

# La cochenille du coton se propage le long de la Méditerranée: Première identification du parasite dans des tomates italiennes

**Michele Ricupero, Antonio Biondi, Agatino Russo, Lucia Zappalà et Gaetana Mazzeo.**

Département d'Agriculture, d'Alimentation et d'Environnement, Université de Catane, 95123 Catane, Italie.

\* Correspondance: [mricupero@unict.it](mailto:mricupero@unict.it)

**Résumé:** De nos jours, la mondialisation entraîne une série de conséquences négatives pour la durabilité des systèmes agricoles, tels que les cultures de solanacées. Ici, nous rapportons pour la première fois la présence d'une cochenille polyphage invasive, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae), dans les cultures solanacées italiennes, c'est-à-dire la tomate et le poivron. Pour cela, nous avons analysé au niveau morphologique et moléculaire divers spécimens collectés en Sicile durant l'automne 2020. Une analyse phylogénétique menée en comparant une portion ≈800 pb du génome mitochondrial de plusieurs populations mondiales, suggère que la population introduite pourrait être originaire d'Asie. Cette étude représente la première étape vers l'établissement d'un programme de surveillance et de contrôle durable de *P. solenopsis* en Europe. programme de contrôle durable en Europe.

**Extrait:** La cochenille du coton *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: *Pseudococcidae*) est un ravageur envahissant extrêmement polyphage. ravageur invasif extrêmement polyphage qui peut causer de sérieux dommages aux plantes cultivées. Ce ravageur est originaire d'Amérique mais a envahi les pays asiatiques et méditerranéens au cours des dernières décennies. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill., Solanaceae) est une culture économiquement importante dans le monde entier et sa production peut être menacée par de nombreux insectes nuisibles. Peut être menacée par de nombreux insectes nuisibles dont *P. solenopsis*. Nous avons enregistré pour la première fois *P. solenopsis* en association avec la tomate dans des cultures sous serre et des paysages urbains en Sicile (Italie) pendant la saison d'automne 2020. L'espèce a été identifiée comme étant *P. solenopsis* sur la base de ses caractères morphologiques et de l'amplification de DNA d'une protéine morphologiques et l'amplification de DNA d'une portion ≈800 bp de la cytochrome oxydase mitochondriale sous-unité I (mtCOI). L'analyse phylogénétique entre les séquences mtCOI de *P. solenopsis* obtenues avec celles déjà disponibles dans GenBank suggère les pays asiatiques comme une source potentielle de nouvelle introduction. C'est le premier record de *P. solenopsis* attaquant des plants de tomate en Italie et il peut représenter une menace potentielle pour la production de tomates en Italie. Une menace potentielle pour la production de tomates en Europe et dans les pays voisins. Pour cette raison, des actions doivent être prises pour éviter la propagation incontrôlée de cette espèce exotique.

Mots clés: espèces exotiques; invasions biologiques; Coccinea; cochenille du coton; Homoptera; pseudococcidae; cochenilles; durabilité.

# 1. Introduction

Les invasions biologiques sont l'un des principaux défis auxquels l'agriculture est confrontée à l'ère de l'économie mondiale [1,2]. L'économie mondiale [1,2]. Les arthropodes nuisibles envahissants d'importance économique causent des pertes de rendement, augmentent les coûts de leur contrôle et conduisent souvent à une surutilisation des pesticides qui perturbe les services écosystémiques existants [3-5]. services écosystémiques existants [3-5]. Les cochenilles (Hemiptera: *Pseudococcidae*) sont des ravageurs invasifs typiques dans de nombreuses régions du monde. envahissants dans de nombreuses régions du monde en raison de leur petite taille et de leur comportement cryptique [6]. Ils peuvent causer de sérieux dommages économiques dans de nombreuses cultures [7]. *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: *Pseudococcidae*) est un herbivore très polyphage qui se nourrit de sève. herbivore très polyphage qui se nourrit de sève et qui a été signalé sur plus de 200 espèces de plantes hôtes appartenant à environ 60 familles botaniques [1]. appartenant à environ 60 familles botaniques [8,9]. Cette cochenille se nourrit de la sève du phloème principalement phloème principalement sur les parties aériennes des plantes et libère du miellat et des sécrétions cireuses comme produits excréteurs. produits excréteurs. L'espèce entretient une relation mutualiste avec les fourmis (Hymenoptera: *Formicidae*), et la diffusion est médiée par le vent, bien que la distribution étendue de l'espèce soit principalement associée aux activités humaines [10,11]. L'identification de *P. solenopsis* s'effectue généralement par observation morphologique; pourtant, cette méthode est couramment soutenue par la caractérisation du DNA [12]. La cochenille est identifiable par la présence de points sombres sur le dos du corps de la femelle; cependant, certains spécimens peuvent être non pigmentés et ainsi être identifiés par erreur avec *P. solani* [13]. D'autres variations morphologiques et moléculaires entre les populations géographiques de *P. solenopsis* ont également été reconnues [13-16], et ces différences ont été attribuées aux conditions environnementales et/ou aux plantes hôtes [17]. *Phenacoccus solenopsis*, dont la description remonte au Nouveau-Mexique (Etats-Unis) à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle [18], a été identifié comme l'une des espèces les plus importantes dans le monde. 19<sup>e</sup> siècle [18], a été signalé en dehors de son territoire d'origine dans plus de 50 endroits dans le monde entier dans le monde durant les dernières décennies. Ce ravageur invasif s'est établi dans les régions afrotropicales, Australasien, Néarctique, Néotropical et Indomalayen, et il est considéré comme l'un des ravageurs les plus dévastateurs du coton. des ravageurs les plus dévastateurs du coton en Asie, notamment en Chine, en Inde et au Pakistan [19]. Dans la région paléarctique, l'espèce a été signalée au cours des dix dernières années dans le bassin méditerranéen, y compris en Algérie, aux îles Canaries, en Espagne et en France. Méditerranée, y compris l'Algérie, les îles Canaries, Chypre, l'Egypte, Israël, la Turquie et l'Arabie Saoudite [9,20-27]. et l'Arabie Saoudite [9,20-27]. Dans un avis récemment publié par le groupe scientifique de l'EFSA sur la santé des plantes, l'espèce est signalée comme étant présente en Crète sur des plants de tomates selon une communication personnelle [28]. Bien que dans ces régions, *P. solenopsis* a été principalement enregistré sur des hôtes sauvages et des plantes ornementales (par exemple, *Ibiscus* sp. et *Lantana* sp.), en Israël et en Egypte, la cochenille est devenue un grave problème de santé publique. cochenille est devenue un ravageur sérieux dans quelques champs de coton et dans les cultures protégées de solanacées, notamment dans les serres de poivrons et de tomates [24,25]. La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill., Solanaceae) est les culture horticole les plus importante du point de vue économique dans le monde. économiquement la plus significative au monde, avec 4,7 millions d'hectares cultivés et une production mondiale dépassant 182 millions de tonnes [29]. dépassant 182 millions de tonnes [29]. Cette culture est menacée par un grand nombre de ravageurs envahissants tels que ravageurs envahissants tels que l'oxyure de la tomate sud-américain, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: *Gelechiidae*), qui a gravement affecté la production de tomates dans la région paléarctique au cours de la dernière décennie [30,31]. dernière décennie [30,31]. Les pays méditerranéens jouent un rôle central dans la chaîne d'approvisionnement de la tomate européenne. européenne de tomates ; ainsi, la détection précoce de nouveaux ravageurs émergents qui posent un risque pour la production européenne de tomates est d'une

importance capitale. production européenne de tomates est d'une importance capitale. Dans cet article, nous fournissons la première preuve de la présence de *P. solenopsis* dans différentes cultures protégées et dans des paysages urbains en Sicile, la région la plus pauvre du monde. protégées et des paysages urbains en Sicile, l'île principale la plus méridionale de l'Italie, située dans le bassin méditerranéen central, qui sert de zone de chaleur pour la production de tomates. bassin méditerranéen central, qui sert de point chaud pour l'industrie européenne de la tomate [32]. L'identification spécifique de la cochenille L'identification spécifique de la cochenille a été réalisée en utilisant des caractéristiques morphologiques ainsi que la caractérisation de DNA des mitochondries. et la caractérisation de DNA de la sous-unité mitochondriale de la cytochrome oxydase (mtCOI). Nous avons Nous avons également étudié les relations génétiques de *P. solenopsis* en utilisant le gène mtCOI des spécimens que nous avons collectés et d'autres spécimens. spécimens que nous avons collectés et d'autres accessions similaires provenant de différentes régions du monde. régions du monde afin d'identifier la source d'invasion de cette cochenille invasive en Italie. Nos résultats alertent de la présence de *P. solenopsis*, soulignant l'importance d'une détection précoce et la et la nécessité de mesures de contrôle préventives contre cette cochenille invasive.

## 2. Matériaux et méthodes

### 2.1. Échantillonnage des insectes

Nous avons réalisé des échantillonnages ponctuels de cochenilles farineuses entre octobre et novembre 2020 dans des cultures protégées et des parcs urbains en Sicile, à savoir dans quatre sites situés à la frontière sud de l'île. La partie aérienne des plantes infestées (cultivées et sauvages) a été inspectée. sauvages) a été inspectée, les écailles femelles ont été collectées à l'aide d'un pinceau souple et conservées dans de l'éthanol à 90 % à l'intérieur de flacons en plastique. éthanol à 90% dans des flacons en plastique pour l'identification au laboratoire. Nous avons également échantillonné des fourmis directement directement associées aux cochenilles comme décrit ci-dessus pour l'identification des espèces. Des photos des plantes infestées ont été prises à l'aide d'un appareil photo numérique Nikon D3100 (Nikon Corporation, Tokyo, Japon).

### 2.2. Identification morphologique

L'identification morphologique a été réalisée à l'aide des clés proposées par Williams et Granara deWillink [33], Granara et Szumik [34] et Hodgson et al. [17]. Les femelles adultes et les nymphes collectées ont été identifiées morphologiquement directement à partir d'un stéréomicroscope ou montées sur des lames pour être examinées à travers un microscope composé. stéréomicroscope ou montés sur des lames pour être examinés à l'aide d'un microscope composé. Dans chaque échantillon, 5 femelles adultes ont été montées sur des lames dans du baume du Canada en utilisant la méthode décrite par Williams et Watson [35]. méthode décrite par Williams et Watson [35]. Les photos ont été prises avec un stéréomicroscope Leica Ez 4 D (Leica Microsystems, Heerbrugg, Suisse) avec un appareil photo numérique intégré. appareil photo numérique intégré. Les spécimens montés sur glissière sont déposés à la Scale Insect Collection du Département d'Agriculture, Alimentation et Environnement de l'Université de Catania (Italie).

### 2.3. Identification moléculaire

Nous avons réalisé l'identification moléculaire des cochenilles collectées en séquençant le fragment du gène mtCOI amplifié dans le DNA de la cochenille comme suit. Fragment amplifié du gène mtCOI dans le DNA de la cochenille comme suit. En bref, un total de 3 femelles de cochenille pour chaque site échantillonné (voir Tableau 1) ont été écrasées avec un pilon stérile dans un Eppendorf de 2 mL. stérile

dans un tube Eppendorf de 2 mL et soumises à une extraction de DNA à l'aide du kit Tissue DNA E.Z.N.A.® (Omega Bio-tease). DNA Kit (Omega Bio-tek, Inc., Norcross, GA, USA). Dans l'extraction de DNA, nous avons inclus également des échantillons de la cochenille des agrumes *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) comme contrôle positif DNA et comme contrôle négatif. comme contrôle positif DNA et un contrôle négatif sans DNA. Paires d'amorces universelles C1-J-2195 (alias Jerry, 50-TTGATTTTTGGTCATCCAGAAG-30) et TL2-N-3014 (alias Pat, 50-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-30) ont été utilisées pour amplifier les 800 bp attendus de la région ciblée mtCOI. de la région ciblée mtCOI [36]. La PCR a été réalisée en suivant le protocole suggéré par Cavalieri et al [37]. Les réactions ont été réalisées dans des volumes de 20 L avec 0,85X de FailSafe™ PCR 2X PreMix F (Lucigen Corporation, Middleton, WI, USA), 0,5 M de chaque amorce 10 M, 1,5 M de DNA l'échantillon de amorce 10 M, 1,5 U de Taq DNA Polymerase 5U (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) et 2 L de matrice DNA. Les conditions de cyclage étaient les suivantes : 96 C pendant 5 minutes, 35 cycles à 96 C pendant 45 s, 45 C pendant 1 minute, 72 C pendant 1 minute, suivis d'un cycle final à 72 C pendant 10 minutes. Cycle final à 72 C pendant 10 minutes. Les réactions et les conditions de cyclage ont été effectuées dans le thermocycleur Mastercycler® EP Gradient S Eppendorf.

Tableau 1 Localisation, sites et plantes hôtes où *Phenacoccus solenopsis* a été trouvé en Sicile entre octobre et novembre.

| LOCATION                | SITES<br>LATITUDE<br>(N) | LONGITUDE<br>(E) | HOST PLANT                                                                                                                                                                                                 | DATE                   | NCBI<br>ACCESSION<br>NUMBER |
|-------------------------|--------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Marina di<br>Ragusa     | 36° 47' 11.7"            | 14° 34' 21.1"    | <i>Lycopersicon<br/>esculentum<br/>Mill.</i> (Solanaceae)<br><i>Portulaca oleracea<br/>L.</i><br>(Portulacaceae)<br><i>Parietaria sp. L.</i><br>(Urticaceae)<br><i>Sesamum indicum L.</i><br>(Pedaliaceae) | 22 October<br>2020     | MZ398130                    |
| Palma di<br>Montechiaro | 37° 11' 37"              | 13° 45' 46"      | <i>Capsicum annuum<br/>L.</i><br>(Solanaceae)                                                                                                                                                              | 5 October<br>2020      | MZ398131                    |
| Catania                 | 37° 31' 18.0"            | 15° 05' 49.8"    | <i>Hibiscus sp. L.</i><br>(Malvaceae)                                                                                                                                                                      | 4 November<br>2020     | MZ398132                    |
|                         | 37° 31' 09.9"            | 15° 04' 06.1"    | <i>Lantana camara L.</i><br>(Verbenaceae)                                                                                                                                                                  | 25<br>November<br>2020 | MZ398133                    |

Le succès de l'amplification des produits PCR a été vérifié par électrophorèse en utilisant un gel d'agarose à 1%. Lorsque des bandes de DNA de la taille attendue (800 bp) ont été visualisées dans le gel, les produits PCR restants ont été envoyés à un service de séquençage BMR Genomics (Padova, Italie) qui a purifié et séquencé les produits PCR par la méthode de Sanger. Les régions codantes obtenues ont donc été vérifiées manuellement pour détecter les erreurs, coupées en cas de mauvaise qualité et alignées sur les séquences de référence de la GenBank® du National Center for Biotechnology Information (NCBI) grâce à l'outil d'analyse de séquence BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) pour l'identification des espèces

[38]. Une séquence représentative de chaque échantillonnage a été déposée dans GenBank (les numéros d'accès sont indiqués dans le tableau 1).

## 2.4. Analyses phylogénétiques

Les relations évolutives entre les isolats de *P. solenopsis* d'origine indigène (américaine) et invasive (méditerranéenne et asiatique) ont été estimées par la construction de phylogènes. Et les invasifs (méditerranéens et asiatiques) ont été estimés en construisant des arbres phylogénétiques basés sur les séquences mtCOI dérivées de nos échantillons (Tableau 1) et celles extraites dans GenBank en janvier 2021 (Tableau S1). Les enregistrements de séquences ont été triés pour leur couverture dans la région amplifiée par les amorces C1-J-2195 et TL2-N-3014 et ceux contenant des informations rares, ambiguës ou répétées. Des informations rares, ambiguës ou répétées sur le lieu d'échantillonnage ont été écartées. Ainsi, trente séquences nucléotidiques sélectionnées ont été alignées avec l'algorithme MUSCLE [39], et leurs extrémités ont été coupées pour produire des alignements de 731 pb dans la version 1.26.1 d'Unipro UGENE [40]. Nous avons également recherché les codons stop dans les séquences mtCOI traduites afin d'exclure tout pseudogène mitochondrial éventuel. Les pseudogènes mitochondriaux possibles qui se produisent souvent chez les invertébrés. *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) séquence mtCOI de l'isolat (numéro d'accès GenBank EU267199.1) a été incluse dans l'ensemble de données comme un sous-groupe. L'histoire de l'évolution a été déduite à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance (ML) et du modèle à 2 paramètres de Kimura [41]. L'arbre initial pour la recherche heuristique a été obtenu automatiquement en appliquant les méthodes suivantes les algorithmes Neighbor-Join et BioNJ à une matrice de distances par paires estimées à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance composite (ML). L'approche de la Vraisemblance Composite Maximale (MCL) et en sélectionnant ensuite la topologie présentant les valeurs de vraisemblance logarithmique supérieures. Cette analyse a porté sur 31 séquences nucléotidiques. Les positions du codon incluses étaient les suivantes : 1er + 2ème + 3ème + non codant. La fiabilité des branches a été estimée à l'aide de 1000 bootstraps. Les analyses évolutives ont été réalisées dans MEGA X [42, 43].

## 3. Résultats

### 3.1. Échantillonnage des insectes

Parmi les différents sites prospectés en Sicile entre octobre et novembre 2020, *P. solenopsis* a été trouvé dans trois localités (Tableau 1). Des individus de cochenilles farineuses ont été trouvés sur les tiges, les branches et le collet des racines des serres conventionnelles de tomates de type cerise (Figure 1) et dans des tunnels de poivrons à Marina di Ragusa et Palma di Montechiaro, respectivement. Des buissons de lantaniers et des hibiscus dans deux parcs urbains différents de Catania ont été de la même façon infestés par la cochenille. Les échantillons collectés ont été identifiés comme étant *P. solenopsis* par des analyses morphologiques et moléculaires.

### 3.2. Identification morphologique

L'examen morphologique externe a révélé que les femelles adultes avaient deux bandes de part et d'autre d'une crête médiane du corps, des filaments cireux courts autour du corps, ainsi que des filaments anaux d'un quart de longueur (figure 1). La femelle montée sur glissière présente un corps ovale d'environ  $3,35 \pm 0,14$  mm de long et  $2,2 \pm 0,14$  mm de large ; les antennes sont généralement à neuf segments, le circulus est présent, et les filaments anaux sont d'un quart de longueur (Figure 1). Segmentés, le circulus présent, ovales, parfois légèrement rétrécies latéralement, et de taille variable. Les cerarii sont au nombre

de 18 paires, chacune avec deux soies coniques et des pores triloculaires sans soies auxiliaires. sétos auxiliaires ; collier oral conduits tubulaires sur le venter seulement ; pores quinqueloculaires absents ; pores discaux multiloculaires absents dorsalement, présents médialement sur le venter des segments VI-IX. (rarement aussi un ou deux sur V), également présents de façon submarginale sur certains segments abdominaux (Figures 2 et 3). (Figures 2 et 3). Les spécimens collectés en Sicile ont montré une gamme par côté dans les pores du disque multiloculaire de 7-8, 11-11, et 8-12 dans les échantillons provenant de Palma di Montechiaro, Marina di Ragusa et Catania, respectivement Comme *P. solenopsis* est très similaire à *P. solani*, les différences entre les deux espèces ont été mises en évidence mises en évidence. Selon Williams [44], l'espèce que nous avons identifiée comme étant *P. solenopsis* avait un circulus plus flasque et des pores discaux multiloculaires présents sur les bords antérieurs des segments abdominaux postérieurs. Segments abdominaux postérieurs, tandis que chez *P. solani*, le circulus est plus arrondi, et les pores du disque multiloculaire sont restreints et les pores du disque multiloculaire sont limités aux bords postérieurs des segments abdominaux, antérieurs à la vulve antérieurs à la vulve.

Les espèces de fourmis associées à *P. solenopsis* ont été identifiées comme étant *Tapinoma magnum* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae)

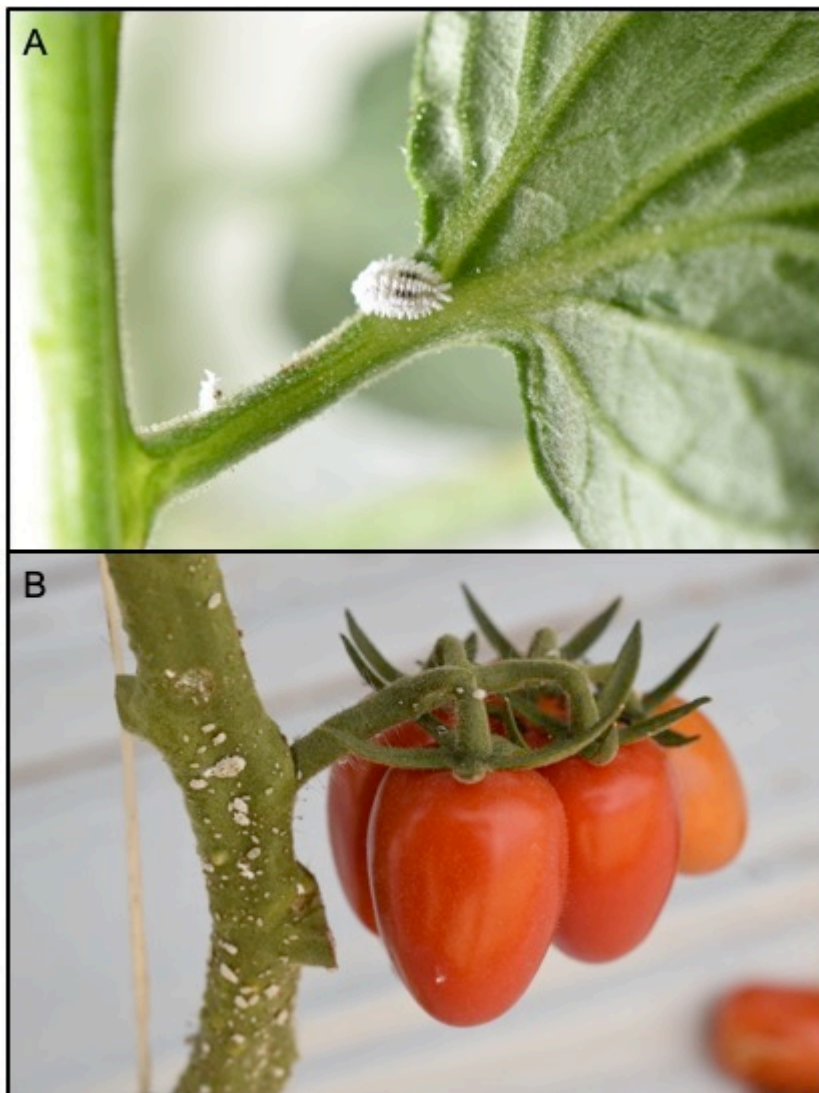


Figure 1 *Phenacoccus solenopsis* femme adulte (A) et les stades mixtes (B) sur le rameau d'un plant de tomate dans une culture de tomates en serre



Figure 2 Femelle montée sur glissière de *Phenacoccus solenopsis*

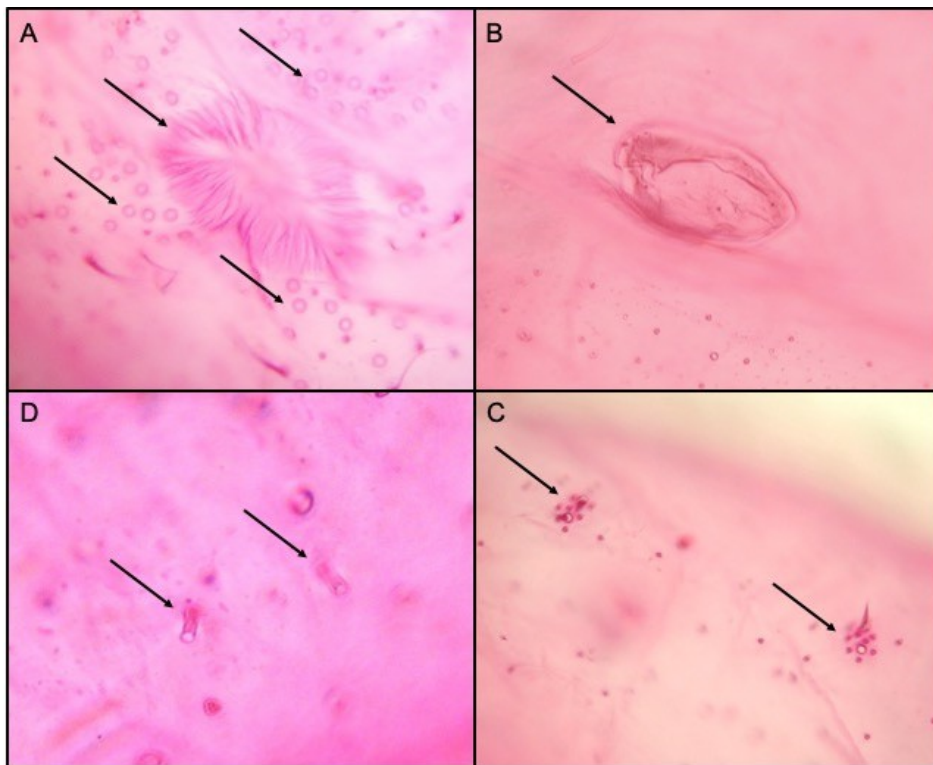


Figure 3 Caractéristiques morphologiques de *Phenacoccus solenopsis*, la vulve et les pores du disque multiloculaire (A), le circulus (B), le cerari (C) et les conduits tubulaires du collier oral (D).

### 3.3 L' identification moléculaire

Sur la base des données de séquence mtCOI, les individus échantillonnés dans des zones géographiquement séparées en Sicile et provenant de différents hôtes partageaient le même haplotype. Par la suite, nous avons confirmé l'identification morphologique de *P. solenopsis* par l'amplification du fragment mtCOI à partir de DNA génomique, suivie d'un séquençage direct et de recherches BLAST. Les séquences obtenues ont été alignées sur les séquences de référence du NCBI et comparées aux données publiques disponibles sur GenBank. Elles ont donné un score d'identité de 100 % et une valeur E = 0,0 avec les isolats de *P. solenopsis* de Chine (numéro d'accèsion KF878039.1), d'Inde (numéro d'accèsion KC985430.1) et du Pakistan (numéro d' accèsion KF442955.1).

### 3.4 Analyse phylogénique

Nous avons analysé un total de 30 séquences mtCOI, dont quatre ont été séquencées dans cette étude. Parmi eux, *P. solenopsis* accessions provenaient de différents pays du monde, y compris son zone d'origine (USA) et des zones envahies (Tableau S1). Selon l'analyse phylogénétique, l'arbre ML comprenait deux clades principales distinctes. ML comprenait deux clades principaux distincts : un clade composé d'échantillons provenant des Etats-Unis et un autre clade regroupant les accessions provenant de l'Amérique du Nord. et un autre clade regroupait les accessions provenant de différentes zones envahies par *P. solenopsis* (Figure 4). Notamment, les deux clades partageaient un ancêtre commun dérivé des États-Unis. Néanmoins, les échantillons de *P. solenopsis* que nous avons séquencés (MZ398130 ; MZ398131 ; MZ398132 ; MZ398133) se sont regroupés avec des isolats provenant de différentes régions du monde (Brésil, Chine, Israël, Pakistan, Philippines, et Vietnam).



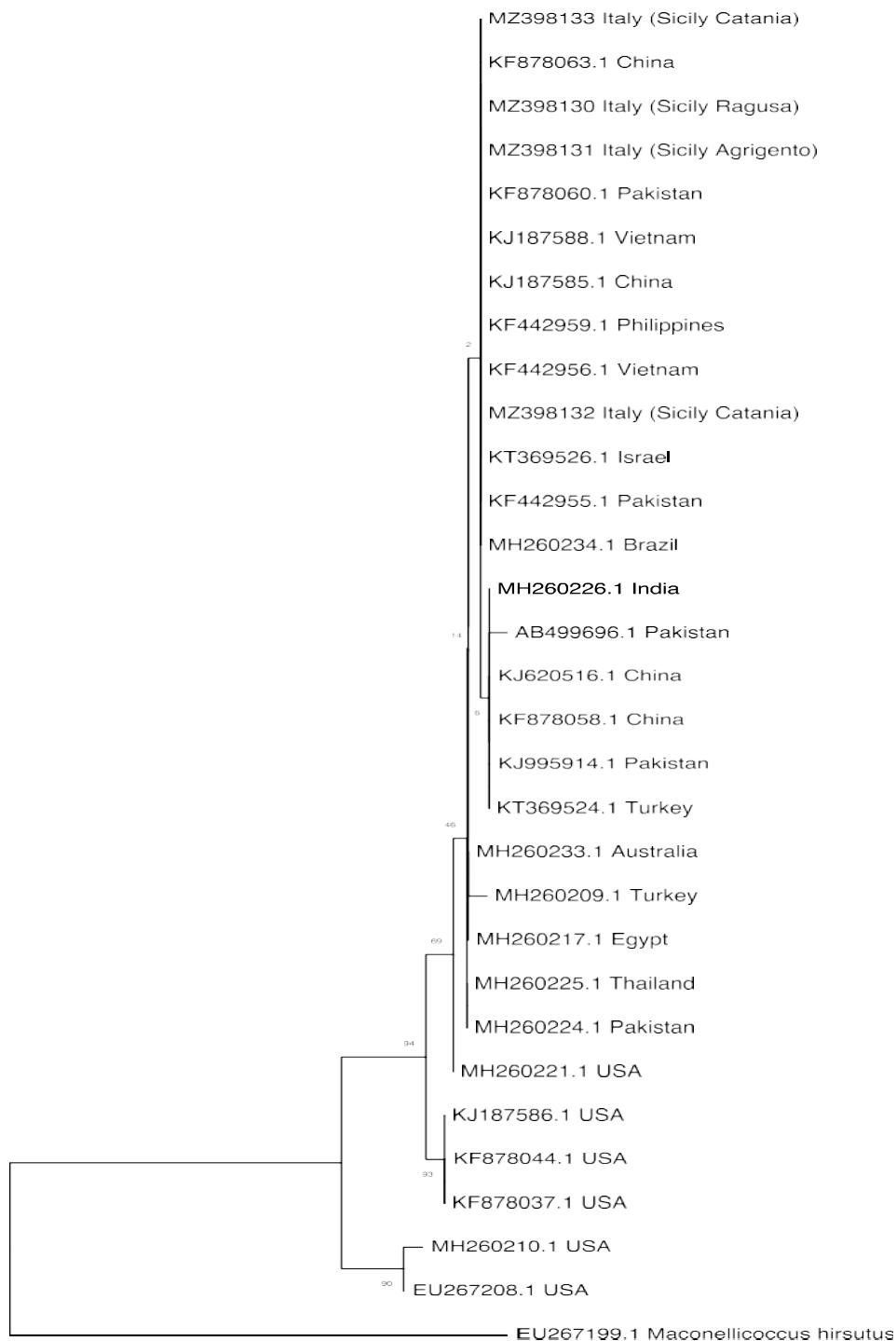


Figure 4. Arbre de maximum de vraisemblance, avec valeurs bootstrap, basé sur les séquences mtCOI de *Phenacoccus solenopsis* collectées en Sicile, regroupées avec les accessions disponibles publiquement des pays envahis (Australie, Brésil, Chine, Egypte,

## 4 Discussion

*Phenacoccus solenopsis* est un herbivore se nourrissant de sève, originaire des Amériques, caractérisé par une polyphagie extrême qui s'est propagé vers l'est, envahissant plus de 50 pays au cours des 30 dernières années, devenant le principal insecte ravageur du coton en Asie [19]. Nous avons enregistré pour la première fois *P. solenopsis* en Sicile sur différentes plantes hôtes urbaines et cultures protégées, y compris

des solanacées comme la tomate et le poivron. Les caractéristiques morphologiques ont été utilisées pour évaluer principalement l'identité de l'espèce envahissante en utilisant ensemble plusieurs clés [33-35]. *Phenacoccus solenopsis* présente des variations morphologiques considérables dans le nombre de pores discaux multiloculaires et de canaux tubulaires du collier oral sur les segments abdominaux, induites par les conditions environnementales et les hôtes [14,17] ; d'après nos observations, les spécimens trouvés en Sicile ont montré des similitudes avec le groupe de *P. solenopsis* décrit par Hodgson et al. [17] pour l'Inde, le Pakistan et Taiwan. Des différences entre *P. solenopsis* et *P. solani* ont également été mises en évidence. Ce dernier a déjà été signalé en Sicile en 1999 [45], et ces deux espèces congénères sont très difficiles à distinguer morphologiquement en raison de la variabilité de certains des traits utilisés dans les clés d'identification morphologiques (par exemple, la forme du circulus, le nombre de segments antennaires et la distribution des pores multiloculaires du disque). La distribution des pores multiloculaires du disque) [34]. Cependant, selon la clé proposée par Williams par Williams [44], les échantillons que nous avons collectés avaient un circulus plus flasque, et les pores du disque multiloculaire étaient présents sur les segments anaux. disques multiloculaires étaient présents sur les bords antérieurs des segments abdominaux postérieurs. ainsi reconnu comme *P. solenopsis*. De plus, puisque Zhao et al. [13] ont montré des *P. solenopsis* pigmentés et non pigmentés. De plus, puisque Zhao et al [13] ont montré des *P. solenopsis* pigmentés et non pigmentés entre des échantillons provenant de Chine, nos observations suggèrent clairement que tous nos échantillons étudiés correspondent à la variation pigmentée. Enfin, contrairement à Thomas et Ramamurthy [14] qui ont montré des variations morphologiques dans les spécimens de *P. solenopsis* provenant de différentes plantes hôtes, nous n'avons pas observé de différences entre les échantillons collectés provenant de différents hôtes échantillons collectés provenant de différents hôtes. Nous avons corroboré l'identité des cochenilles farineuses par l'amplification de DNA du fragment mtCOI qui est couramment utilisé pour la discrimination des insectes au niveau de l'espèce. D'autres auteurs ont pris en considération une telle approche pour la validation de cette espèce avec des résultats positifs [12-16]. Nous n'avons pas mis en évidence de différences moléculaires entre les spécimens de *P. solenopsis* étudiés sur différentes plantes hôtes, conformément à une étude précédente menée en Asie [14]. Un des objectifs de cette étude était d'estimer la population source possible qui a récemment envahi l'Italie. D'après nos analyses phylogénétiques, les données suggèrent que la source d'introduction des spécimens échantillonnés pourrait provenir de populations asiatiques plutôt que des Etats-Unis, comme le confirment également les observations morphologiques. Cependant, la source d'introduction de *P. solenopsis* en Italie pourrait également provenir des pays méditerranéens par lesquels un commerce intense est présent. Méditerranéens par lesquels un commerce intense est présent, mais aucune différence n'a été mise en évidence par les analyses. par les analyses. Nos résultats sont similaires aux études précédentes dans lesquelles l'origine de *P. solenopsis* a été étudiée en utilisant le gène mtCOI. Ahmed et al. [15] ont prouvé que la source d'invasion de la Chine, du Pakistan, de l'Inde et du Vietnam provenait probablement de deux ou neuf haplotypes asiatiques plutôt que de ceux appartenant au groupe américain. Wu et al. [16] affirment que l'invasion de *P. solenopsis* en Chine pourrait provenir du Pakistan plutôt que des Etats-Unis. Néanmoins, comme les données moléculaires fournissent des preuves que *P. solenopsis* peut constituer un complexe d'espèces cryptiques, il faut envisager d'utiliser davantage d'échantillons provenant de différentes régions du monde et davantage de types de marqueurs pour analyser la différenciation génétique de l'espèce afin de comprendre l'histoire et le schéma d'invasion de *P. solenopsis* dans le monde entier [46,47]. Nous fournissons la première preuve de la présence de *P. solenopsis* dans différentes cultures protégées et paysages urbains en Sicile, et ce signalement soulève de sérieuses inquiétudes en raison du risque élevé de dissémination de ce ravageur dans le nord du bassin méditerranéen. A cet égard, l'Italie représente une région appropriée pour le succès biologique des cochenilles invasives, notamment pour ses conditions climatiques et sa position géographique, comme le démontre l'établissement de nombreuses espèces de *Phenacoccus* originaires d'Amérique du Sud [48]. Ainsi, la surveillance de *P. solenopsis* est principalement nécessaire pour identifier ses plantes hôtes et sa distribution actuelle dans le site de

détection et les zones voisines. Cet aspect devient particulièrement important car *P. solenopsis* peut résister à la famine, ce qui augmente ses chances de survivre sur des matériaux non végétaux et d'être transporté avec succès dans de nouvelles zones [47]. De même, des études sur le cycle biologique des plantes hôtes dans différentes circonstances environnementales pourraient aider à prédire la diffusion de *P. solenopsis* dans un territoire nouvellement envahi [11]. de *P. solenopsis* dans le territoire nouvellement envahi [11]. L'espèce peut pénétrer plus avant sur le territoire de l'EU avec les fruits, légumes, fleurs et plantes fraîches importés pour être plantés. Inversement, certaines plantes, qui sont également des plantes hôtes de *P. solenopsis*, sont interdites d'entrée dans l'EU en tant que végétaux destinés à la plantation par la réglementation européenne en vigueur (Règlement d'exécution (EU) 2019/2072 de la Commission); cependant, aucune exigence spécifique n'est établie en ce qui concerne *P. solenopsis*. Jusqu'à présent, plus de 50 ennemis naturels, comprenant à la fois des prédateurs et des parasitoïdes, ont déjà été enregistrés attaquant *P. solenopsis* sur sa large aire de distribution, avec des coccinellidés. (Coleoptera: Coccinellidae) étant le groupe le plus important [47]. Par conséquent, le recrutement d'ennemis naturels indigènes qui colonisent *P. solenopsis* dans la nouvelle zone envahie nouvelle zone envahie doit être effectué dans le but de trouver des agents potentiels de biocontrôle de ce ravageur ravageur envahissant. En plus des agents de contrôle biologique, des méthodes de contrôle respectueuses de l'environnement doivent être étudiées. devraient être étudiées, avec des pesticides d'origine naturelle comme outils principaux [49]. Enfin, les études Enfin, des études sur les fourmis associées à la cochenille sont également nécessaires, car des preuves expérimentales ont mis en évidence que le mutualisme entre *P.* et les fourmis de l'espèce. ont mis en évidence que le mutualisme entre *P. solenopsis* et *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) peut favoriser le succès de l'invasion des deux espèces [10].

## Références:

1. Hulme, P.E.; Bacher, S.; Kenis, M.; Klotz, S.; Kühn, I.; Minchin, D.; Nentwig, W.; Olenin, S.; Panov, V.; Pergl, J.; et al. Grasping at the routes of biological invasions: A framework for integrating pathways into policy. *J. Appl. Ecol.* **2008**, *45*, 403–414. [CrossRef]
2. Zeng, J.; Liu, Y.; Zhang, H.; Liu, J.; Jiang, Y.; Wyckhuys, K.A.G.; Wu, K. Global warming modifies long-distance migration of an agricultural insect pest. *J. Pest Sci.* **2020**, *93*, 569–581. [CrossRef]
3. Charles, H.; Dukes, J.S. Impacts of Invasive Species on Ecosystem Services. In *Biological Invasions*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2007; pp. 217–237.
4. Boughdad, A.; Haddi, K.; El Bouazzati, A.; Nassiri, A.; Tahiri, A.; El Anbri, C.; Eddaya, T.; Zaid, A.; Biondi, A. First record of the invasive spotted wing *Drosophila* infesting berry crops in Africa. *J. Pest Sci.* **2021**, *94*, 261–271. [CrossRef]
5. Gugliuzzo, A.; Biedermann, P.H.W.; Carrillo, D.; Castrillo, L.A.; Egonyu, J.P.; Gallego, D.; Haddi, K.; Hulcr, J.; Jactel, H.; Kajimura, H.; et al. Recent advances toward the sustainable management of invasive *Xylosandrus* ambrosia beetles. *J. Pest Sci.* **2021**, *94*, 615–637. [CrossRef]
6. Pellizzari, G.; Germain, J.F. Scales (Hemiptera, Superfamily Coccoidea). *Eur. BioRisk* **2010**, *3*, 475–510. [CrossRef]
7. Miller, D.R.; Miller, G.L.; Watson, G.W. Invasive species of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* **2002**, *104*, 825–836.
8. Fand, B.B.; Suroshe, S.S. The invasive mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley, a threat to tropical and subtropical agricultural and horticultural production systems—A review. *Crop Prot.* **2015**, *69*, 34–43. [CrossRef]
9. García Morales, M.; Denno, B.D.; Miller, D.R.; Miller, G.L.; Ben-Dov, Y.; Hardy, N.B. ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. *Database* **2016**, *2016*, 118. [CrossRef]
10. Zhou, A.; Lu, Y.; Zeng, L.; Xu, Y.; Liang, G. Does mutualism drive the invasion of two alien species? The case of *Solenopsis invicta* and *Phenacoccus solenopsis*. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e41856. [CrossRef] [PubMed]
11. Chen, H.S.; Yang, L.; Huang, L.F.; Wang, W.L.; Hu, Y.; Jiang, J.J.; Zhou, Z.S. Temperature- and relative humidity-dependent life history traits of *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae) on *Hibiscus rosa-sinensis*

- (Malvales: Malvaceae). *Environ. Entomol.* **2015**, *44*, 1230–1239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Abd-Rabou, S.; Shalaby, H.; Germain, J.F.; Ris, N.; Kreiter, P.; Malausa, T. Identification of mealybug pest species (Hemiptera: Pseudococcidae) in Egypt and France, using a DNA barcoding approach. *Bull. Entomol. Res.* **2012**, *102*, 515–523. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  13. Zhao, J.; Watson, G.W.; Sun, Y.; Tan, Y.; Xiao, L.; Bai, L. Phenotypic variation and identification of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) in China. *Zootaxa* **2014**, *3802*, 109–121. [[CrossRef](#)]
  14. Thomas, A.; Ramamurthy, V.V. Morphological and molecular studies on the intraspecific variations between populations of the cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Entomol. News* **2014**, *123*, 339–347. [[CrossRef](#)]
  15. Ahmed, M.Z.; Ma, J.; Qiu, B.L.; He, R.R.; Wu, M.T.; Liang, F.; Zhao, J.P.; Lin, L.; Hu, X.N.; Lv, L.H.; et al. Genetic record for a recent invasion of *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Asia. *Environ. Entomol.* **2015**, *44*, 907–918. [[CrossRef](#)]
  16. Wu, F.Z.; Ma, J.; Hu, X.N.; Zeng, L. Homology difference analysis of invasive mealybug species *Phenacoccus solenopsis* Tinsley in Southern China with COI gene sequence variability. *Bull. Entomol. Res.* **2015**, *105*, 32–39. [[CrossRef](#)]
  17. Hodgson, C.; Abbas, G.; Arif, M.; Karar, H. *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Sternorrhyncha: Coccoidea: Pseudococcidae), an invasive mealybug damaging cotton in Pakistan and India, with a discussion on seasonal morphological variation. *Zootaxa* **2008**, *1913*, 1–35. [[CrossRef](#)]
  18. Tinsley, J.B. An ants'-nest coccid from New Mexico. *Can. Entomol.* **1898**, *30*, 47–48. [[CrossRef](#)]
  19. Wang, Y.; Watson, G.W.; Zhang, R. The potential distribution of an invasive mealybug *Phenacoccus solenopsis* and its threat to cotton in Asia. *Agric. For. Entomol.* **2010**, *12*, 403–416. [[CrossRef](#)]
  20. Abd-Rabou, S.; Germain, J.-F.; Malausa, T. *Phenacoccus parvus* Morrison et *P. solenopsis* Tinsley, deux Cochenilles nouvelles pour l'Égypte (Hemiptera, Pseudococcidae). *Bull. Société Entomol. Fr.* **2010**, *115*, 509–510.
  21. Kaydan, M.B.; Çalişkan, A.F.; Ulusoy, M.R. New record of invasive mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) in Turkey. *EPPO Bull.* **2013**, *43*, 169–171. [[CrossRef](#)]
  22. Gavrillov-Zimin, I.A.; Danzig, E.M. Some additions to the mealybug fauna (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) of the Canary Islands. *Zoosyst. Ross.* **2015**, *24*, 94–98. [[CrossRef](#)]
  23. Pellizzari, G.; Porcelli, F. *Aspidiotus bornmuelleri* Lindinger, 1911, Rev. Comb. (Hemiptera: Coccoomorpha: Diaspididae), a neglected endemic species from Macaronesia, with comments on the genus *Cryptophyllaspis*, and further notes on the scale insect fauna of Canary Islands, Spain. *Zootaxa* **2017**, *4300*, 99–110. [[CrossRef](#)]
  24. Spodek, M.; Ben-Dov, Y.; Mondaca, L.; Protasov, A.; Erel, E.; Mendel, Z. The cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) in Israel: Pest status, host plants and natural enemies. *Phytoparasitica* **2018**, *46*, 45–55. [[CrossRef](#)]
  25. Ibrahim, S.S.; Moharum, F.A.; Abd El-Ghany, N.M. The cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) as a new insect pest on tomato plants in Egypt. *J. Plant Prot. Res.* **2015**, *55*, 48–51. [[CrossRef](#)]
  26. Çalişkan-Keçe, A.F.; Ulaşlı, B.T.; Ulusoy, M. Mealybugs (Hemiptera: Coccoomorpha: Pseudococcidae) on ornamental plants in eastern Mediterranean region, Turkey. *Acta Hort.* **2020**, *1269*, 231–240. [[CrossRef](#)]
  27. Katbeh Bader, A.; Al-Jboory, I.J. First record of cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 1898 (Hemiptera: Pseudococcidae), from Saudi Arabia. *EPPO Bull.* **2020**, *50*, 557–560. [[CrossRef](#)]
  28. Bragard, C.; Dehnen-Schmutz, K.; Di Serio, F.; Jacques, M.A.; Jaques Miret, J.A.; Justesen, A.F.; MacLeod, A.; Magnusson, C.S.; Milonas, P.; Navas-Cortes, J.A.; et al. Commodity risk assessment of *Ficus carica* plants from Israel. *EFSA J.* **2021**, *19*, 6353. [[CrossRef](#)]
  29. FAOSTAT. Production. Crops. 2020. Available online: <http://www.fao.org/statistics/en/> (accessed on 20 December 2020).
  30. Biondi, A.; Guedes, R.N.C.; Wan, F.-H.; Desneux, N. Ecology, Worldwide Spread, and Management of the Invasive South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta*: Past, Present, and Future. *Annu. Rev. Entomol.* **2018**, *63*, 239–258. [[CrossRef](#)]
  31. Han, P.; Bayram, Y.; Shaltiel-Harpaz, L.; Sohrabi, F.; Saji, A.; Esenali, U.T.; Jalilov, A.; Ali, A.; Shashank, P.R.; Ismoilov, K.; et al. *Tuta absoluta* continues to disperse in Asia: Damage, ongoing management and future challenges. *J. Pest Sci.* **2019**, *92*, 1317–1327. [[CrossRef](#)]
  32. Tropea Garzia, G.; Siscaro, G.; Biondi, A.; Zappalà, L. *Tuta absoluta*, a South American pest of tomato now in the EPPO region: Biology, distribution and damage. *EPPO Bull.* **2012**, *42*, 205–210. [[CrossRef](#)]
  33. Williams, D.; de Willink, M.G. *Mealybugs of Central and South America*; CABI: Wallingford, UK, 1992; 635p.
  34. Granara, M.C.; Szumik, C.A. Phenacoccinae de Centro y Sudamérica (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae): Sistemática y Filogenia. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* **2007**, *66*, 29–129.
  35. Williams, D.J.; Watson, G.W. *The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region*; CAB International Institute of Entomology: London, UK, 1988; 290p.
  36. Simon, C.; Frati, F.; Beckenbach, A.; Crespi, B.; Liu, H.; Flook, P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **1994**, *87*, 651–701. [[CrossRef](#)]
  37. Cavalieri, V.; Mazzeo, G.; Garzia, G.T.; Buonocore, E.; Russo, A. Identification of *Planococcus ficus* and *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) by PCR-RFLP of COI gene. *Zootaxa* **2008**, *1816*, 65–68. [[CrossRef](#)]
  38. Altschul, S.F.; Gish, W.; Miller, W.; Myers, E.W.; Lipman, D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* **1990**, *215*, 403–410. [[CrossRef](#)]
  39. Edgar, R.C. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* **2004**,

- 32, 1792–1797. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Okonechnikov, K.; Golosova, O.; Fursov, M.; Varlamov, A.; Vaskin, Y.; Efremov, I.; German Grehov, O.G.; Kandrov, D.; Rasputin, K.; Syabro, M.; et al. Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* **2012**, *28*, 1166–1167. [[CrossRef](#)]
  41. Kimura, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **1980**, *16*, 111–120. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  42. Kumar, S.; Stecher, G.; Li, M.; Nnyaz, C.; Tamura, K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* **2018**, *35*, 1547–1549. [[CrossRef](#)]
  43. Stecher, G.; Tamura, K.; Kumar, S. Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) for macOS. *Mol. Biol. Evol.* **2020**, *37*, 1237–1239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  44. Williams, D.J. *Mealybugs of Southern Asia*; The Natural History Museum Kuala Lumpur; Southdene SDN, BHD: Kuala Lumpur, Malaysia, 2004; p. 896.
  45. Mazzeo, G.; Russo, A.; Suma, P. *Phenacoccus solani* Ferris (Homoptera Coccoidea) on ornamental plants in Italy. *Boll. Zool. Agrar. Bachic.* **1999**, *31*, 31–35.
  46. Li, H.; Lang, K.L.; Fu, H.B.; Shen, C.P.; Wan, F.H.; Chu, D. Analysis of expressed sequence tags (ESTs) from a normalized cDNA library and isolation of EST simple sequence repeats from the invasive cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis*. *Insect Sci.* **2015**, *22*, 761–767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  47. Tong, H.; Ao, Y.; Li, Z.; Wang, Y.; Jiang, M. Invasion biology of the cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley: Current knowledge and future directions. *J. Integr. Agric.* **2019**, *18*, 758–770. [[CrossRef](#)]
  48. Pellizzari, G.; Porcelli, F. First record of *Phenacoccus defectus* in Italy, with comments on *Phenacoccus solani* and *Phenacoccus solenopsis*. *Bull. Insectology* **2013**, *66*, 209–211.
  49. Sciortino, M.; Scurria, A.; Lino, C.; Pagliaro, M.; D’Agostino, F.; Tortorici, S.; Ricupero, M.; Biondi, A.; Zappalà, L.; Ciriminna, R. Silica-Microencapsulated Orange Oil for Sustainable Pest Control. *Adv. Sustain. Syst.* **2021**, *5*, 2000280. [[CrossRef](#)]



Programme cofinancé par l'Union Européenne



Repubblica Italiana



République tunisienne



Regione Siciliana

Projet cofinancé par l'Union européenne dans le cadre du Programme IEV de Coopération Transfrontalière Italie-Tunisie 2014-2020 (Project INTEMAR-IS\_ 2.1\_073 “Innovations dans la lutte intégrée contre les ravageurs et maladies récemment introduits sur cultures maraîchères” CUP E64I18002460007