

Consultez les discussions, les statistiques et les profils d'auteurs pour cette publication sur : <https://www.researchgate.net/publication/372882203>

Caractérisation moléculaire et analyse phylogénétique de la tortue des pins Cochenille *Toumeyella parvicornis* (Cockerell) (Hemiptera : Coccidae)

Article dans Forêts · Août 2023

DOI : 10.3390/f14081585

CITATIONS

2

7 auteurs, dont :



Nicolò Di Sora

Université de Toscie

24 PUBLICATIONS 52 CITATIONS

[VOIR LE PROFIL](#)



Federico Brugneti

Université de Toscie

10 PUBLICATIONS 9 CITATIONS

[VOIR LE PROFIL](#)

LECTURES

205



Silvia Turco

Université de Toscie

41 PUBLICATIONS 388 CITATIONS

[VOIR LE PROFIL](#)



Luca Rossini






Université Libre de Bruxelles

68 PUBLICATIONS 370 CITATIONS

[VOIR LE PROFIL](#)

Article

Caractérisation moléculaire et analyse phylogénétique des Cochenille du pin *Toumeyella parvicornis* (Cockerell) (Hémiptères : Coccidae)

Nicolò Di Sora ^{1,†} , Silvia Turco ^{1,*} , Federico Brugneti ¹, Luca Rossini ^{1,2,*} , Angelo Mazzaglia ¹ , Mario Contarini ¹ et Stefano Speranza ^{1,3} 

¹ Département des Sciences Agricoles et Forestières, Université de Tuscia, Via San Camillo de Lellis snc, 01100 Viterbo, Italie ; nico.disora@unitus.it (NDS) ; federico.brugneti@unitus.it (FB) ; angmazza@unitus.it (AM) ; contarini@unitus.it (MC) ; Speranza@unitus.it (SS)

² Service d'Automatisation et d'Analyse des Systèmes, Université Libre de Bruxelles, Av. FD Roosevelt 50, CP 165/55, 1050 Bruxelles,

³ Belgique Centre d'études parasitologiques et vectorielles (CEPAVE, CONICET-UNLP), Boulevard 120 1900, La Plata B1900, Argentine

* Correspondance : silvia.turco@unitus.it (ST) ; luca.rossini@unitus.it (LR)

† Ces auteurs ont contribué de manière égale à ce travail. L'ordre des auteurs a été déterminé par ordre d'ancienneté croissante.

Résumé simple : La caractérisation moléculaire des ravageurs est une pratique essentielle pour soutenir et compléter la taxonomie morphologique classique des insectes, ainsi que pour fournir des informations utiles qui peuvent conduire à trouver des stratégies de contrôle ou des méthodes de détection alternatives. Les méthodes de biologie moléculaire sont d'une grande importance, en particulier pour les espèces dont l'identification nécessite des opérateurs hautement qualifiés ou le support d'outils optiques pour les organismes microscopiques. Ce fait est encore plus amplifié si le ravageur étudié est une espèce exotique qui peut se propager rapidement dans une nouvelle zone, comme dans le cas de *Toumeyella parvicornis* (Cockerell) en Italie et en Europe en général. Cette espèce démontre la nécessité d'une caractérisation moléculaire, inspirant la présente étude.

Résumé : *Toumeyella parvicornis* (Cockerell) (Hemiptera, Coccidae) est en passe de devenir un ravageur potentiel majeur des pins parasols (*Pinus pinea* L.), aussi bien dans les parcs urbains que dans les pinèdes d'Europe. Sa répartition récente est source d'inquiétude dans plusieurs régions d'Italie et de France. La détection précoce de ce ravageur joue un rôle fondamental pour contenir son expansion géographique, mais son identification taxonomique repose encore sur des observations laborieuses des traits morphologiques. L'identification est également compliquée par la petite taille du ravageur, qui ne permet les observations qu'à l'aide d'un stéréomicroscope.

L'identification moléculaire est utile pour la détection, mais il n'existe actuellement qu'une seule séquence génétique disponible pour ce ravageur. Cette étude comble cette lacune en fournissant les séquences de cinq gènes différents (COI, 28S, facteur d'élongation (EF-1 α), wingless (wg) et histone H3 (HexA)), ainsi qu'une analyse phylogénétique réalisée parmi les espèces appartenant aux Coccidae, l'une des plus importantes familles de cochenilles. Les résultats fournissent de nouvelles informations précieuses sur *T. parvicornis* et peuvent constituer des données utiles pour sa détection et ses pratiques de gestion.

Mots clés : cochenille du pin ; Coccidae ; espèces exotiques envahissantes ; marqueurs moléculaires ; phylogénétique ; lutte antiparasitaire ; pin parasol ; forêts urbaines



Citation : Di Sora, N. ; Turco, S. ;

Brugneti, F. ; Rossini, L. ; Mazzaglia, A. ;

Contarini, M. ; Speranza, S.

Caractérisation moléculaire et

Analyse phylogénétique de l'insecte

cochenille du pin *Toumeyella*

parvicornis (Cockerell) (Hemiptera :

Coccidae). *Forests* 2023, 14, 1585.

<https://doi.org/10.3390/f14081585>

Rédacteur académique : Qing-He Zhang

Reçu le 12 juillet 2023

Révisé le 25 juillet 2023

Accepté : 2 août 2023

Publié le 3 août 2023



Copyright : © 2023 par les auteurs.

Titulaire de licence MDPI, Bâle, Suisse.

Cet article est un article en libre accès distribué selon les termes et

conditions du Creative Commons

Licence d'attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

La superfamille des Coccoidea (Hemiptera, Sternorrhyncha) comprend des organismes communément appelés cochenilles [1] qui se nourrissent de la sève des plantes, causant de graves dommages et impactant ainsi les environnements agricoles et forestiers du monde entier [2,3]. Il existe de nombreux exemples de Coccoidea qui sont devenus de graves menaces dans les zones non indigènes, comme *Saissetia oleae* (Olivier) (Coccoidea, Coccidae), infestant les plantes du genre *Olea* [4], ou *Plan*

(Risso) (Coccoidea, Pseudococcidae) et *Parlatoria ziziphi* (Lucas) (Coccoidea, Diaspididae), infestant les plantes du genre *Citrus* [5,6].

Parmi le groupe des cochenilles, les espèces appartenant à la famille des Coccidae se nourrissent et se développent sur une pléthore de plantes hôtes dans le monde entier, de l'hémisphère nord à l'hémisphère sud [7] : *Ceroplastes rubens* Maskell infeste, par exemple, les cultures de thé dans certaines régions d'Asie [8] ; *Coccus hesperidum* L., est un ravageur Coccidae hautement polyphage et réparti à l'échelle mondiale [9]. Leur potentiel invasif est renforcé par leur petite taille et leur parthénogenèse reproduction et par l'absence d'ennemis naturels locaux (c'est-à-dire des prédateurs, des parasitoïdes et maladies) dans la nouvelle zone d'invasion [3,10,11]. Parmi la sous-famille Myzolecaniinae, le genre *Toumeyella* mérite sûrement notre attention [12,13], et en particulier, l'espèce *Toumeyella parvicornis* (Cockerell), communément appelé insecte cochenille de tortue. Il est originaire d'Amérique du Nord [7], où il se nourrit et se développe sur différentes espèces du genre *Pinus* [14]. Récemment, *T. parvicornis* a été introduit en Europe, où il provoque de graves dommages, y compris le dépérissement des arbres dans les forêts urbaines et naturelles de *Pinus pinea* L. [15,16]. Les principaux dégâts sont causés par son activité alimentaire et la production abondante de miellat, un substrat optimal pour les moisissures (Figure 1). Les infestations dans certaines zones du Centre L'Italie, surtout dans la zone métropolitaine de Rome, est élevée au point que le dépérissement de Les pins parasols modifient le paysage urbain et côtier typique [17]. L'identification des *T. parvicornis* est toujours basé uniquement sur ses traits morphologiques [16,18], de préférence sur la caractéristiques microscopiques du premier stade nymphal (appelé stade rampant) ou de les femelles adultes [19,20]. En alternative, il est possible d'identifier les stades mâles juvéniles par la conception des couvertures nymphales [18].

Forêts 2023, 14, x POUR EXAMEN PAR LES PAIRS

3 sur 15



Figure 1. Femelles adultes matures de *Toumeyella parvicornis* sur des brindilles de pin parasol, avec des preuves de gouttes de miellat et couverture de moisissure noire.

2. Matériels et méthodes

Les connaissances génétiques sur cette espèce sont encore rares. Seules deux séquences de code-barres sont actuellement disponibles dans les bases de données publiques. Ces deux sont liés au cytochrome C. Le gène de la sous-unité I de l'oxydase (COI) obtenu à partir de spécimens nord-américains [21]. Des spécimens de *T. parvicornis* ont été collectés en avril 2023 à partir de pins parasols dans une zone urbaine. Peu d'informations sont disponibles, à l'heure actuelle, il n'existe aucune caractérisation génétique et moléculaire de spécimens européens. (0 m d'altitude), dans les installations du « Reparto Carabinieri Biodiversità di Roma ». Ce travail vise à combler cette lacune dans les connaissances en fournissant les séquences (partielles). L'échantillonnage a été effectué peu de temps après la période d'hivernage des femelles adultes lorsque de cinq gènes marqués différents (COI, 28S, facteur d'élongation 1 α (EF-1 α), sans ailes (wg) et il y avait une probabilité plus élevée que le développement de l'œuf ait commencé. L'histone H3 (HexA) des plants de pin parasol) provenant de l'ADN extrait par des femelles adultes de *T. parvicornis* collectées dans ils avaient environ 10 ans, un diamètre de 9 cm, une hauteur d'environ 3 m et étaient espacés de 6 m.

Après la collecte, les échantillons ont été scellés dans des sacs en plastique pour éviter toute dispersion. et amené au laboratoire, où la première identification morphologique a été réalisée sous un stéréomicroscope, suivant les clés illustrées de Hamon et Williams [7]

Italie. Ces séquences ont été utilisées pour réaliser une analyse phylogénétique avec les séquences de Coccidae disponibles dans la base de données nucléotidiques NCBI liées à ces cinq gènes.

Nous considérons que ces informations sont d'une grande importance car (i) elles enrichissent les connaissances sur la génétique de cette espèce, rendant possibles de nouvelles comparaisons entre les souches adaptées aux différentes zones du monde ; (ii) elles jettent les bases pour la mise en place de méthodes de détection plus rapides basées sur des techniques moléculaires ; (iii) elles jettent les bases pour de nouvelles études sur les méthodes de contrôle ; et (iv) elles fournissent des informations sur les voies d'introduction, adaptées à la formulation de stratégies de confinement plus précises.

2. Matériels et méthodes

2.1. Collecte de spécimens de *Toumeyella parvicornis* et identification morphologique

Des spécimens de *T. parvicornis* ont été collectés en avril 2023 sur des pins parasols dans un parc urbain situé à Castel Fusano (Rome, Latium, Italie, 41°44'29,8 N, 12°19'44,1 E, altitude : 0 m au-dessus du niveau de la mer), dans les installations du « Reparto Carabinieri Biodiversità di Roma ». L'échantillonnage a été effectué peu de temps après la période d'hivernage des femelles adultes, lorsqu'il y avait une plus grande probabilité que le développement des œufs ait commencé. Les pins parasols étaient âgés d'environ 10 ans, mesuraient 9 cm de diamètre, 3 m de hauteur environ et étaient espacés de 6 m.

Français Après la collecte, les spécimens ont été scellés dans des sacs en plastique pour éviter toute dispersion et apportés au laboratoire, où la première identification morphologique a été réalisée au stéréomicroscope, en suivant les clés illustrées de Hamon et Williams [7] et Miller et Williams [18], de la même manière que Di Sora et al. [16]. Les caractères généraux des spécimens collectés correspondent à la morphologie typique de la sous-famille des Myzolecaniinae [1], en particulier en raison (i) de la forte sclérotisation du dos, (ii) des plaques anales avec de nombreuses soies, (iii) de l'absence de ocelle, (iv) des pores discaux progénitaux avec 5–6 loculi, (v) des antennes réduites et (vi) des pattes réduites. Après cette première sélection grossière, les spécimens ont été caractérisés morphologiquement en considérant que les femelles adultes de *T. parvicornis* ont des dimensions de 3 à 3,5 mm de longueur et environ 3 mm de largeur, une forme de corps modérément allongée et un derme brun rougeâtre légèrement sclérotisé avec des taches sombres (Figure 2a).

Les principales caractéristiques permettant d'identifier les femelles adultes sont la présence typique de groupes de pores biloculaires dorsaux évidents sur la région dorsale et les plaques anales triangulaires (Figure 2b,c). Les couvertures nymphales des mâles présentent en revanche une surface cireuse plutôt fragile, une forme oblongue avec une élévation légèrement antérieure, l'absence de sculptures pertinentes et une seule suture postérieure transversale formée par la fusion des sutures transversales postérolatérales et postérieures (Figure 2d).

Pour le processus d'extraction de l'ADN, seul le contenu corporel des femelles adultes a été utilisé (environ 130 à 150 individus différents), principalement composé d'œufs, afin d'éviter la contamination de la partie externe du processus. La dissection a été réalisée à l'aide de deux épingles. La quantité de matériel extrait par l'ensemble des échantillons collectés était de 450 mg.

Le matériel disséqué a été conservé dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL et stocké au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à l'extraction de l'ADN.

2.2. Extraction d'ADN, PCR et séquençage

L'ADN génomique total a été extrait de la partie interne du corps de femmes adultes selon un protocole basé sur le CTAB. En bref, 150 mg de matériel ont été incubés avec 500 µL de tampon de lyse (2 % de CTAB, 0,02 M d'EDTA, 0,1 M de Tris-HCl pH 8, 1,2 M de NaCl) à 65 °C pendant 30 min. Un volume de chloroforme:alcool isoamylique (24:1) a été ajouté à la solution, vortexé et centrifugé à 12 000 tr/min pendant 10 min à température ambiante. La phase aqueuse a été transférée dans un nouveau tube Eppendorf et extraite à nouveau avec un deuxième cycle de chloroforme:alcool isoamylique. La phase aqueuse a ensuite été incubée avec 10 % de volume de CTAB (10 %) et 500 µL de chloroforme:alcool isoamylique supplémentaire. Après centrifugation pendant 10 min à 12 000 tr/min, le surnageant a été transféré dans un nouveau tube Eppendorf et l'ADN a été précipité avec un volume d'isopropanol froid et 10 % de volume d'acétate de sodium 3M pendant 2 h à -20 °C. Après 10 min de centrifugation à 12 000 tr/min, le culot

a été lavé avec de l'éthanol à 70 % et remis en suspension dans 50 µL de Tris-EDTA (TE) préchauffé à 65 °C. L'ADN a été quantifié à l'aide du fluorimètre Invitrogen Qubit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts) et du spectrophotomètre Optizer NanoQ (Keren Inno- vative), et le matériel expérimental a été conservé dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL et stocké dans un réfrigérateur réfrigéré à 4 °C jusqu'à l'extraction de l'ADN.

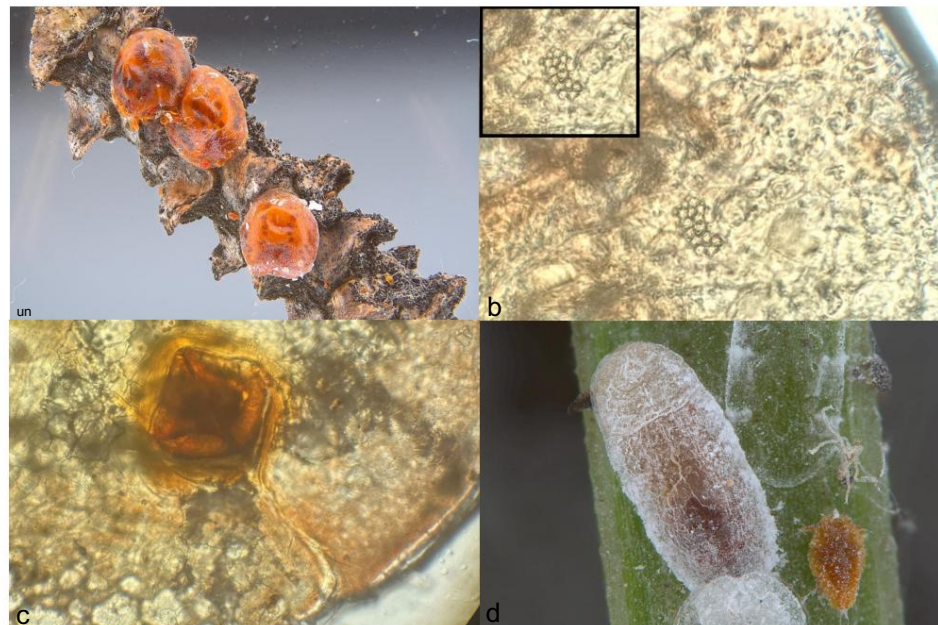


Figure 2. Caractères d'identification de *Toumeyella parvicornis* : (a) femelles adultes sur une branche de pin parasol, (b) amas de pores biloculaires dorsaux femelles montés sur lame, (c) plaques anales femelles montées sur lame, (d) amas de pores biloculaires dorsaux mâles montés sur lame, (c) plaques anales femelles montées sur lame, (d) immatures couverture mâle mature.

2.2. Extraction d'ADN, PCR et séquençage
Cinq loci différents (COI, région D2 du gène nucléaire 28S, facteur d'élongation (EF-1α), wingless (Wg) et Histone H3 (HexA) ont été sélectionnés pour l'amplification par réaction en chaîne par polymérase (PCR) en utilisant les amorces répertoriées dans le tableau 1. Les réactions de PCR ont été préparées comme suit : 2,3. Analyse phylogénétique
bas : 2 µL d'ADN dilué (~30 ng) ont été incubés avec 0,4 µM de séquences directes et indirectes. Les séquences disponibles des gènes COI, 28S, Wg, HexA et EF-1α des Coccidae appartenant à Cardiococcinae, Ceroplastinae, Coccinae, Eriopeltinae, Eulecaniinae (Bioer Technology, Hangzhou, Chine), avec des programmes d'amplification ajustés en fonction de l'analyse phylogénétique (tableau S1). Les séquences ont été vérifiées visuellement à l'aide des différents amorces. En particulier, après une étape initiale de dénaturation à 95 °C pendant 15 min, UGENE [28] et aligné avec MUSCLE v3.8.31 [29]. Les relations phylogénétiques ont été 40 cycles ont été réalisés à 94 °C pendant 30 s, 90 s de recuit à 48 °C (COI et EF-1α), 55 reconstruits en utilisant des méthodes d'inférence bayésienne (BI) avec MRBAYES 3.2.7a [30]. L'évolution a été fixée selon les normes suggérées par les développeurs à un niveau général.

étape d'extension à 72 °C pendant 10 min. Les produits de PCR ont été visualisés dans un gel d'agarose-TAE à 1,5 %, puis séquencés selon la méthode Sanger chez Eurofins Genomics (Eurofins Genomics GmbH, Cologne, République de Corée).

modèle réversible dans le temps avec des taux distribués selon la méthode gamma et une proportion de sites invariants (« GTR + I + Γ »). Après quelques tentatives de réglage, la simulation de Monte Carlo par chaîne de Markov a été exécutée avec 2 000 000 de simulations, des arbres échantillonnés toutes les 100 générations et des diagnostics calculés toutes les 1000 générations pour obtenir un écart type des fréquences divisées inférieur à 0,01. Une analyse de vraisemblance maximale (ML) utilisant RAXML-HPC a été réalisée comme elle le faut, en utilisant l'algorithme GTRCATI comme modèle de substitution et 1000 bootstraps [31]. Les arbres phylogénétiques ont été visualisés avec FigTree v1.4.4 et l'image a été éditée avec Inkscape v0.92 à des fins de visualisation (disponible sur www.inkscape.org) (consulté le 15 mai 2023).

Tableau 1. Amorces PCR utilisées pour la caractérisation moléculaire de *Toumeyella parvicornis*.

Amorces	Séquence 5-3		Référence
	Avant	Inverse	
PCO-F1—LepR	CCTTCAACTAATCATAAAAATATYAG	TAAACTTCTGGAT CGTCCAAAAATCA	Amouroux et al. [23]
C-28SLong-FC-28SLong-R	GAGAGTTMAASAGTACGTGAAAC	TCGGARGGA ACCAGCTACTA	Amouroux et al. [23]
M3-rcM44.9	CACATYAACATTGTCGTSATYGG	CTTGATGAAAT CYCTGTGTCC	Cho et coll. [24]
M44-t-rcM53.2	CGAACGTGAACGTGGTATCAC *	GCAATGTGRGC []GTGTGGCA	Cho et coll. [24]
échelle_wg_F-LEPWG2	CTGGTTCGTGCACGACGMGRACSTGYTGATG	ACT[]CGCARCACCAR TGGAATGTRCA	Hardy et al. [25] Brower & DeSalle [26]
H3 HexA-f-HexA-r	ATGGCTCGTACCAAGCAGAGCGGC	ATATCCTTGGC ATGATGGTGAC	Zahniser et al. [27]

* modifié selon la séquence de *T. parvicornis*, voir texte.

3. Résultats

En suivant le protocole décrit dans la section Matériels et méthodes, 17,8 μ g de l'ADN génomique a été extrait des masses d'œufs, avec des longueurs d'onde de 260/230 nm et de 260/280 nm **ratios compris entre 1,7 et 2**, et dilués en série pour les amplifications PCR. Des cinq loci différents ont donné des séquences de la longueur attendue : 585 pb pour le COI, 825 pb pour le 28S, 1101 pb pour EF-1 α , 362 pb pour HexA et 409 pb pour wg. Les séquences ont été déposées dans la base de données nucléotidiques du NCBI sous les numéros d'accès : OQ996415, OQ991203, OR085314, OR004804 et OR004803, respectivement.

3.1. Relations phylogénétiques des COI

Une partie du locus mitochondrial COI a été largement utilisée comme code-barres ADN pour les insectes de toute sorte grâce à un taux de mutation suffisamment rapide pour distinguer même entre espèces étroitement apparentées [32]. La séquence COI partielle obtenue ici a montré un pourcentage d'identité de 91,40 % et une couverture de requête de 97 % pour les deux seules séquences COI correspondantes de *T. parvicornis* disponibles dans la base de données NCBI blastn et appartenant à des spécimens isolés au Canada en 2010 (numéros d'accès KR041198 et HQ974643.1, respectivement), suivi de *Neolecanium cornuparvum* (Thro) avec 88,24% d'identité et 96% de requête couverture. La séquence d'acides aminés traduite, en revanche, a donné 95,45 % et 94,44 % identique aux deux autres *T. parvicornis*, avec 92 % de couverture de la requête, suivi de *Parthenolecanium corni* (Bouché) (85,22 % d'identité, 94 % de couverture) et *N. cornuparvum* (93,43 % et 92 % couverture). Dans l'ensemble, la séquence d'acides aminés est enrichie en résidus petits et hydrophobes (en rouge), résidus hydroxyle, sulfhydryle ou amine (en vert), avec seulement six basiques (en magenta) et trois résidus acides (en bleu) (Figure 3).

Pour l'analyse, nous avons considéré les espèces appartenant aux groupes suivants : *Cardiococci-nae* (3 séquences), *Ceroplastinae* (2 séquences), *Coccinae* (43 séquences), *Eriopeltinae* (3 séquences), *Eulecaniinae* (9 séquences), *Myzolecaniinae* (4 séquences) et *Filippiinae* (4 séquences), pour un total de 68 espèces parmi les 7 sous-familles. Bayésien et ML les arbres déduits ont confirmé les relations étroites obtenues à partir de l'alignement BLASTn, montrant les trois *T. parvicornis* et le *N. cornuparvum* (sous-famille des *Myzolecaniinae*) au sein de la même

de *T. parvicornis* ; en conséquence, il s'est regroupé seul dans les arbres BI et ML, mais dans la branche des Coccinae (toutes les espèces appartenant à la tribu des Coccini) (Figures S3 et S4).

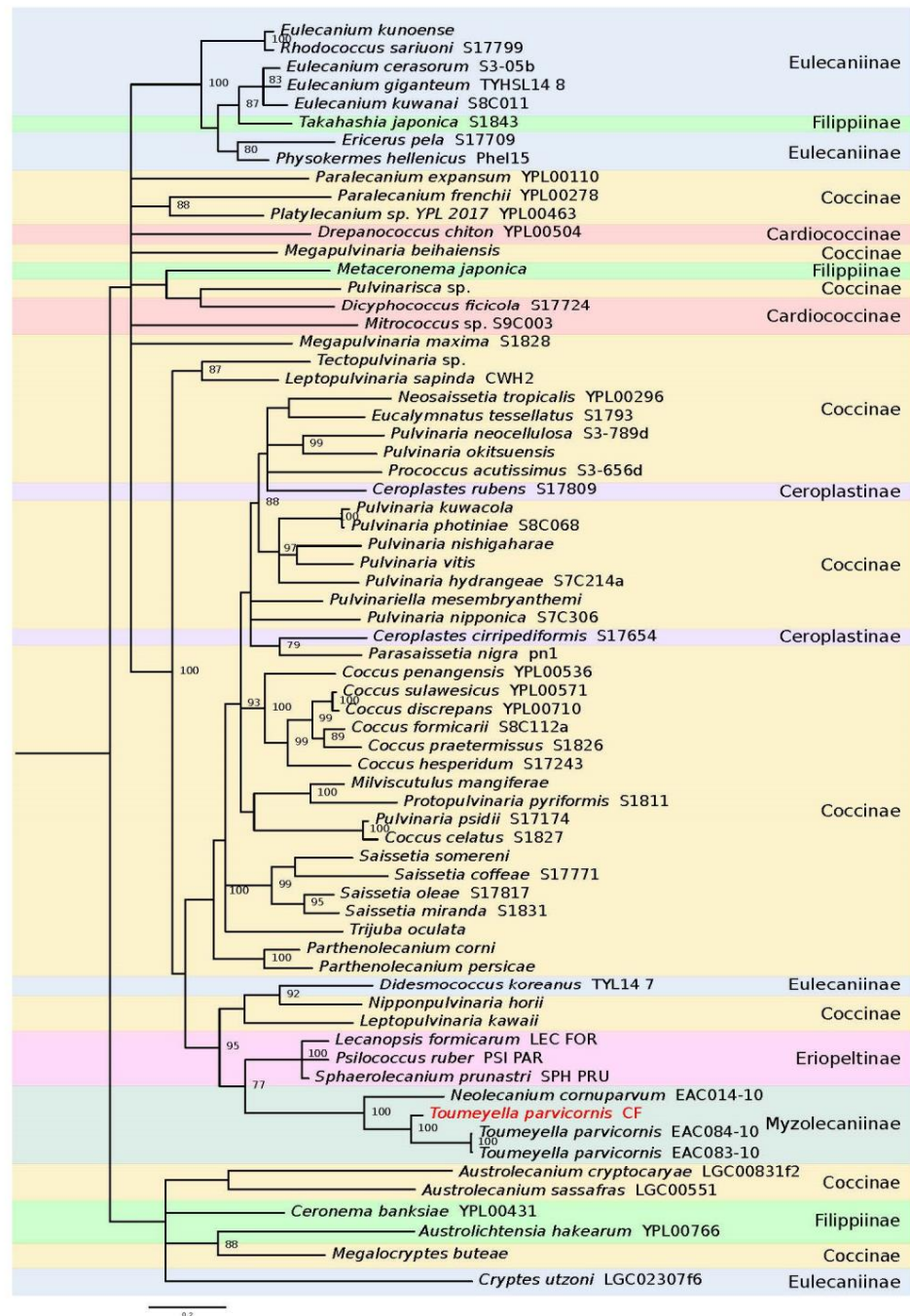


Figure 4. Arbre phylogénétique ML/BI Bayes des séquences de l'ARN ribosomique 28S (28S) de la famille Coccidae des Coccidae. Les couleurs indiquent les sous-familles morphologiques: Eulecaniinae (bleu), Filippiinae (vert), Coccinae (orange), Cardiococcinae (rouge), Ceroplastinae (jaune), Myzolecaniinae (bleu clair), et les autres (rose). *T. parvicornis* se trouve à l'extrémité inférieure de la branche de *T. parvicornis*. Les nombres dans les étiquettes des branches indiquent le pourcentage de probabilité postérieure bayésienne.

3.2. Relations phylogénétiques du gène de l'ARN ribosomique 28S

La séquence partielle du gène ribosomal 28S était identique à 88,4 % à celle du 28S de *P. corni*, avec une couverture de requête de 99 % ; identique à 86,96 % à celle de *Coccus hesperidum*, avec une couverture de requête de 99 % ; et, entre autres, identique à 86,9 % à celle de *Coccus formicarii* (vert), avec une couverture de requête de 100 %. Pour l'analyse, nous avons considéré les espèces appartenant aux groupes suivants : Cardiococcinae (2 séquences), Ceroplastinae (2 séquences), Coccinae (31 séquences), Eulecaniinae (7 séquences), Filippiinae (3 séquences) et Myzolecaniinae (1 séquence)

Sous-familles. À notre connaissance, aucune séquence n'est actuellement disponible pour les plus proches parents de *T. parvicornis* ; ainsi, il s'est regroupé seul dans les arbres BI et ML, mais dans la branche des Coccinae (principalement la tribu des Paralecaniini), des Cardiococcinae, des Eulecaniinae et des espèces Filippiinae (Figures 5 et S2). Ensuite, une branche distincte, plus loin dans l'arbre, a été regroupée avec un autre groupe de Coccinae (mais principalement composé de membres de la tribu des Coccini) et des Ceroplastinae.

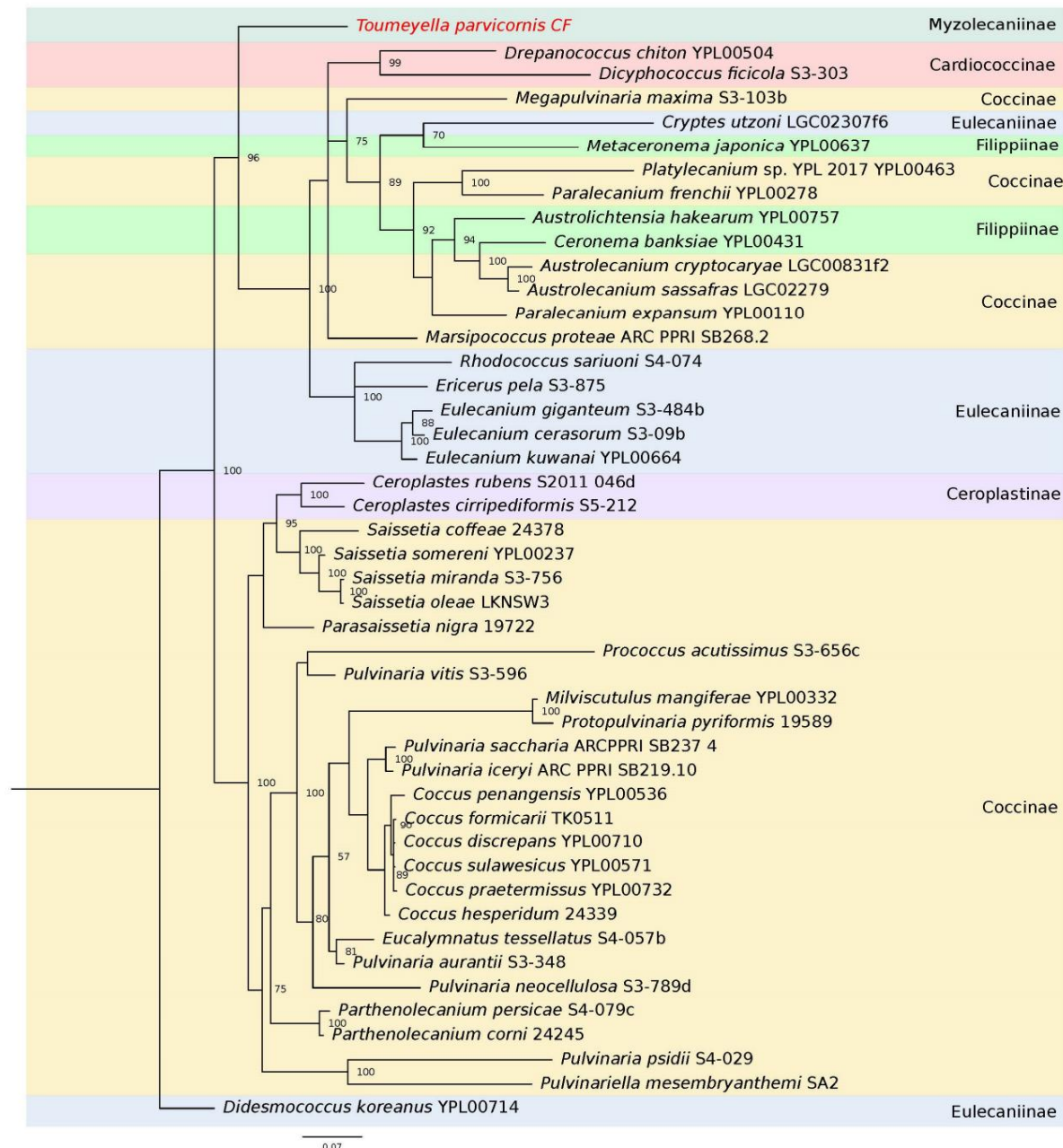


Figure 5. Arbre phylogénétique de Bayes du gène du fragment Ds de l'ARN 28S par la famille des Coccidae. Les couleurs indiquent les sous-familles logophogues: Eulecaniinae, Filippiinae, Coccinae, Cardiococcinae, Myzolecaniinae et Myzolecaniinae, auxquelles appartient *T. parvicornis*. En rouge se trouvent les Ceroplastinae, Eriopeltinae et Eulecaniinae, auxquelles appartient l'isolat de *T. parvicornis*. Les nombres dans les étiquettes des branches indiquent le pourcentage de bayésien post-isolat italien de *T. parvicornis*. Les nombres dans les étiquettes des branches indiquent le pourcentage de bayésien probabilité postérieure.

3.4. Caractérisation moléculaire du facteur d'élongation 1-Alpha

La paire d'amorces utilisée pour la première amplification de l'EF-1 α a donné un produit de 343 pb liés à l'extrémité 5 du gène, qui comprenait un fragment d'intron [33]. Cependant, ce produit ne correspond pas aux autres séquences EF-1 α de Coccidae disponibles sur la Base de données NCBI car leurs séquences ont été obtenues à l'aide d'oligonucléotides en aval. En effet, lorsqu'il a été envoyé vers la base de données Coccidae, le produit amplifié de 343 pb s'est aligné uniquement à *Ceroplastes* sp. IMV-2016 EF-1 α avec 80,18 % d'identité et une couverture de 95 % et à *Eulecanium kunoense* (Kuwana) avec 83,95 % d'identité et une couverture de seulement 47 %. Ainsi, l'amorce M44-1 de Cho et al. [24] a été modifiée selon la séquence d'extrémité 5 de

T. parvicornis et utilisé en combinaison avec rcM53.2 pour amplifier un produit final de 1101 pb. Une partie de cette longue séquence a ensuite été alignée sur les membres de la famille des Coccidae (*Ericerus pela* (Chavannes), *Platylecanium* sp., *Saissetia oleae*), avec lesquels partageaient un pourcentage moyen d'identité de 77% et une couverture de 54% au niveau des nucléotides, afin d'obtenir la

Arbres bayésiens et ML présentés dans les figures 6 et S5. *Toumeyella parvicornis* regroupée dans un branche proche des espèces Coccinae (appartenant principalement aux tribus Paralecaniini et Pulvinariini), *Cardiococcinae*, *Eulecaniinae* et *Filippiinae*.

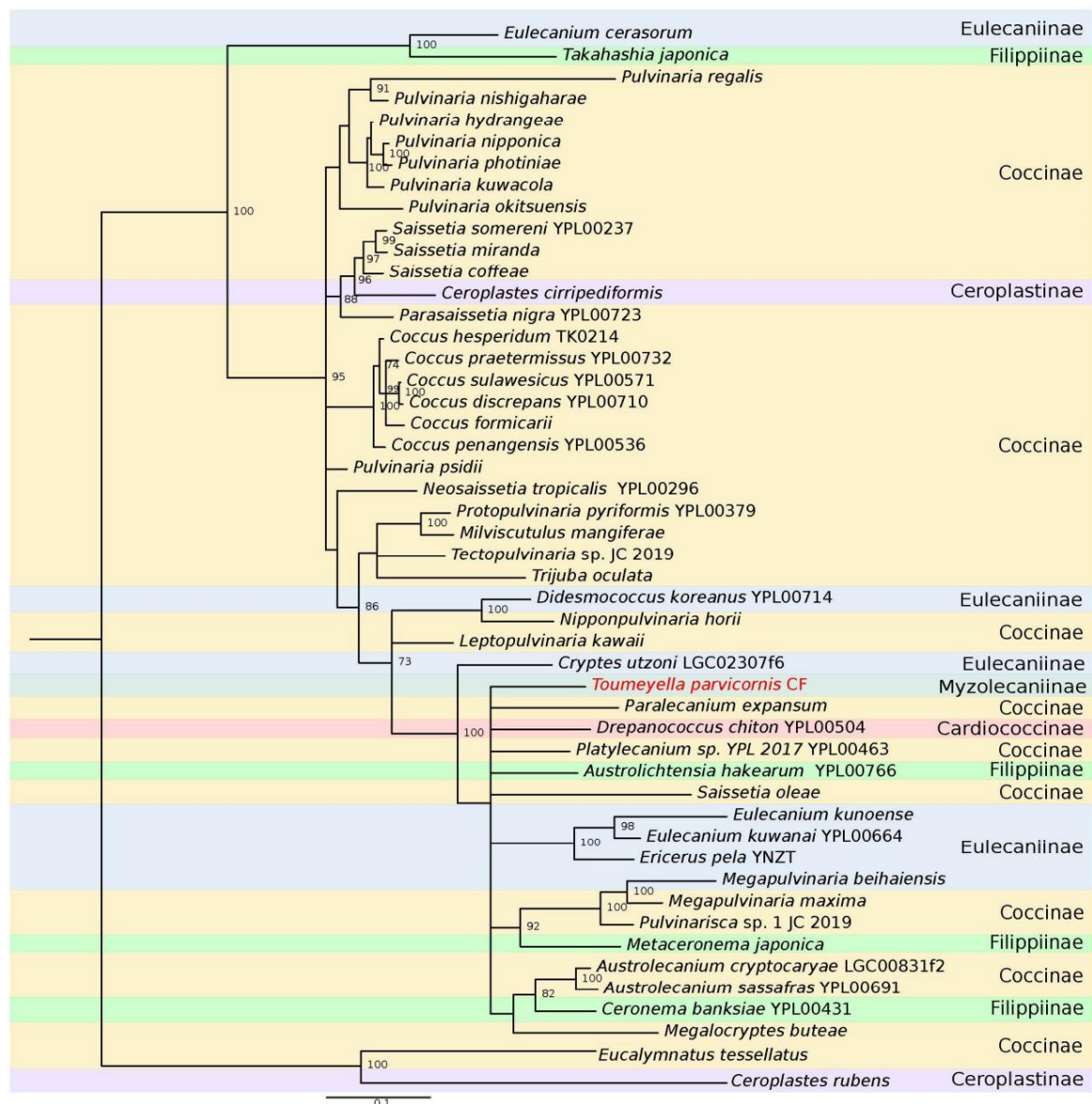


Figure 6. Arbre phylogénétique de MrBayes du gène du facteur d'élongation EF-1α parmi la famille des Coccidae. Figure 6. Arbre phylogénétique de MrBayes du gène du facteur d'élongation EF-1α parmi la famille des Coccidae.

Les couleurs indiquent les sous-familles morphologiques : Eulecaniinae, Filippiinae, Coccinae, Ceroplastinae, Coccinae et Myzolecaniinae auxquelles appartient *T. parvicornis*. L'isolat italien de *T. parvicornis* est indiqué en rouge. Les chiffres dans les nœuds indiquent les probabilités postérieures.

3.5. Caractérisation génétique de l'histone H3

L'arbre phylogénétique de HexA parmi les Coccidae n'a pas pu être obtenu, étant donné que trois séquences sont actuellement disponibles dans la base de données NCBI parmi les familles Coccidae, Pseudococcidae et Monophlebidae. De plus, aucune similitude n'a été trouvée entre HexA de *T. parvicornis* et *P. citri* de la famille des Pseudococcidae (numéro d'accès AM409515). En revanche, la séquence est identique à 85,93 %, avec une couverture de 90 %, à *Pulvinaria regalis* Canard (numéro d'accès GU066931, famille des Coccidae) et à 82,37 %, avec une couverture de 99 %, à un isolat de *Cryptocerya* sp. (EU087882, famille des Monophlebidae).

numéro AM409515). Au lieu de cela, la séquence est identique à 85,93 %, avec une couverture de 90 %, à *Pulvinaria regalis* Canard (numéro d'accès GU066931, famille Coccidae) et identique à 82,37 %, avec une couverture de 99 %, à un isolat de *Crypticerya* sp. (EU087882, famille Monophlebidae).

4. Discussion

Français La phylogénie moléculaire des insectes basée sur une collection de référence de séquences d'ADN obtenues à partir d'individus d'espèces identifiées de manière fiable a été utilisée pour la première fois il y a plus de 30 ans [34]. Depuis lors, cette approche a progressivement gagné en importance et en fiabilité, et le nombre de séquences de « codes-barres » a augmenté de manière exponentielle, de sorte qu'en 2020, Chesters a pu déduire la phylogénie de 69 000 espèces [35]. À ce jour, les données moléculaires sont largement utilisées pour décrypter la taxonomie complexe des insectes. Un exemple lié d'une manière ou d'une autre aux taxons impliqués dans cette étude a été publié par Normark et ses collègues [36], qui ont pu résoudre la classification taxonomique des insectes à écailles blindées appartenant aux Diaspididae en flanquant une identification morphologique minutieuse à la phylogénie moléculaire obtenue en concaténant les séquences des gènes COI et COII, EF-1 α , 28S.

Français La présente étude rapporte la première analyse moléculaire et phylogénétique de spécimens européens de *T. parvicornis* depuis sa première détection en 2014 [19]. Les résultats fournissent la séquence partielle de cinq gènes marqueurs (COI, 28S, EF-1 α , wg et HexA), dont quatre ont été séquencés pour la première fois. Comme point de référence pour notre étude, nous avons considéré COI car il est communément considéré comme le gène de codage à barres des insectes. De plus, une séquence du même gène était déjà disponible pour *T. parvicornis*, même si elle était extraite de spécimens différents. Dans nos résultats, l'analyse phylogénétique COI a montré une relation entre le *T. parvicornis* italien et les deux spécimens d'Amérique du Nord, ainsi que *N. cornuparvum*. Ces résultats corroborent l'hypothèse selon laquelle *T. parvicornis* et *N. cornuparvum* font partie de deux genres controversés, *Neolecanium* étant considéré comme un synonyme, par certains auteurs, du genre *Toumeyella* [1,37]. Certains exemples de fortes similitudes sont déjà représentés par le cas des espèces *N. leucaenae* (Cockerell), *Toumeyella cerifera* (Ferris) et *T. sonorensis* (Cockerell) qui sont désormais considérées comme faisant partie d'un nouveau genre commun nommé *Neotoumeyella* Kondo & Williams [38].

De plus, l'arbre COI a révélé des affinités phylogénétiques entre les espèces qui sont partiellement conformes à la classification morphologique classique des Coccidae proposée par Miller et Hodgson [39] et à la phylogenèse menée par Choi et Lee [40].

Français Dans notre analyse, le taxon *Myzolecaniinae* était plus proche des groupes *Eriopeltinae* et *Coccinae*, et, conformément à Choi et Lee [40], nous avons constaté que la sous-famille *Eulecaniinae* est également proche du groupe *Filippiinae*, et que *Cardiococcinae* et *Ceroplastinae* partagent une similitude avec le groupe *Coccinae*. Comme l'avaient supposé à l'origine Miller et Hodgson [39] et confirmé par Lin et al. [41] et Choi et Lee [40], le groupe *Coccinae* nécessite une révision taxonomique, en particulier en ce qui concerne les tribus *Paralecaniini* et *Pulvinariini*, en raison de leur nette distance par rapport au reste des tribus *Coccinae*. En effet, nos résultats ont également montré une séparation d'*Austrolecanium cryptocaryae*, *A. sassafra* et *Megalocryptes buteae* de la tribu *Paralecaniini* du groupe principal *Coccinae* en se regroupant avec des membres des sous-familles *Eulecaniinae*, *Filippiinae* et *Cardiococcinae*.

Dans les arbres phylogénétiques du gène 28S, deux groupes principaux sont formés : l'un avec les sous-familles *Coccinae* et *Ceroplastinae*, conformément à l'association phylogénétique précédemment décrite [23,41], et une seconde branche avec les sous-familles *Eulecaniinae*, *Coccinae*, *Filippiinae*, *Cardiococcinae*, et le seul membre *Myzolecaniinae*, *T. parvicornis*. Il est intéressant de noter que l'arbre phylogénétique construit sur les séquences de l'EF-1 α a montré le même regroupement.

Les résultats de *Wg* ont confirmé les affinités évidentes dans l'arbre COI, même si ce n'est qu'avec la sous-famille *Coccinae*, et en particulier avec les membres appartenant à la tribu *Coccini*, puisque les séquences de gènes *wg* d'autres sous-familles et espèces n'étaient pas disponibles dans la base de données NCBI. La comparaison du gène *HexA* n'a été possible qu'entre quatre espèces, dont une seule appartenant à la famille des Coccidae, et précisément *P. regalis* (Coccidae, *Coccinae*) a montré la plus grande similitude.

Outre la phylogénie, il convient de noter que l'approche moléculaire peut fournir des informations précieuses des informations également sur l'histoire évolutive de groupes taxonomiques entiers [42].

Toumeyella parvicornis représente une émergence phytosanitaire grave, compte tenu de son impact élevé sur sa plante hôte, *P. pinea* [13]. Le risque majeur est lié à un changement radical du paysage côtier dans le bassin méditerranéen, où le pin parasol est largement répandu [43].

Français En raison de cet impact environnemental potentiellement dévastateur, plusieurs tentatives ont déjà été faites pour mieux comprendre et contrôler ce ravageur [16,44], mais les stratégies de contrôle les plus puissantes sont probablement « inscrites dans leur code génétique » [45]. En effet, plus de 95 % des séquences déposées dans la base de données du système BOLD étaient uniques et hautement distinctives dans la séquence COI [22,32]. Le code-barres ADN utilisant la séquence COI a permis l'identification de nouvelles espèces, en particulier lorsque la caractérisation morphologique est difficile ou pourrait conduire à des erreurs d'identification des espèces [46]. Le code-barres ADN mérite d'être amélioré pour améliorer la gestion des ravageurs dans les années à venir [47,48], car des outils génétiques ont déjà été appliqués comme stratégies de biosurveillance, en particulier pour la gestion des ravageurs exotiques [45]. À titre d'exemple, le code-barres COI a récemment été appliqué pour discriminer les cochenilles farineuses (famille Pseudococcidae) affectant les plants de café au Brésil afin de développer une gestion intégrée des ravageurs (IPM) et des interceptions de quarantaine tempestive [46]. Il est intéressant de noter que des méthodes de détection rapides peuvent être facilement dérivées des données moléculaires utilisées en phylogénie. À titre d'exemple, un test spécifique basé sur la PCR a été développé sur la séquence du gène ribosomal 28S de l'espèce *Aspidiotus rigidus* Reyne (Hemiptera : Diaspididae), la fausse cochenille du cocotier, permettant une méthode de détection rapide et abordable capable de la distinguer des autres espèces du même genre récupérables dans les plantations de cocotiers aux Philippines et fournissant un outil clé aux agriculteurs pour une gestion appropriée et opportune de ce

De plus, l'analyse des séquences de gènes marqueurs peut être utilisée pour décrire la structure génétique de différentes populations d'une espèce nuisible lors d'une épidémie, comme pour COI et EF-1 α pour le même *A. rigidus* aux Philippines [50], fournissant des informations précieuses sur les voies de leur dispersion. Considérant le scénario d'expansion potentielle de *T. parvicornis* [44], les séquences nouvellement déposées peuvent déjà être utiles pour accélérer ses stratégies de détection et de contrôle. De plus, d'autres études génétiques sur des spécimens de *T. parvicornis* provenant des différentes zones de présence dans le monde devraient nous permettre de retracer son origine et les voies d'entrée probables. Ces informations, lorsqu'elles seront disponibles, seront utiles pour expliquer pourquoi ce ravageur s'est adapté et s'est propagé rapidement dans la péninsule italienne, combien de points d'entrée l'espèce avait et comment son expansion peut être empêchée [51]. Par exemple, l'approche moléculaire pourrait être utilisée pour expliquer la propagation de ce ravageur en Italie, où le premier foyer italien a été signalé dans la région de Naples [19] et presque indépendamment dans la zone environnante de Rome, vers le bord de mer [16,17]. En fait, à ce jour, il n'existe pas de voie de diffusion reliant les deux zones, et seule une étude de la relation génétique entre les individus des deux populations peut expliquer ce qui s'est réellement passé. Cette méthodologie s'est déjà avérée efficace dans d'autres études, comme par exemple pour *Halyomorpha halys* (Stål) (Hemiptera, Pentatomidae), où les voies d'entrée ont été déterminées grâce à De plus, le nombre de générations annuelles que l'insecte accomplit dans un climat méditerranéen devrait soulever une question supplémentaire. Étant donné la présence du ravageur en Amérique du Nord et en Amérique centrale et la diversité du climat dans ces régions, on peut se demander si *T. parvicornis* s'est rapidement adapté à l'Italie centrale parce que la zone de provenance présentait des conditions environnementales similaires.

Les réponses à ces questions ouvertes seraient très utiles pour renforcer le contrôle problématique des matières commerciales entrantes et devenir une étude de cas de référence dans la gestion de la propagation d'insectes nuisibles similaires.

5. Conclusions

Cette étude moléculaire fournit cinq nouvelles séquences génétiques de la population italienne de *T. parvicornis*. La séquence COI correspond aux seules autres séquences COI disponibles de *T. parvicornis* extraites de spécimens nord-américains, tandis que les quatre autres séquences sont

Cette découverte est totalement nouvelle pour la science. L'analyse phylogénétique a confirmé l'appartenance de *T. parvicornis* à la sous-famille des Myzolecaninae et sa proximité avec la sous-famille des Coccinae. Les résultats présentés dans ce travail pourraient simplifier les pratiques d'identification du ravageur dans les zones urbaines et naturelles de pin parasol et ouvrir la voie à de futures évaluations génétiques des populations pour mieux comprendre les voies d'invasion.

Documents supplémentaires : Les informations complémentaires suivantes peuvent être téléchargées à l'adresse <https://www.mdpi.com/article/10.3390/f14081585/s1>, Figure S1 : Arbre phylogénétique RAxML de la sous-unité I de la cytochrome oxydase (COI) dans la famille des Coccidae. Les couleurs indiquent les sous-familles morphologiques : Eulecaniinae, Filippiinae, Coccinae, Cardiococcinae, Ceroplastinae, Eriopeltinae et Myzolecaniinae, auxquelles appartient *T. parvicornis*. En rouge se trouve l'isolat italien de *T. parvicornis*. Les valeurs de bootstraps sont indiquées dans les étiquettes des branches ; Figure S2. Arbre phylogénétique RAxML du gène D du fragment 28S de l'ARNr dans la famille des Coccidae. Les couleurs indiquent les sous-familles morphologiques : Eulecaniinae, Filippiinae, Coccinae, Cardiococcinae, Ceroplastinae, Eriopeltinae et Myzolecaniinae, auxquelles appartient *T. parvicornis*. En rouge se trouve l'isolat italien de *T. parvicornis*. Les valeurs bootstrap sont indiquées dans les étiquettes des branches ; Figure S3 : Arbre phylogénétique MrBayes du gène wingless parmi la famille Coccidae et *T. parvicornis*. Les nombres dans les étiquettes des branches indiquent le pourcentage de probabilité postérieure bayésienne ; Figure S4 : Arbre phylogénétique RAxML du gène wingless parmi la famille Coccidae et *T. parvicornis*. Les nombres dans les étiquettes des branches indiquent les valeurs bootstrap ; Figure S5 : Arbre phylogénétique RAxML du gène du facteur d'élongation EF-1 α parmi la famille Coccidae et *T. parvicornis*. Les couleurs indiquent les sous-familles morphologiques : Eulecaniinae, Filippiinae, Coccinae, Cardiococcinae, Ceroplastinae, Eriopeltinae et Myzolecaniinae, auxquelles appartient *T. parvicornis*. En rouge se trouve l'isolat italien de *T. parvicornis*. Les nombres dans les étiquettes des branches indiquent les valeurs bootstrap ; Tableau S1 : Liste des espèces et de leurs numéros d'accèsion associés utilisés pour l'analyse phylogénétique.

Contributions des auteurs : Conceptualisation, NDS, ST, FB, LR, AM, MC et SS ; méthodologie, NDS, ST, FB et LR ; logiciel, ST et LR ; analyse formelle, NDS, ST, FB et LR ; investigation, NDS, ST et FB ; ressources, AM, MC et SS ; conservation des données, NDS, ST et LR ; rédaction — préparation de l'ébauche originale, NDS et ST ; rédaction — révision et édition, NDS, ST, FB, LR, AM, MC et SS ; visualisation, NDS, ST et LR ; supervision, AM, MC et SS ; administration du projet, MC et SS ; acquisition de financement, SS Tous les auteurs ont lu et accepté la version publiée du manuscrit.

Financement : NDS est financé par la Région du Latium (Département de l'Agriculture) et l'Università degli Studi della Tuscia (Italie). ST est financé par l'initiative italienne MIUR (Ministère de l'Éducation, de l'Université et de la Recherche) « Département d'Excellence » (Loi 232/2016). LR est financé par le MUR italien (Ministère de l'Université et de la Recherche) dans le cadre du Fonds social européen REACT-EU - Programme national pour la recherche et l'innovation 2014-2020 et par la Commission européenne au titre de la subvention n° 101102281, Projet « PestFinder », appel HORIZON-MSCA-2022-PF-01.

Déclaration de disponibilité des données : Les séquences nucléotidiques liées à ce travail ont été déposées et sont disponibles dans la base de données NCBI sous les numéros d'accès : OQ996415, OQ991203, OR085314, OR004804 et OR004803.

Remerciements : Les auteurs remercient les deux évaluateurs pour leurs précieux commentaires et suggestions qui ont grandement contribué à l'amélioration de ce manuscrit. Les auteurs remercient le « Reparto Carabinieri Biodiversità di Roma », en particulier Danilo Bucini et Roberta Zini pour leur soutien, et Simone Menegoni pour son soutien pendant l'activité sur le terrain. Tous les calculs et analyses bioinformatiques ont été réalisés au centre de calcul scientifique DAFNE HPC de l'Università degli Studi della Tuscia.

Conflits d'intérêts : Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Références

1. Hodgson, C.J. Chapitre 1.1.3.4. Classification des Coccidae et des familles de cochenilles apparentées. Dans *Insectes à cochenilles molles : leur biologie, leurs ennemis naturels et leur contrôle* ; Ben-Dov, Y., Hodgson, C.J., éd. ; Elsevier : Amsterdam, Pays-Bas, 1997 ; pp. 157–201.
2. Gill, R.; Kosztarab, M. Chapitre 3.1. Importance économique. Dans *Insectes à cochenilles molles : leur biologie, leurs ennemis naturels et leur contrôle* ; Ben-Dov, Y., Hodgson, C.J., éd. ; Elsevier : Amsterdam, Pays-Bas, 1997 ; pp. 161–163.
3. Pellizzari, G.; Germain, J.F. Chapitre 9.3. Écailles (Hemiptera, Superfamily Coccoidea). *BioRisk 4 Alien Terr. Arthropods Eur.* 2010, 4, 475–510.

4. Dos Santos, MM; Carvalho Reis, LA; FERREIRA, EA; Rocha De Souza, MW; GOMES, JB; DA SILVA, IM; SERRÃO, JE; SOARES, MA; Zanoncio, JC Aspects physiologiques d'*Olea europaea* (Oleaceae) attaquée par *Saissetia oleae* (Hemiptera : Coccidae). *Floride Entomol.* 2022, 105, 206–210. [\[CrossRef\]](#)
5. Assouguem, A.; Kara, M.; Mechchate, H.; Alzain, MN; Noman, OM; Imtara, H.; Hano, C.; Ibrahim, MN; Benmessaoud, S.; Farah, A.; et al. Evaluation de l'effet de différentes concentrations de Spirotetramat sur la cochenille Diaspine *Parlatoria ziziphi* dans les vergers d'agrumes. *Agronomie* 2021, 11, 1840. [\[CrossRef\]](#)
6. Gupta, RK; Kour, R.; Gani, M.; Guroo, MA; Bali, K. Potentiel des bactéries dégradant la cire pour la gestion de la cochenille des agrumes, *Planococcus citri*. *BioControl* 2022, 67, 49–61. [\[CrossRef\]](#)
7. Hamon, A.; Williams, M. Les cochenilles molles de Floride (Homoptera : Coccoidea : Coccidae); Département de l'agriculture et de l'aquaculture de Floride Services aux consommateurs, Division de l'industrie végétale : Gainesville, FL, États-Unis, 1984 ; Volume 11.
8. Bi, S.; Qian, G.; Song, X.; Zhang, S.; Zhou, X.; Zou, Y. Études sur les ennemis naturels dominants de *Ceroplastes rubens* Maskell dans les plantations de thé à différentes altitudes. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 2022, 42, 2845–2852. [\[CrossRef\]](#)
9. Villanueva, RT ; Gauthier, N. ; Ahmed, MZ Premier signalement de *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera : Coccidae) dans le chanvre industriel en Kentucky. *Fla. Entomol.* 2020, 103, 514–515.
10. Gallego, D. ; Riba, JM; Molina, N. ; González, E. ; Di Sora, N. ; Nuñez, L. ; Clos, UN M; Comparini, C. ; Leza, M. Les invasions silencieuses des escolitidés : le cas du genre *Xylosandrus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae). *Foresterie* 2020, 78, 78–83.
11. Sax, DF; Brown, JH Le paradoxe de l'invasion. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 2000, 9, 363–371. [\[CrossRef\]](#)
12. Williams, M.; Kondo, T. État et composition actuelle du genre de cochenilles *Toumeyella* (Hemiptera : Coccidae). Dans les actes du XIe Symposium international d'études sur les cochenilles, Oeiras, Portugal, 24–27 septembre 2007 ; pp.
13. Bragard, J. ; Baptista, P. ; Chatzivassiliou, E. ; Di Serio, F. ; Gonther, P. ; Jacques Miret, JA; Fejer Justesen, A. ; Magnusson, CS; Milonas, P. ; Navas-Cortés, JA; et coll. Catégorisation des ravageurs de *Toumeyella parvicornis*. *EFSA J.* 2022, 20, e07146.
14. OEPP. Disponible en ligne : <https://gd.eppo.int/taxon/TOUMPA/hosts> (consulté le 8 juin 2023).
15. Garonna, A.; Foscari, A.; Russo, E.; Jesu, G.; Somma, S.; Cascone, P.; Guerrieri, E. La propagation de la cochenille du pin non indigène *Toumeyella parvicornis* (Hemiptera : Coccidae) en Europe : une menace majeure pour *Pinus pinea* dans le sud de l'Italie. *iForest—Biogeosciences For.* 2018, 11, 628–634. [\[CrossRef\]](#)
16. Di Sora, N. ; Rossini, L. ; Contarini, M. ; Chiarot, E. ; Speranza, S. Traitement endotherapeutique pour contrôler *Toumeyella parvicornis* Cockerell Infestations sur *Pinus pinea* L. *Pest Manag. Sci.* 2022, 78, 2443–2448. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Di Sora, N. ; Rossini, L. ; Contarini, M. ; Mastrandrea, G. ; Speranza, S. *Toumeyella parvicornis* versus abamectine endotherapeutique : Trois techniques, 1 an après. *Pest Manag. Sci.* 2023, sous presse. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Miller, GL; Williams, ML Tests sur des cochenilles molles mâles (Homoptera : Coccidae) d'Amérique du Nord du Mexique, y compris un Clé des espèces. *Syst. Entomol.* 1990, 15, 339–358. [\[CrossRef\]](#)
19. Garonna, AP; Scarpato, S.; Vicinanza, F.; Espinosa, B. Premier signalement de *Toumeyella parvicornis* (Cockerell) en Europe (Hemiptera : Coccidae). *Zootaxa* 2015, 3949, 142–146. [\[CrossRef\]](#)
20. Williams, M.; Hodges, G. Chapitre 1.1.3.3 Caractères taxonomiques — Nymphes. Dans *Insectes à écailles molles — Leur biologie, leurs ennemis naturels et leurs Contrôle*; Ben-Dov, Y., Hodgson, CJ, éd. ; Elsevier : Amsterdam, Pays-Bas, 1997 ; pp. 143–156.
21. Bold System. Disponible en ligne : https://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms (consulté le 8 juin 2023).
22. Ratnasingham, S.; Hebert, PDN Bold : Le système de données du code-barres de la vie (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol. Ecol. Notes* 2007, 7, 355–364. [\[CrossRef\]](#)
23. Amant, P. ; Crochard, D. ; Germain, JF ; Sangle, M. ; Ampuero, J. ; Groussier, G. ; Kreiter, P. ; Malausa, T. ; Zaviezo, T. Diversité génétique des écailles blindées (Hemiptera : Diaspididae) et des écailles molles (Hemiptera : Coccidae) au Chili. *Sci. représentant* 2017, 7, [\[CrossRef\]](#)
24. Cho, S.; Mitchell, A.; Regier, JC; Miller, C.; Poole, RW; Friedlander, TP; Zhao, S. Un gène nucléaire hautement conservé pour la phylogénétique de bas niveau : le facteur d'élongation 1 alpha récupère l'arbre basé sur la morphologie pour les papillons héliothines. *Mol. Biol. Évol.* 1995, 12, 650–656.
25. Hardy, NB; Gullan, PJ; Hodgson, CJ Une classification au niveau de la sous-famille des cochenilles (Hemiptera : Pseudococcidae) basée sur données moléculaires et morphologiques intégrées. *Syst. Entomol.* 2008, 33, 51–71. [\[CrossRef\]](#)
26. Brower, AVZ; DeSalle, R. Schémas de divergence des séquences d'ADN mitochondrial et nucléaire chez les papillons nymphalides : l'utilité des papillons sans ailes comme source de caractères pour l'inférence phylogénétique. *Insect Mol. Biol.* 1998, 7, 73–82. [\[CrossRef\]](#)
27. Zahniser, JN; Dietrich, CH Phylogénie, évolution et biogéographie historique de la tribu des cicadelles des prairies Chiasmini (Hemiptera : Cicadellidae : Deltocephalinae). *Zool. J. Linn. Soc.* 2015, 175, 473–495. [\[CrossRef\]](#)
28. Okonechnikov, K. ; Golosova, O. ; Fursov, M. ; Varlamov, A. ; Vaskin, Y. ; Efremov, I. ; German Grehov, O.G. ; Kandrov, D. ; Raspoutine, K. ; Syabro, M. ; et coll. Unipro UGENE : Une boîte à outils bioinformatique unifiée. *Bioinformatique* 2012, 28, 1166–1167. [\[Référence croisée\]](#)
29. Edgar, RC MUSCLE : Alignement de séquences multiples avec une grande précision et un débit élevé. *Nucleic Acids Res.* 2004, 32, 1792–1797. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Ronquist, F.; Teslenko, M.; Van Der Mark, P.; Ayres, DL; Darling, A.; Höhna, S.; Larget, B.; Liu, L.; Suchard, MA; Huelsenbeck, JP MrBayes 3.2 : Inférence phylogénétique bayésienne efficace et choix de modèle dans un grand espace de modèles. *Syst. Biol.* 2012, 61, 539–542. [\[CrossRef\]](#)
31. Stamatakis, A. RAxML version 8 : un outil pour l'analyse phylogénétique et la post-analyse de grandes phylogénies. *Bioinformatique* 2014, 30, 1312–1313. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

32. Hebert, PDN; Ratnasingham, S.; De Waard, JR Barcoding animal life: divergences de la sous-unité 1 de la cytochrome c oxydase espèces étroitement apparentées. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B—Biol. Sci.* 2003, 270, 96–99. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Gibson, JF; Kelso, S.; Jackson, MD; Kits, JH; Miranda, GFG; Skevington, JH Amorces d'amplification par réaction en chaîne par polymérase spécifiques aux diptères utiles dans la recherche phylogénétique moléculaire. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 2011, 104, 976–997. [\[CrossRef\]](#)
34. Wheeler, WC La systématique de l'ADN ribosomique des insectes. Dans *La hiérarchie de la vie : molécules et morphologie dans l'analyse phylogénétique*; Fernholm, B., Bremer, K., Jornvall, H., éd.; Elsevier : Amsterdam, Pays-Bas, 1989; pp. 307–321.
35. Chesters, D. La phylogénie des insectes à l'ère des données. *Syst. Entomol.* 2020, 45, 540–551. [\[CrossRef\]](#)
36. Normark, BB; Okusu, A.; Morse, GE; Peterson, DA; Ilioka, T.; Schneider, SA Phylogénie et classification des cochenilles blindées insectes (Hemiptera : Coccoomorpha : Diaspididae). *Zootaxa* 2019, 4616, 1–98. [\[CrossRef\]](#)
37. Kondo, T.; Williams, M. Redescription de la cochenille molle mexicaine *Toumeyella sallei* (Signoret, 1874), Comb. n. (Insectes : Hémiptères : Coccidae). *Anne. Musée d'histoire naturelle Vienne. Ser. B pour Zool.* 2003, 105, 211–215.
38. Kondo, T.; Williams, ML Redescriptions de *Neolecanium leucaenae* Kll., *Toumeyella cerifera* Ferris et *T. sonorensis* Kll. et Parrott et leur transfert à *Neotoumeyella* gen. nov. (Hemiptera : Coccidae), avec descriptions de deux nouvelles espèces du sud-est des États-Unis et de Colombie, Amérique du Sud. *Int. J. Insect Sci.* 2020, 1, S2827.
39. Miller, DR; Hodgson, CJ Chapitre 1.1.3.7 Phylogénie. Dans *Insectes à cochenilles molles — leur biologie, leurs ennemis naturels et leur contrôle*; Ben-Dov, Y., Hodgson, CJ, éd.; Elsevier : Amsterdam, Pays-Bas, 1997; pp. 229–250.
40. Choi, J.; Lee, S. Phylogénie moléculaire de la famille des Coccidae (Hemiptera, Coccoomorpha), avec une discussion sur leurs oviposites creux. *Syst. Entomol.* 2020, 45, 396–414. [\[CrossRef\]](#)
41. Lin, YP; Kondo, T.; Gullan, P.; Cook, LG Délimitation des genres de cochenilles : preuves moléculaires et morphologiques de la synonymisation de *Taiwansaissetia* Tao, Wong et Chang avec *Coccus* Linnaeus (Hemiptera : Coccoidea : Coccidae). *Syst. Entomol.* 2013, 38, 249–264. [\[CrossRef\]](#)
42. Oh, M.; Kim, S.; Lee, S. Revisiter la phylogénie de la famille Miridae (Heteroptera : Cimicomorpha), avec des informations actualisées sur son origine et l'évolution de son cycle biologique. *Mol. Phylogenetics Evol.* 2023, 184, 107796. [\[CrossRef\]](#)
43. Caudullo, G.; Welk, E.; Jesús, S.-M.-A. Cartes chorologiques des principales espèces ligneuses européennes. *Data Br.* 2017, 12, 662–666. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Di Sora, N.; Mannu, R.; Rossini, L.; Contarini, M.; Gallego, D.; Speranza, S. Utilisation de modèles de distribution d'espèces (SDM) pour estimer l'adéquation des zones non indigènes méditerranéennes européennes à l'établissement de *Toumeyella parvicornis* (Hemiptera : Coccidae). *Insectes* 2023, 14, 46. [\[CrossRef\]](#)
45. Hamelin, RC; Roe, AD Biosurveillance génomique des ennemis exotiques envahissants des forêts : une histoire écrite en code. *Appl.* 2020, 13, 95–115. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Oliveira, PV; dos Santos, AR; Olive, EL; BRITTO, KB; de Almeida, FAN; PACHECO DA SILVA, VC; MACHADO, CB; Fornazier, MJ; VENTURA, JA; Culik, député; et coll. Délimitation des espèces moléculaires à l'aide de codes-barres COI de cochenilles (Hemiptera : Pseudococcidae) provenant de plants de café d'Espírito Santo, Brésil. *Diversité* 2023, 15, 305. [\[CrossRef\]](#)
47. Wang, XB; Deng, J.; Zhang, JT; Zhou, QS; Zhang, YZ; Wu, SA Code-barres ADN des écailles molles communes (Hemiptera : Coccoidea : Coccidae) en Chine. *Taureau. Entomol. Rien.* 2015, 105, 545–554. [\[Référence croisée\]](#)
48. Chua, PYS; Bourlat, SJ; Ferguson, C.; Korlevic, P.; Zhao, L.; Ekrem, T.; Meier, R.; Lawniczak, MKN L'avenir de la surveillance des insectes basée sur l'ADN. *Tendances Genet.* 2023, 39, 531–544. [\[Référence croisée\]](#)
49. Latina, RA; Lantican, DV; Guerrier, MS; Rubico, CE; Laquinta, JF; Caoili, BL Marqueurs basés sur la PCR spécifiques à l'espèce pour la détection rapide d'*Aspidiotus rigidus* Reyne (Hemiptera : Diaspididae). *J. Asie-Pac. Entomol.* 2022, 25, 101848. [\[CrossRef\]](#)
50. Serrana, JM; Ishitani, N.; Carvajal, TM; Almarinez, BJM; Barrion, AT; Amalin, DM; Watanabe, K. Dévoiler la structure génétique des populations épidémiques de cochenilles du cocotier (*Aspidiotus rigidus* Reyne) aux Philippines. *Insectes* 2019, 10, [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
51. Hulme, P. Les voies d'invasion à la croisée des chemins : défis politiques et de recherche pour la gestion des introductions d'espèces exotiques. *J. Appl. Ecol.* 2015, 52, 1418–1424. [\[CrossRef\]](#)
52. Cesari, M.; Maistrello, L.; Ganzerli, F.; Dioli, P.; Rebecchi, L.; Guidetti, R. Une invasion d'insectes exotiques nuisibles est en cours : voies potentielles d'origine des populations de punaises marbrées *Halyomorpha halys* en Italie. *J. Pest Sci.* 2015, 88, 1–7.

Avis de non-responsabilité/Note de l'éditeur : Les déclarations, opinions et données contenues dans toutes les publications sont uniquement celles des auteurs et contributeurs individuels et non celles de MDPI et/ou des éditeurs. MDPI et/ou les éditeurs déclinent toute responsabilité pour toute blessure aux personnes ou aux biens résultant des idées, méthodes, instructions ou produits mentionnés dans le contenu.