G. G. Kennedy. 2006. Reproductive modes in onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) populations from New York onions fields. Environmental Entomology 35(5): 1264-1271.
- Ochoa-Martínez, D. L., E. Zavaleta-Mejía, G. Mora-Aguilera y Johansen-Naime, R. M. 1999. Implications of weed composition and thrips species for the epidemiology of tomato spotted wilt in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). Plant Pathology 48(6): 707-717.

Puinenan, A. M., S. J. Lansdell, T. Collins, P. Bielza and N.S. Millar. 2013. A nicotinic acetylcholine receptor transmembrane point mutation (G275E) associated with resistance to spinosad in *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Neurochemistry* 124: 590–601.

Rebollar-Alviter A., A. Hernández-Cruz y A. Saldivia-Tejeda. 2016. Evaluation of management programs of yellowing and wilting of blackberry (*Rubus* sp.) caused by *Fusarium oxysporum* in Michoacan México. American Phytopathological Society. July 30 - August 3.

Reitz, S. R., E. L. Yearby, J. E. Funderburk, J. Stavisky, M. T. Momol and S. M. Olson. 2003. Integrated management tactics for *Frankliniella* thrips (Thysanoptera: Thripidae) in field-grown pepper. *Journal Economic Entomology* 96: 1201–1214.

Reitz., S. T. 2009. Biology and ecology of the western flowers thrips (Thysanoptera: Thripidae): The making of a pest. *Biology and Pest Status of Western Flower Thrips* 92(1): 7-13.

Rinkevich, F. D., M. Chen, A. M. Shelton and J. G. Scott. 2010. Transcripts of the nicotinic acetylcholine receptor subunit gene *Pxylα6* with premature stop codons are associated with spinosad resistance in diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Invertebrate Neuroscience* 10: 25–33.

Ripa, R., P. Larral, J. Montenegro y P. Veliz. 2008. Manejo de plagas en paltos y cítricos. No 23. Versión Producciones gráficas LTDA. La Cruz, Chile. pp: 206–219.

Robertson, J. L. and H. K. Preisler. 1992. Pesticide bioassays with arthropods. Second edition. Taylos and Francis Group. NW, USA. pp: 127

Rodríguez-Romero, A., P. Posos Ponce, B. Peterira y M. Suris. 2011. Evaluacion de tres protocolos de extraccion de ADN en insectos del orden Thysanoptera. *Revista Proteccion Vegetal* 26(3): 187–190.

Rugman-Jones, P. F., M. S. Hoddle, L. A. Mound and R. Stouthamer. 2006. Molecular Identification key for pest species of *Scirtothrips* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal Economic Entomology* 99(5): 1813-1819.

SAGARPA. 2014. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación de Mexico. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/jalisco/boletines/Paginas/B0402012.aspx>

Saitou, N. and M. Nei. 1987. The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-425.

Sánchez, J., A. Alcázar, A. Lacasa, A. Llamas and P. Bielza. 2000. Integrated pest management strategies in sweet pepper plastic houses in the Southeast of Spain. *IOBC WPRS Bull* 23: 21–30.

Savary, S., A. Nelson, A. H. Sparks, L. Willocquet, E. Duveiller, G. Mahuku and A. Djurle. 2011. International agricultural research tackling the effects of global and climate changes on plant diseases in the developing world. *Plant Disease* 95(10): 1204–1216.

Schutze, M. K., N. Aketarawong, W. Amornsak, K. F. Armstrong, A. A. Augustinos, N. Barr, et al. 2015. Synonymization of key pest species within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae): taxonomic changes based on a review of 20 years of integrative morphological, molecular, cytogenetic, behavioural and chemoecological data. *Systematic Entomology* 40(2): 456-471.

- ShengYin, W., Z. AnSheng, L. Lili, M. XingYuan, Z. XianHong, Z. YiFan, L. Yonglie, W. Shujun and Y. Yi. 2014. Insecticide resistance status of field populations of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in China and its control strategies. *Acta Entomologica Sinica* 57(5): 621-630.
- Sial, A. A., J. F. Brunner and M. D. Doerr. 2010. Susceptibility of obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) to two new reduced-risk insecticides. *Journal Economic Entomology* 103: 140–146.
- SIAP. 2017. Sistema de informacion agroalimentaria y Pesquera. Obtenido de <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Soto, G. y A. Retana. 2003. Clave ilustrada para los géneros de thysanoptera y especies de *Frankliniella* presentes en cuatro zonas hortícolas en Alajuela, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 27(2): 55–68.
- Thalavaisundaram, S., G. A. Herron, A. D. Clift and H. Rose. 2008. Pyrethroid resistance in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) and implications for its management in Australia. *Australian Journal of Entomology* 47: 64–69.
- Thompson, G. D., R. Dutton and T. C. Sparks. 2000. Spinosad - a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Management Science* 56: 696-702.
- Torres-Vila, L. M., M. Mejias Tapia, M. C. Rodriguez-Molina, E. Palo, P. Bielza y A. Lacasa. 1998. Actividad invernal de *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) en las Vegas del Guadiana (Extremadura). *Boletín de Sanidad Vegetal* 24: 363–374.

Triplehorn, C. y N. Johnson. 2005. Borror and delong`s Introduction to the Study of Insects. 7th edition. Thomson, Brooks/Cole, Autralia. 864 p.

Wang, Z. H., W. J. Hou, C. Y. Hao, Q. J. Wu, B. Y. Xu and Y. J. Zhang. 2011. Monitoring the insecticide resistance of field populations of western flower thrips *Frankliniella occidentalis* in the Beijing area (in Chinese). Chinese Bulletin Entomological 48: 542–547.

Watson, J. R. 1942. Two new Frankliniellas from México (Thysanoptera). Florida Entomologist 25(3): 43-46.

Zhang, S. Y., S. Kono, T. Murai and T. Miyata. 2008. Mechanisms of resistance to spinosad in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Insect Science 15: 125-132.

Zhang, Z. J., Q. J. Wu, X. F. Li, Y. J. Zhang, B. Y. Xu y G. R. Zhu. 2007. Life history of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysan., Thripidae), on five different vegetable leaves. Journal Applied Entomology 131(5): 347-354

Zhao, J. Z., Y. X. Li, H. L. Collins, L. Gusukuma-Minuto, R. F. Mau, G. D. Thompson, *et al.*, 2002. Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. Journal Economic Entomology 95: 430–436.