



**MINISTÈRE DE L'ALIMENTATION, DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE
MONTPELLIER SUPAGRO**

THÈSE

Délivrée par Montpellier SupAgro pour obtenir le diplôme de Doctorat

Laboratoire d'accueil : UMR Centre de Biologie pour la Gestion des Populations

Discipline : Évolution, Écologie, Ressources Génétiques, Paléontologie

École doctorale : GAIA

**«Étude des relations phylogénétiques entre les genres de Phytoseiidae
(Acari : Mesostigmata) et implications pour la lutte biologique»**

Soutenue publiquement par

Victor Lucas Vicente dos Santos

Le 28/IV/2017

Membres du Jury

Le Ralec Anne	Professeur, Agrocampus Ouest	Président du Jury
Bon Marie-Claude.	Chercheuse, USDA – EBCL	Examinatrice
Ferragut Francisco	Professeur, Universitat Politècnica de Valencia	Rapporteur
Nel André	Professeur Muséum National d'Histoire Naturelle	Rapporteur
Roy Lise	Maître de conférences, Université Montpellier III	Examinatrice
Tixier Marie-Stéphane	Professeur Montpellier SupAgro	Directrice de thèse

Victor Lucas Vicente dos Santos

THÈSE

**«Étude des relations phylogénétiques entre les genres de Phytoseiidae
(Acari : Mesostigmata) et implications pour la lutte biologique»**

Le 28/04/2017

Un remerciement avec toutes mes considérations

Pour ma super encadrante **Marie-Stéphane Tixier,**

Pour la confiance qu'elle m'a accordée dans ces cinq années, pour tous ses enseignements, son amitié et son aide au cours de l'élaboration de ce travail et dans mon développement professionnel.

Un remerciement de tout mon cœur

Pour mon amour **Laure,**

Mon pilier, mon tout.

Um obrigado mais que especial

Para minha Mãe **Carmen,** meu Pai **Adalberto** meu Irmão **João** (*in memorian*) e toda **minha família,**

Mesmo que longe foram fonte de inspiração, motivação e conforto.

REMERCIEMENTS

Agradeço a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pelo suporte financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

Mes sincères remerciements aux membres du jury : Mme **Marie-Claude Bon**, M. **Francisco Ferragut**, Mme **Anne Le Ralec**, M. **André Nel**, et Mme. **Lise Roy**, pour le temps accordé et pour avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie également les membres de mon comité de thèse M. **Vincent Ranwez**, Mme. **Lise Roy**, M. **Serge Kreiter** pour leurs nombreux conseils, élaborations des questions et critiques. Je remercie particulièrement M. **Serge Kreiter** pour son support depuis le début de mon parcours de thèse.

Je souhaite exprimer mes remerciements à la **direction** et à tous les **membres** du **Centre de Biologie pour la Gestion des Populations**, qui m'ont accueilli avec sympathie et amitié au long des mes trois séjours.

Je remercie le personnel de l'école doctorale **GAIA, Montpellier SupAgro** et plus particulièrement Mme. **Elisabeth Bozsonyik**, pour le soutien apporté dans les démarches administratives.

Je remercie les membres du **Département de Biologie et Écologie de Montpellier SupAgro**. Un remerciement particulier aux membres du conseil de département pour m'avoir servi d'exemple de conduite professionnelle.

Un remerciement très chaleureux, à **Anne Laure Clamens**, **Anne Loiseau**, **Caroline Tatard**, **Laure Saune**, **Maxime Galan** et **Nathalie Vieira** et en particulier à **Martial Douin** et **Sabine Guichou** pour leur aide et leurs attentions.

Je remercie très spécialement mon amie **Julie Pisano**, qui a rendu mon « jour à jour » plus heureux et également mes amis **Ivinho Loppes**, **Denise Navia**, **Ghais Zriki**, **Adélaïde Dubois** et **Laurent Soldati**, avec qui j'ai partagé des moments plus que spéciaux.

Um agradecimento especial ao amigo **Paulo Pimenta**, por toda ajuda e pelos belos momentos partilhados ao longo desses anos.

Je suis très reconnaissant à **tous mes collègues** qui ont partagé des expériences et qui, même sans le savoir, m'ont donné des idées. Ils seront toujours dans mes souvenirs.

Résumé

Étude des relations phylogénétiques entre les genres de Phytoseiidae (Acari : Mesostigmata) et implications pour la lutte biologique.

Cette thèse porte sur la taxonomie des acariens prédateurs de la famille des Phytoseiidae, dont certaines espèces sont utilisées en lutte biologique pour contrôler des acariens ravageurs et quelques petites espèces d'insectes. La taxonomie de ces organismes de petite taille (<500 µm), i.e. identification spécifique et relations entre les taxa, est essentiellement basée sur des caractères morphologiques. Ces caractères parfois difficiles à visualiser, à interpréter (variations intra et inter-taxa, analogies) et en faible nombre rendent l'identification des espèces et la classification actuelle sujette à certaines interrogations. Aucune analyse phylogénétique ne soutient en effet la taxonomie de cette famille. De plus les marqueurs moléculaires développés jusqu'à aujourd'hui ne permettent pas de définir de façon fiable les relations entre les taxa supra-spécifiques. Ce travail présente deux objectifs: (i) caractériser *via* des outils moléculaires l'identité spécifique de deux taxa utiles en lutte biologique et établir des règles de décision moléculaire sur la base de plusieurs concepts analytiques et (ii) déterminer *via* le développement de nouveaux marqueurs moléculaires les relations supra-spécifiques à l'intérieur de la tribu des Euseiini puis au niveau de l'ensemble de la famille. Concernant le diagnostic spécifique, ce travail a montré à travers l'exemple d'*Amblyseius swirskii* et *Phytoseius finitimus* l'utilité d'approches intégratives comprenant plusieurs marqueurs, du fait de la forte variation des marqueurs mitochondriaux au niveau intraspécifique. Les valeurs maximales des distances génétiques entre spécimens d'une même espèce (9%, 23% et 2.8 % pour 12S ARNr, CYTB ADN mt et ITSS) ont été établies. Concernant les relations supra-spécifiques, des nouveaux marqueurs moléculaires ont été développés. La combinaison de six marqueurs moléculaires (12S ARNr, CYTB ADN mt, COI ADN mt, ITSS, 28S ARNr, HSP90) permet désormais de résoudre les différents rangs taxonomiques à investiguer. L'application de ces marqueurs à la tribu des Euseiini et à l'ensemble de la famille a permis de conclure quant à la validité de certains taxa. Par exemple, ce travail a montré la monophylie des Euseiini et des représentants des sous-tribus considérés. Le genre *Iphiseius* ne semble en revanche pas valide et inclus dans le genre *Euseius*. Des analyses morphologiques, biogéographiques et écologiques (plantes-hôtes) réalisées au niveau de l'ensemble de la tribu sur la base d'une compilation bibliographique, ont permis d'émettre des scénarios quant à l'origine ouest gondwanienne de ce taxon sur des plantes de Rosidées et quant à l'évolution de certains caractères morphologiques.

Ce travail de thèse ouvre des perspectives d'étude des relations entre les genres de Phytoseiidae du fait des nouveaux marqueurs développés. Les études doivent se poursuivre pour (i) étendre le panel de marqueurs disponibles et surtout (ii) augmenter l'échantillonnage des espèces à inclure dans les analyses en lien avec leurs caractéristiques bioécologiques afin de déterminer comment les relations phylogénétiques peuvent constituer un outil de prédiction de ces caractéristiques utiles à connaître pour la mise en œuvre de la lutte biologique (proies, plantes, nourriture alternative).

Mots clés. Marqueurs moléculaires, diagnostic, Euseiini, biogéographie, systématique intégrative.

Abstract

Study of phylogenetic relationships within the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) and implications for biological control.

This thesis deals with the taxonomy of predatory mites of the family Phytoseiidae, that contains several species used in biological control of pest mites and small insects. The taxonomy of these minute organisms (<500 µm), *i.e.* specific identification and phylogenetic relationships, is essentially based on morphological characters. These characters, which are sometimes difficult to visualize, interpret (variations in intra and inter-taxa, analogies) and in small numbers, make the identification of species and the current classification questionable. No phylogenetic analysis supports the taxonomy of this family. Moreover, the molecular markers developed up to now are not adapted to define reliable relations between supraspecific taxa. This work aims at: (i) characterizing using molecular markers the identity of two species useful in biological control and establishing molecular decision rules based on several analytical concepts and (ii) determining *via* the development of new markers the supraspecific relations within the Euseiini tribe and then at the level of the whole family. For the specific diagnosis, this work has shown through the example of *Amblyseius swirskii* and *Phytoseius finitimus* the usefulness of integrative approaches including several markers, due to the strong variation in mitochondrial markers at the intraspecific level. Maximum genetic distance values between specimens of the same species (9%, 23% and 2.8% for 12S rRNA, CYTB DNA mt and ITSS) were established. Concerning supraspecific relationships, new molecular markers have been developed. The combination of six molecular markers (12S rRNA, CYTB DNA mt, COI DNA mt, ITSS, 28S rRNA, and HSP90) now allows resolving different supraspecific ranks to be investigated. The application of these markers to the tribe Euseiini and to the family shows that certain taxa were valid. For example, this work emphasizes the monophyly of the Euseiini and representatives of the sub-tribes considered. The genus *Ipheius* seems to not be valid and is included in the genus *Euseius*. Morphological, biogeographical and ecological analyses (host plants) carried out at the level of the whole tribe on the basis of a bibliographic compilation, emphasized the West Gondwana origin of this taxon on plants of Rosidae and the evolution of certain morphological characters. This thesis opens new insights for studying the relationships between the genera of Phytoseiidae due to the new markers developed. Studies should continue to (i) extend the panel of available markers and (ii) increase the sampling of species to be included in analyses related to their bio-ecological characteristics in order to determine how phylogenetic relationships can predict interesting life traits for biological control implementation (prey, plants, and alternative food).

Keywords. Molecular markers, diagnostics, Euseiini, biogeography, integrative taxonomy.

Resumo

Estudo das relações filogenéticas entre gêneros da família Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) e implicações para a o controle biológico.

Esta tese é focada na taxonomia de ácaros predadores da família Phytoseiidae, onde algumas espécies são usadas no controle biológico de ácaros-praga e algumas espécies de insetos. A taxonomia desses pequenos organismos (<500 µm), i.e. de identificação específica e relações entre taxa, é baseada essencialmente em caracteres morfológicos. Estes caracteres podem ser difíceis de visualizar, interpretar (variações intra e inter-taxa, analogias) e podem estar em baixos números fazendo com que a identificação das espécies e a atual classificação sejam sujeitas a certas dúvidas. Nenhuma análise filogenética foi proposta para a taxonomia desta família. Além disso marcadores moleculares desenvolvidos até então não permitem identificar com segurança as relações entre os taxa supra específicos. Assim, o presente trabalho tem dois objetivos: (i) por meio de ferramentas moleculares, caracterizar a identidade específica de dois taxa úteis no controle biológico e estabelecer regras de decisão moleculares com base em alguns conceitos analíticos (ii) determinar, através do desenvolvimento de novos marcadores moleculares, as relações supra específicas dentro da tribo Euseiini e depois para toda a família. Em relação ao diagnóstico específico, este trabalho mostrou através do exemplo de *Amblyseius swirskii* e *Phytoseius finitimus* a utilidade de abordagens integrativas utilizando vários marcadores, devido à grande variação de marcadores mitocondriais ao nível intra-específico. Os valores máximos para as distâncias genéticas entre os espécimes da mesma espécie foram estabelecidos (9%, 23% e 2,8% para o 12S ARNr, CYTB ADN mt e ITSS). Sobre as relações supra específicas, novos marcadores moleculares foram desenvolvidos. A combinação de seis marcadores moleculares (12S ARNr, CYTB ADN mt, COI ADN mt, ITSS, 28S ARNr e HSP90) permitem resolver diferentes níveis taxonômicos. A aplicação destes marcadores no estudo da Tribo Euseiini e toda a família confirmou a validade de alguns taxons. Por exemplo, este trabalho mostrou a monofilia de Euseiini e de suas sub-tribos. No entanto o gênero *Iphiseius* parece estar incluído no gênero *Euseius*. As análises morfológicas, biogeográficas e ecológicas (plantas hospedeiras) realizadas para toda a tribo, com base em uma compilação bibliográfica, permitiu recriar cenários para a origem deste taxa, em Gondwana Ocidental em plantas Rosids e sob evolução de alguns caracteres morfológicos.

Este trabalho abre perspectivas para estudar as relações entre os diferentes generos de Phytoseiidae devido aos marcadores recém-desenvolvidos. Este estudo deve continuar (i) a estender a gama de marcadores moleculares disponíveis e acima de tudo (ii) aumentar a amostragem das espécies a serem incluídos nas análises ligadas as características bio-ecológicas para determinar como as relações filogenéticas podem ser uma ferramenta preditiva para analisar características úteis para a implementação do controle biológico.

Palavras chaves. Marcadores moleculares, identificação, Euseiini, biogeografia, sistematica integrativa.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	23
1. CHAPITRE I : LA FAMILLE DES PHYTOSEIIDAE	29
1.1. La famille Phytoseiidae : des acariens prédateurs efficaces en lutte biologique....	29
1.2. Position taxonomique des Phytoseiidae	33
1.3. Distribution biogéographique des Phytoseiidae	35
1.4. Caractéristiques morphologiques générales des Phytoseiidae.....	37
1.4.1. Le gnathosoma	39
1.4.2. L'idiosoma	41
1.5. Éléments biologiques et écologiques des Phytoseiidae	43
1.5.1. Le cycle de développement	43
1.5.2. Le régime alimentaire des Phytoseiidae	44
1.5.3. Le mode de reproduction.....	46
1.5.4. Les capacités de dispersion	46
1.5.5. Les Phytoseiidae et les plantes-hôtes	47
1.6. La classification actuelle des Phytoseiidae et ses limites	49
1.6.1. La division en trois sous-familles.....	50
1.6.2. Les questions posées par la classification actuelle des Phytoseiidae	52
1.7. L'identification des espèces de Phytoseiidae	53
2. CHAPITRE II : PRINCIPES ET CONCEPTS TAXONOMIQUES	55
2.1. Taxonomie et Systématique : définitions	55
2.2. Le niveau spécifique : les concepts d'espèces.....	56
2.2.1. Le concept biologique de l'espèce	56
2.2.2. Le concept morphologique de l'espèce	57
2.2.3. Le concept phylogénétique de l'espèce	59
2.3. Les taxa supra-spécifiques.....	60
2.4. Les caractères morphologiques.....	61
2.5. Les caractères moléculaires	62
2.5.1. Les marqueurs mitochondriaux et leur utilisation en taxonomie.....	63
2.5.2. Les marqueurs nucléaires et leur utilisation en taxonomie.....	67
2.6. Marqueurs moléculaires et concepts analytiques	69
2.6.1. Quels concepts analytiques pour étudier le niveau spécifique ?	69
2.6.2. Quels concepts analytiques pour l'étude des taxa supra-spécifiques ?	72
3. CHAPITRE III : TAXONOMIE DES PHYTOSEIIDAE & DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE	75
3.1. Problématique	75
3.2. Le cas d' <i>Amblyseius swirskii</i> Athias-Henriot à l'Ile de la Réunion	76
3.2.1. <i>Amblyseius swirskii</i> , une espèce importante en lutte biologique.....	76

3.2.2. <i>Amblyseius swirskii</i> , une espèce appartenant à un genre particulièrement complexe	77
3.2.3. L'étude réalisée et ses principales conclusions.....	78
3.2.4. Article: An unexpected occurrence of <i>Amblyseius swirskii</i> (Athias-Henriot) in La Reunion Island (Acari: Phytoseiidae).....	79
3.3. Le cas de <i>Phytoseius finitimus</i> Ribaga	87
3.3.1. <i>Phytoseius finitimus</i> , une espèce potentiellement importante en lutte biologique	87
3.3.2. <i>Phytoseius finitimus</i> , une espèce appartenant à un genre à la taxonomie complexe..	87
3.3.3. L'étude réalisée et ses principales conclusions.....	88
3.3.4. Article: Great molecular variation questions the species <i>Phytoseius finitimus</i> (Acari: Phytoseiidae): implications for diagnosis within the mite family Phytoseiidae.....	91
4. CHAPITRE IV : SYSTÉMATIQUE DES PHYTOSEIIDAE : ÉTUDE DES RELATIONS PHYLOGÉNÉTIQUES ET IDENTIFICATION DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES PERTINENTS	115
4.1. Problématique	115
4.2. Les défis à relever	115
4.3. Les difficultés et les freins	116
4.4. L'étude réalisée et ses principales conclusions	117
4.5. Article: Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata)	119
5. CHAPITRE V : SYSTÉMATIQUE DES PHYTOSEIIDAE : ÉTUDE DES RELATIONS PHYLOGÉNÉTIQUES DE LA TRIBU EUSEIINI CHANT & MCMURTRY	137
5.1. Problématique	137
5.2. Les définitions de la tribu Euseiini Chant & McMurtry	138
5.3. Les défis à relever et les solutions proposées	139
5.4. L'étude réalisée et ses principales conclusions.....	140
5.5. Article: Integrative taxonomy approach for analysing evolutionary history of the tribe Euseiini Chant & McMurtry (Acari: Phytoseiidae) - Soumis à Systematics and Biodiversity	143
6. CHAPITRE VI : SYSTÉMATIQUE DES PHYTOSEIIDAE : ÉTUDE DES RELATIONS PHYLOGÉNÉTIQUES DES TROIS SOUS-FAMILLES	183
6.1. Problématique	183
6.2. Objectifs et hypothèses testées	184
6.3. Les défis à relever et les solutions proposées	184
6.4. Méthodologie mise en œuvre pour l'étude des relations phylogénétiques des trois sous-familles de Phytoseiidae	186
6.5. Résultats obtenus	191
7. CHAPITRE VII : DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES	197
7.1. Rappel des objectifs.....	197
7.2. Synthèse des résultats : Taxonomie et diagnostic spécifique	197
7.3. Conclusions et perspectives : Taxonomie et diagnostic spécifique	199
7.4. Synthèse des résultats : Taxonomie et classifications supra-spécifiques	201

7.5.	Conclusion et perspectives : Taxonomie et classifications supra-spécifiques	202
7.6.	Les implications des résultats dans le contexte de lutte biologique.....	206
8.	Références bibliographiques	211

LISTE DE PUBLICATIONS INCLUSES DANS DE CETTE THÈSE

1. Kreiter S., **Vicente dos Santos V.**, Tixier M.-S., Fontaine O. (2016). An unexpected occurrence of *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot in La Reunion Island (Acari: Phytoseiidae). *Acarologia* 56(2):175–181. DOI : 10.1051/acarologia/20162254
2. Tixier M.-S., **Dos Santos Vicente V.**, Douin M., Duso C., Kreiter S. (2017). Great molecular variation questions the species *Phytoseius finitimus* (Acari: Phytoseiidae): implications for diagnosis within the mite family Phytoseiidae. *Acarologia* 57(3): 493–515 (2017). DOI: 10.1051/acarologia/20174168
3. **Vicente dos Santos V.**, Tixier M.-S. (2016). Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Cladistics*. DOI:10.1111/cla.12166
4. **Vicente dos Santos V.**, Tixier M.-S. (2017). Integrative taxonomy approach for analysing evolutionary history of the tribe *Euseiini* Chant & McMurtry (Acari: Phytoseiidae). (Soumis à *Systematics and Biodiversity*)

AUTRES PUBLICATIONS

5. Mutisya D. L., Banhawya E. S. M., **Vicente dos Santos V.**, Kariuki C.W., Khamala C. P. M., Tixier M.-S. (2017). Predatory Phytoseiidae mites associated with cassava in Kenya, identification key and molecular diagnosis (Acari: Phytoseiidae). (Accepté dans *Acarologia*)
6. Tixier M.-S., Otto J., Kreiter, S., **Vicente dos Santos V.**, Beard, J. (2014). Is *Neoseiulus wearnei* the *Neoseiulus californicus* of Australia? *Experimental and Applied Acarology*. 62: 267. DOI : 10.1007/s10493-013-9740-4
7. Kreiter S., **Vicente dos Santos V.**, Tixier M.-S., Fontaine O., Avril I., Cottineau J. B., Fillatre J. (2016). Présence inattendue d'un Phytoseiidae à La Réunion. *Phytoma*, n°65 Juin-Juil, p.38-42
8. Tixier M.-S., **Vicente dos Santos V.**, Douin M., Kreiter S. (2014). Electronic polytomous key to species of Phytoseiidae of agronomic importance, disponible en ligne: <http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/phytoseiidae/polytomouskeyagronomicspecies>.
9. Moraes G. J. de, Venancio R., **dos Santos, Victor L. V.**, Paschoal A.D. (2015). Potential of Ascidae, Blattisociidae and Melicharidae (Acari: Mesostigmata) as Biological Control Agents of Pest Organisms. Prospects for Biological Control of Plant Feeding Mites and Other Harmful Organisms. 1ed: Springer International Publishing, 2015, v. 19, p. 33-75. DOI: 10.1007/978-3-319-15042-0_2

PARTICIPATIONS ET PRÉSENTATIONS DANS DES CONGRÈS

1. 8th Symposium of the EUROpean Association of ACarologists (2016). “Mites and Ticks: from Genes to Populations”. Polytechnic University of Valencia – UPV Spain, July 2016.
 - a. **Vicente dos Santos V.**, Tixier M.-S. “Molecular markers for access deep phylogeny in the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata)”. (Présentation orale)
 - b. Tixier M.-S., **Vicente dos Santos V.**, Douin, M., Kreiter S, “Identification polytomous key of Phytoseiidae species (Acari: Mesostigmata) of agronomic interest: an online freely available tool”.
 - c. Kumral N. A., Çobanoğlu S., Tixier M.-S., **Vicente dos Santos V.** “A preliminary comparative study on morphological and molecular characters of *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) *athiasae* and *Typhlodromus* (*Anthoseius*) *recki* from Turkey”. (Poster)

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Position taxonomique actuelle de la famille des Phytoseiidae, (Chant & McMurtry, 2007 ; Krantz & Walter, 2009 ; Lindquist <i>et al.</i> , 2009)	34
Figure 2. Nombre d'espèces de Phytoseiidae dans les régions biogéographiques pour chacune des trois sous-familles Amblyseinae, Phytoseiinae et Typhlodrominae (d'après Tixier <i>et al.</i> , 2008c).....	36
Figure 3. Aspects morphologiques des acariens de la famille des Phytoseiidae. (A) Le gnathosoma et l'idiosoma d'un acarien adulte (© Walter 2005) ; (B) différentes nuances de couleurs du corps des Phytoseiidae : (i) <i>Euseius tularensis</i> (photo : ©Jack Kelly Clark), (ii) <i>Neoseiulus californicus</i> (photo: ©Shinkai/Baba), (iii) <i>Phytoseiulus persimilis</i> (photo: ©Gernot Kunz), (iv) <i>Iphiseius degenerans</i> (photo : ©Gernben Mensselink ; (C) (i) le stade larvaire d' <i>Amblyseius swirskii</i> (trois paires de pattes) (photo : ©Mahmut Doğramaci), (ii) le stade adulte de <i>Neoseiulus californicus</i> (quatre paires de pattes) (photo : ©Jack Kelly Clark) ; (D) Morphologie d'une patte d'un acarien adulte (©Walter 2005).....	38
Figure 4. Le gnathosoma et les chélicères des acariens adultes de la famille des Phytoseiidae. (A) le gnathosoma (d'après © Walter 2005) ; (B) la chélicère des femelles adultes (d'après © Walter 2005) ; (C) le spermatodactyle d'un mâle adulte (d'après © Walter 2005).....	40
Figure 5. Aspects morphologiques de la spermathèque des femelles adultes de Phytoseiidae. (A) la spermathèque d'une femelle adulte (d'après Tixier <i>et al.</i> , 2010) ; (B) la variation des formes et de dimensions des spermathèques (d'après Tixier, 2010).....	40
Figure 6. La chaetotaxie du bouclier dorsal des trois sous-familles de Phytoseiidae Amblyseinae, Phytoseiinae et Typhlodrominae (d'après ©Walter 2005).....	52
Figure 7. Représentation sous forme d'arbre de la classification proposée pour les genres de la tribu Euseiini Chant & McMurtry d'après Chant & McMurtry (2005b).....	140
Figure 8. Arbre phylogénétique obtenu par analyse bayésienne des six marqueurs moléculaires (12S, CYTB, COI, ITSS, HSP90, 28S) comprenant 29 genres et 11 tribus des trois sous-familles de Phytoseiidae : Amblyseinae (rouge), Typhlodrominae (bleu) et Phytoseiinae (vert).....	203
Figure 9. Proportion des séquences de Phytoseiidae dans Genbank (i) diversité des marqueurs, (ii) tableau présentant le nombre de séquences des marqueurs CYTB ADN mt, 12S ARNr, COI ADN mt et ITSS et d'espèces correspondantes et (iii) tableau présentant le nombre de séquences des marqueurs CYTB ADN mt, 12S ARNr, COI ADN mt et ITSS et nombre de séquences correspondant en ôtant les espèces non identifiées (Tixier, données personnelles).....	203

Figure 10. Distribution des variations intraspécifiques pour la famille des Phytoseiidae, calculées à partir des données issues de la littérature (distances) pour 4 marqueurs moléculaires : 12S ARNr, CytB ADN mt, COI ADN mt, et ITSS (Tixier, données personnelles)**205**

Figure 11. Schéma représentant un exemple de règle de décision pour le diagnostic moléculaire des espèces de Phytoseiidae faisant intervenir un fragment d'ADN mitochondrial (12S ARNr) et un fragment d'ADN nucléaire (ITSS) (Tixier, données personnelles).....**207**

LISTE DES ENCADRÉS

Encadré 1. La chaetotaxie des boucliers dorsal et ventral des acariens de la famille des Phytoseiidae.....**42**

Encadré 2. Définition d'état de caractère.....**58**

Encadré 3. Les concepts de clades en phylogénie.....**59**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Les espèces de Phytoseiidae les plus couramment utilisées dans la lutte biologique, leurs proies respectives et espèces morphologiques proches et/ou synonymes.....**32**

Tableau II. Liste des principales études utilisant des marqueurs moléculaires pour le diagnostic des espèces de Phytoseiidae.....**66**

Tableau III. Marqueurs nucléaires les plus couramment utilisées pour les différents groupes d'acariens et niveaux taxonomiques investigués.....**68**

Tableau IV. Les espèces étudiées et les origines des séquences par marqueur, (*) obtenu pendant ce travail de thèse et / ou présentes dans nos bases de données et / ou obtenues sur Genbank (accession numbers).....**188**

INTRODUCTION GENERALE

Cette thèse s'intéresse aux apports de la taxonomie dans un contexte de lutte biologique, en se basant sur le modèle des acariens prédateurs de la famille des Phytoseiidae. La lutte biologique est une modalité de contrôle des organismes nuisibles dans les systèmes agricoles, basée sur l'utilisation d'antagonistes naturels (ou auxiliaires des cultures) afin d'abaisser les densités de ravageurs en dessous des seuils de tolérance économique (Stern *et al.*, 1959 ; DeBach, 1974 ; Eilenberg *et al.*, 2001 ; Radcliffe & Hutchison, 2009). Afin de mener à bien des stratégies de lutte biologique, il est indispensable d'accéder à différentes connaissances afférentes entre autres aux interactions entre les auxiliaires et leurs proies et hôtes (e.g. spécificité, réponses fonctionnelle et numérique), aux aspects de dynamique et de génétique de populations ou encore d'interactions tritrophiques (plantes hôtes, auxiliaires, proies) (Rosen, 1986 ; DeBach & Rosen, 1991). Cependant, l'élément essentiel pour accéder à l'ensemble de ces caractéristiques et connaître ces interactions est l'identification correcte de l'auxiliaire et de la proie / hôte contre lequel il est censé lutter. Ainsi, les éléments de taxonomie et de diagnostic sont donc indispensables au succès du contrôle biologique. De nombreux exemples dans la littérature montrent les conséquences économiques et environnementales d'une mauvaise identification des ennemis naturels (i.e. Bortolus, 2008 ; Marshall, 2000 ; Hoelmer & Kirk, 2005 ; Kim & Birne, 2006 ; Bin *et al.*, 2012). On peut citer l'exemple de l'espèce *Epilachna varivestis* Mulsant, un coléoptère ravageur d'Amérique du Nord confondu avec des espèces de coccinelles prédatrices (Marshall, 2000) ou encore celui de l'acarien *Tyrophagus phylloxerae* Riley décrit des États-Unis et importé en France pour lutter contre le phylloxera. Il s'est avéré quelques années plus tard que cette espèce était déjà connue et présente en France ; il s'agissait de *Rhyzoglyphus echinopus* Fumouze & Robin, ravageur des bulbes et suspecté de causer des dégâts sur la vigne (Michael, 1903). Pour la famille des Phytoseiidae, on peut citer les difficultés taxonomiques liées à la distinction entre *Amblydromalus limonicus* (Garman & McGregor) et *Amblydromalus manihoti* (Moraes) en Colombie, qui ont entravé la recherche des espèces potentielles pour le programme de lutte

biologique classique contre l'acarien vert du manioc (Edwards *et al.*, 1997 ; Hoy, 2011).

Outre l'aspect d'identification, la systématique par l'étude des relations phylogénétiques entre les espèces d'auxiliaires peut permettre en retraçant l'histoire évolutive des organismes de mieux connaître l'évolution des traits d'histoire de vie importants pour le raisonnement de la lutte biologique des ravageurs (invasions, spécificités, reproduction). Ce champ d'investigation est récent et les études concernent essentiellement les ennemis naturels utilisés pour contrôler les mauvaises herbes. L'idée sous-jacente est que les traits d'histoire de vie (la consommation de certaines proies, nourriture alternative, vie sur des plantes plus ou pileuses, contenant plus ou moins de métabolites secondaires) sont issues d'une histoire évolutive non convergente et que ces adaptations pourraient être portées par des groupes monophylétiques. Étudier et caractériser les déterminants évolutifs permettrait de prédire ainsi certains traits d'histoire de vie pour tous les représentants d'un clade donné (Gauld, 1986 ; Shaw, 1988 ; Miller & Wenzel, 1995 ; Godefroid *et al.*, 2016). Certains auteurs montrent que les dommages causés par des herbivores sur des chênes aux USA diminuent avec la ressemblance phylogénétique entre les espèces considérées (Ness *et al.*, 2011). Pour les acariens Phytoseiidae, peu d'études mobilisent ce concept. On peut citer l'exemple d'une publication portant sur l'espèce *Phytoseiulus longipes* Evans, où la proximité entre les populations semblent être liée à certains traits d'histoire de vie (plantes hôtes et proies) (Tixier *et al.*, 2010a).

Ce travail de thèse s'intéresse à la famille d'acariens Phytoseiidae, qui est composée d'espèces prédatrices planticoles. Les espèces de cette famille sont présentes partout dans le monde, et certaines d'entre elles sont communément utilisées pour le contrôle d'acariens et petits insectes ravageurs sur de nombreuses cultures (Zhang, 2003 ; Moraes & Flechtmann, 2008 ; Hoy, 2011). Actuellement, cette famille est composée de 2,709 espèces distribuées dans 91 genres, 15 tribus et trois sous-familles : Amblyseiinae, Phytoseiinae et Typhlodrominae (Demite *et al.*, 2014). Cette division est définie essentiellement sur la base de la chaetotaxie de l'idiosoma (présence / absence de soies, disposition et longueurs) et d'autres caractères

morphologiques comme la forme de la spermathèque ou de la plaque ventrianale (Chant & McMurtry, 2007). Du fait de l'importance des espèces de cette famille pour le contrôle biologique, elle est la plus étudiée dans l'ordre des Mesostigmata. Cependant, certains aspects taxonomiques ne sont pas encore bien définis et / ou clarifiés. Au cours des dernières décennies, grâce au développement de marqueurs moléculaires et de nouveaux outils de bio-informatique appliqués à la systématique, des travaux se sont attachés à étudier les limites entre les espèces et les variations intra et inter-spécifiques pour assurer une identification fiable. Cependant de nombreuses questions sont encore peu ou pas du tout résolues. Cette thèse propose donc une contribution à la taxonomie des Phytoseiidae pour apporter des réponses méthodologiques, analytiques et scientifiques par le développement d'approches moléculaires.

L'utilisation de marqueurs moléculaires en systématique permet d'accélérer, de fiabiliser la description de nouvelles espèces et d'améliorer la compréhension des relations évolutives entre les espèces (Edwards *et al.*, 1997 ; Bellows & Fisher, 1999 ; Tautz *et al.*, 2002, 2003). Dans le cas d'organismes de petite taille comme les acariens de la famille des Phytoseiidae, le nombre de caractères visibles est faible, leur interprétation est parfois difficile (e.g. analogie, homologie, variation intra et inter-spécifique) et la pertinence de certaines caractéristiques pour définir des espèces parfois mises en doute. L'utilisation de marqueurs moléculaires s'est avérée pertinente pour résoudre certaines interrogations concernant des complexes d'espèces (Jeyaprakash & Hoy, 2002 ; Okassa *et al.*, 2009, 2010 ; Kanouh *et al.*, 2010b ; Tixier *et al.*, 2011a) et les marqueurs pertinents pouvant être utilisés de façon routinière sont disponibles (COI mtDNA, CYTB mtDNA, 12S rRNA , ITSS). Cependant le nombre d'études moléculaires pour la famille des Phytoseiidae est encore limité, et le nombre d'espèces étudiées faible. Des développements analytiques pour interpréter les variations moléculaires, et établir des règles de décision générales pour clarifier le diagnostic à l'échelle de la famille (e.g. distances moléculaires entre deux espèces ou deux populations) sont donc nécessaires.

- ❖ ***Ceci correspond au premier objectif de la thèse. Ce travail vise à étudier par des approches intégratives les variations entre différentes populations d'une même espèce et à formaliser les seuils de décision (espèce ou populations).***

Au niveau taxonomique supra-spécifique (i.e. relations évolutives entre les espèces, les genres, les tribus et les sous-familles), le système de classification actuel des Phytoseiidae n'est pas basé sur des analyses cladistiques. Il a été établi à partir de comparaisons morphologiques des taxa et des avis parfois controversés de plusieurs spécialistes (Chant & McMurtry, 2007). Ce système n'a donc pas de réelle base scientifique mais pose des hypothèses qui méritent d'être testées par des approches phylogénétiques (Kanouh *et al.*, 2010a ; Tsolakis *et al.*, 2012 ; Tsolakis & Ragusa, 2015). Les premières analyses cladistiques basées sur des caractères morphologiques aboutissent à des arbres non résolus du fait du faible nombre de caractères pris en compte par rapport au grand nombre de taxa. Les approches moléculaires, apportant un nombre de caractères plus important, s'avèrent donc intéressantes pour tester la classification actuelle. Cependant contrairement au niveau spécifique, les marqueurs moléculaires permettant de résoudre les niveaux supra-spécifiques n'existent pas pour cette famille.

- ❖ ***Le deuxième objectif de ce travail de thèse est donc la mise au point de marqueurs moléculaires pertinents pour résoudre des nœuds profonds de l'arbre évolutif des Phytoseiidae (relations entre espèces d'un même genre, entre genres d'une même tribu, entre tribus d'une même sous-famille et enfin entre sous-familles).***

Comme dit précédemment, aucune étude phylogénétique n'a été réalisée, exceptée deux montrant grâce à des approches moléculaires la polyphylie des genres *Phytoseiulus* et *Neoseiulus* (Kanouh *et al.*, 2010a ; Tsolakis *et al.*, 2012). Cependant, ces études sont d'une part peu nombreuses et d'autre part ces deux seuls travaux ne concernent que des relations entre espèces d'un même genre, donc pas des niveaux taxonomiques « profonds ». Il s'avère donc important de développer des analyses phylogénétiques sur les autres taxa de cette famille, tester leur validité taxonomique et déterminer la pertinence des marqueurs développés dans l'objectif 2 de cette thèse.

- ❖ *Le troisième objectif de cette thèse est de tester la monophylie de la tribu Euseiini, une des tribus comprenant le plus d'espèces dans la famille des Phytoseiidae, en utilisant les marqueurs moléculaires développés dans l'objectif 2. Pour comprendre les facteurs affectant l'évolution de ces taxa et proposer des scénarios évolutifs, des caractères morphologiques, biogéographiques et écologiques (plantes hôtes) ont été pris en compte.*
- ❖ *Le quatrième objectif de cette thèse est de tester la monophylie des autres taxa (genres, tribus, sous-familles) avec la construction d'une phylogénie comprenant 29 genres des trois sous-familles. Ce quatrième volet vise à dresser les bases évolutives de cette famille. Des étapes complémentaires, e.g. études biogéographiques et écologiques, seraient encore nécessaires pour relier ces relations à certains traits d'histoire de vie pouvant impacter la lutte biologique.*

Ce travail est présenté selon le format de thèse sur articles et est structuré en **sept** chapitres.

- Les **chapitres (I) et (II)** correspondent à l'état de l'art.

Le **chapitre (i)** présente une revue bibliographique concernant la famille Phytoseiidae : des éléments taxonomiques, biologiques, morphologiques, biogéographiques ainsi que leur utilisation dans les stratégies de lutte biologique sont décrits et documentés.

Le **chapitre (II)** aborde les principaux concepts et méthodes d'analyses phylogénétiques pour le diagnostic inter- et intra-spécifique.

- Le **chapitre (III)** s'intéresse à l'utilisation des approches moléculaires pour le diagnostic spécifique chez les Phytoseiidae. Il est composé de deux articles :

Le premier intitulé « *An unexpected occurrence of Amblyseius swirskii Athias-Henriot in La Réunion Island (Acari: Phytoseiidae)* » met en œuvre des approches morphologiques et moléculaires pour confirmer la présence d'une espèce d'auxiliaire dans l'île de la Réunion, avec des conséquences appliquées importantes notamment quant à l'importation de cet organisme et les lâchers commerciaux.

Le deuxième intitulé « *Great molecular variation questions the species Phytoseius finitimus (Acari: Phytoseiidae: implications for diagnosis within the mite family Phytoseiidae)* » met en œuvre et compare plusieurs concepts méthodologiques pour

prendre des décisions correctes quant à la définition d'espèces cryptiques ou de populations d'une même espèce.

- Le **chapitre (IV)** comprend l'article « *Which molecular markers for assessing which taxonomic level?* » *The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari : Mesostigmata)* » qui vise à définir de nouveaux marqueurs moléculaires et à tester leur pertinence pour étudier différents niveaux taxonomiques supra-spécifiques.

- Les **chapitres (V)** et **(VI)** correspondent à une mise en application des marqueurs développés dans le précédent chapitre.

Le **chapitre (V)** comprend l'article « *Molecular phylogeny and biogeography of the tribe Euseiini Chant & McMurtry (Acari : Phytoseiidae)* » qui s'intéresse aux relations phylogénétiques et à l'évolution des genres de la tribu Euseiini, en développant une approche intégrative comprenant des données moléculaires, morphologiques, biogéographiques et écologiques.

Le **chapitre (VI)** aborde les relations phylogénétiques entre 29 genres appartenant aux trois sous-familles de Phytoseiidae. Cette étude est rédigée en français et correspond à un article en cours de préparation.

- Finalement nous terminerons la présentation de ce travail dans le **chapitre (VII)**, par une discussion générale des résultats obtenus et les perspectives qu'ils ouvrent.

CHAPITRE I : LA FAMILLE DES PHYTOSEIIDAE

1.1. La famille Phytoseiidae : des acariens prédateurs efficaces en lutte biologique

L'Homme, par le concept de lutte biologique, tente d'imiter la nature en favorisant l'action des ennemis naturels, afin de réduire les densités d'organismes nuisibles et par là-même les dégâts qu'ils occasionnent (Moraes & Flechtmann, 2008).

Depuis les années 1950, les espèces de la famille Phytoseiidae (Berlese) ont été largement utilisées dans les agrosystèmes et sont actuellement parmi les agents de lutte biologique les plus importants pour contrôler les acariens ravageurs de diverses cultures partout dans le monde (i.e. Zhang, 2003).

Les Phytoseiidae sont des espèces planticoles connues pour leur capacité de prédation d'acariens phytophages (Tetranychidae (Donnadieu), Tenuipalpidae (Berlese) et Eriophyidae (Nalepa)) et de petits insectes ravageurs des cultures (McMurtry, 1982 ; Charles *et al.*, 1985 ; Duso & Camporese, 1991 ; Kreiter *et al.*, 1993a, b, 2000 ; Chermiti, 1992 ; Kostianen & Hoy, 1996 ; McMurtry & Croft, 1997 ; Tixier *et al.*, 1998, 2000 ; Ferragut *et al.*, 2010 ; Cavalcante *et al.*, 2015a ; Gigon *et al.*, 2016).

Selon Sigsgaard (2006), les Phytoseiidae sont par exemple utilisés pour le contrôle des acariens phytophages et des thrips dans environ 90,000 ha dans le monde, pour les seules cultures de vigne (40,000 ha), de vergers (30,000 ha) et de fraisiers (20,000 ha). Certaines espèces sont élevées et commercialisées pour être lâchées dans les agrosystèmes. D'autres sont utiles car naturellement présentes dans les agrosystèmes.

Le **Tableau I** présente une liste des espèces de Phytoseiidae les plus couramment utilisées en lutte biologique dans le monde. Les espèces présentées dans ce tableau sont celles aussi incluses dans la clef d'identification polytomique disponible sur <http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/phytoseiidae/polytomouskeyagronomicspecis.htm> qui comprend également des espèces morphologiquement très proches de ces dernières.

Selon leurs attributs biologiques, les espèces de Phytoseiidae sont utilisées de façon différente dans les trois types de lutte biologique : par conservation de la biodiversité, par acclimatation et par augmentation.

La lutte biologique par conservation de la biodiversité : consiste à modifier l'environnement des parcelles ou les pratiques culturales pour préserver les ennemis naturels et augmenter le potentiel de contrôle des ravageurs (DeBach, 1974 ; Eilenberg *et al.*, 2001). La première étape de la préservation et valorisation de ce potentiel d'auxiliaires est la caractérisation des espèces naturellement présentes dans les abords non cultivés des parcelles et / ou à l'intérieur de celles-ci. Dans un deuxième temps, il s'agit de déterminer les facteurs permettant de favoriser les espèces les plus efficaces pour mettre en œuvre des pratiques et des aménagements adéquats. Pour les Phytoseiidae, cette stratégie de lutte biologique a été essentiellement appliquée dans des agrosystèmes pérennes, notamment viticoles et arboricoles (i.e. Kreiter *et al.*, 2000). Elle a conduit à l'abandon quasi-total de l'utilisation des acaricides dans ces agrosystèmes notamment grâce à des aménagements permettant la colonisation des parcelles par des espèces prédatrices généralistes telles que *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) *pyri* Scheuten et *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) dans les vignobles et *Amblyseius andersoni* Chant dans les vergers en Europe (Duso *et al.*, 1993 ; Kreiter *et al.*, 2000, 2002 ; Tixier *et al.*, 2000).

La lutte biologique par acclimatation (ou lutte biologique classique) : est utilisée pour contrôler des espèces de ravageurs invasifs (Eilenberg *et al.*, 2001). Elle consiste à importer des ennemis naturels de la zone d'origine du ravageur et à les introduire dans un nouvel écosystème (Van Drieshe & Bellows, 1996 ; Coombs & Hall, 1998 ; Eilenberg *et al.*, 2001). Un exemple de réussite de lutte biologique grâce aux Phytoseiidae est le contrôle en Afrique de l'acarien vert du manioc *Mononychellus tanajoa* (Boundar), espèce originaire d'Amérique du Sud (Yaninek *et al.*, 1989). Plusieurs espèces collectées au Brésil et en Colombie ont été introduites dans certains pays d'Afrique (e.g. *Neoseiulus idaeus* (Denmark & Muma), *Amblydromalus manihoti* (Moraes) et *Typhlodromalus aripo* (De leon)). Cette dernière espèce est la seule à s'être installée durablement sur tout le continent africain. Elle permet

aujourd'hui de contrôler efficacement l'acarien vert du manioc sans avoir recours aux pesticides (Yaninek & Hanna, 2003).

La lutte biologique par augmentation : consiste à augmenter artificiellement la densité des ennemis naturels dans des zones cultivées (essentiellement dans les serres) par des lâchers massifs (innondatifs) ou des lâchers inoculatifs (Crump *et al.*, 1999 ; Eilenberg *et al.*, 2001). Les lâchers innondatifs consistent à introduire une grande quantité d'auxiliaires pour réduire d'importantes densités de proies, *via* un contrôle curatif. Les lâchers inoculatifs consistent à introduire une petite quantité d'auxiliaires pour permettre une régulation préventive et à long terme des ravageurs.

La lutte biologique par lâchers innondatifs est actuellement la plus explorée commercialement par les compagnies privées (e.g. Biobest®, Biotop® et Koppert®). Les espèces de Phytoseiidae les plus commercialisées en Europe sont *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, *Neoseiulus californicus* (McGregor), *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans), *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot et *Transeius montdorensis* (Schicha).

Tableau I. Les espèces de Phytoseiidae les plus couramment utilisées dans la lutte biologique, leurs proies respectives et espèces morphologiques proches et/ou synonymes.

Sous-famille	Genre	Espèces	Espèces ciblées dans la lutte biologique	Synonymes ou espèces proches
Amblyseiniinae	<i>Amblydromalus</i>	<i>limonicus</i>	Thrips, aleurodes	<i>Typhlodromalus garmani</i> (Chant), <i>Typhlodromalus rapax</i> (De Leon)
		<i>aerialis</i>	<i>Panonychus citri</i> (McGregor)	
		<i>andersoni</i>	<i>Panonychus ulmi</i> Koch, <i>Aculops lycopersici</i> (Masee), <i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande (Insecta : Thysanoptera)	<i>A. britannicus</i> (Chant), <i>A. charui</i> Gupta, <i>A. potentillae</i> (Garman), <i>A. reflexus</i> (Denmark & Knisley) Morphologiquement proche d' <i>A. swirski</i>
		<i>eharai</i>	<i>Tetranychus kanzawai</i> Kishida, <i>Aculus fockeui</i> (Nalepa & Trouessart)	
	<i>Amblyseius</i>	<i>herbicolus</i>	<i>Tetranychus urticae</i> Koch, <i>Brevipalpus phoenicis</i> (Geijskes) <i>Oligonychus ilicis</i> (McGregor), <i>Pseudodendrothrips mori</i> (Niwa) (Insecta : Thysanoptera)	<i>A. amitae</i> (Bhattacharyya), <i>A. deleoni</i> Muma & Denmark, <i>A. giganticus</i> Gupta, <i>A. impactus</i> Chaudhri, <i>A. thermophilus</i> Karg
		<i>largoensis</i>	<i>Aceria guerreronis</i> Keifer, <i>P. citri</i> , <i>Polyphagotarsonemus latus</i> Banks, <i>Raoiella indica</i> Hirst	<i>A. amtalaensis</i> Gupta, <i>A. sakalava</i> Blommers
		<i>orientalis</i>	<i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) (Insecta : Hemiptera), <i>P. citri</i> , <i>thrips</i>	
		<i>swirskii</i>	Thrips, <i>T. urticae</i>	<i>A. capsicum</i> (Basha, Yousef, Ibrahim & Mostafa), <i>A. enab</i> El-Badry, <i>A. rykei</i> Pritchard & Baker
	<i>Euseius</i>	<i>gallicus</i>	Thrips	Morphologiquement proche d' <i>E. stipulatus</i>
		<i>ovalis</i>	<i>T. urticae</i> , <i>T. kanzawai</i> , <i>Oligonychus mangiferus</i> (Rhlaman & Sagra), <i>P. citri</i> , <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood), thrips	
		<i>stipulatus</i>	<i>P. citri</i> , <i>T. urticae</i>	Morphologiquement proche d' <i>E. gallicus</i>
		<i>tularenensis</i>	<i>Scirtothrips citri</i> (Moulton), <i>Tetranychus pacificus</i> , <i>P. citri</i>	
	<i>Euseius</i>	<i>concordis</i>	<i>Aculalops lycopersi</i> , <i>T. mexicanus</i> , <i>Tenuipalpus hevea</i> , <i>Oligonychus gossypii</i> , <i>Polyphagotarsonemus latus</i>	<i>E. flechtmani</i> Denmark & Muma
		<i>scutalis</i>	<i>T. urticae</i> , <i>P. citri</i> , <i>Oligonychus persae</i> , aleurodes, lépidoptères, noctuidés	<i>E. delhiensis</i> (Narayanan & Kaur), <i>E. gossipi</i> (El-badry), <i>E. libanesi</i> (Dosse), <i>E. rubini</i> (Swirski & Amitai)
	<i>Iphiseius</i>	<i>degenerans</i>	Thrips, <i>Eotetranychus orientalis</i> (Klein), <i>T. urticae</i>	<i>I. martigellus</i> El-Badry
	<i>Kampimodromus</i>	<i>aberrans</i>	<i>Eotetranychus carpini</i> (Oudemans)	<i>K. elongatus</i> (Oudemans), <i>K. vitis</i> (Oudemans)
		<i>alpinus</i>	<i>T. urticae</i> , <i>Phytonemus pallidus</i> (Banks)	<i>N. aurensensis</i> (Athias-Henriot), <i>N. polonicus</i> (Willmann)
		<i>barkeri</i>	<i>T. urticae</i> , thrips	<i>N. mckenzei</i> (Shchuster & Pritchard), <i>N. mycophilus</i> (Karg), <i>N. oahuensis</i> (Prasad), <i>N. picketii</i> (Specht), <i>N. usitatus</i> (van der Merwe)
	<i>Neoseiulus</i>	<i>californicus</i>	<i>T. urticae</i> , <i>P. ulmi</i>	<i>N. chilensis</i> (Dosse), <i>N. mungeri</i> (McGregor), <i>N. wearnei</i> (Schicha)
		<i>cucumeris</i>	<i>B. tabaci</i> , tarsonèmes, thrips	<i>N. coprophilus</i> (Karg), <i>N. thripsii</i> (Macgill)
		<i>idaeus</i>	<i>T. urticae</i>	<i>N. picanus</i> Ragusa
		<i>womersleyi</i>	<i>T. urticae</i> , <i>Tetranychus macfarlanei</i> (Baker & Pritchard), <i>O. mangiferus</i> , <i>Amphitetranychus viennensis</i> (Zacher) <i>P. citri</i> , <i>T. kanzawaki</i> ,	<i>N. pseudolongipinosus</i> (Xi, Liang & KE), <i>N. longispinosus</i> (Evans) — Collyer (1982)
	<i>Phytoseiulus</i>	<i>fragariae</i>	<i>Tetranychus</i>	
		<i>longipes</i>	<i>T. urticae</i> , <i>T. evansi</i>	
		<i>macropilis</i>	<i>Tetranychus</i>	<i>P. chanti</i> Ehara, <i>P. speyeri</i> Evans, morphologiquement proche de <i>P. persimilis</i>
	<i>Phytoseiulus</i>	<i>persimilis</i>	<i>T. urticae</i>	<i>P. rigegli</i> Dosse, <i>P. tardi</i> (Lombardini), morphologiquement proche de <i>P. macropilis</i>
	<i>Typhlodromalus</i>	<i>aripo</i>	<i>Mononychellus tanajoa</i> (Bondar)	
	<i>Transeius</i>	<i>montdorensis</i>	Thrips, aleurodes	
Phytoseiinae	<i>Phytoseius</i>	<i>finitimus</i>	Thrips, aleurodes, <i>T. urticae</i>	<i>P. dubinini</i> (Beglyarov)
Typhlodrominae	<i>Cydnoseius</i>	<i>negevi</i>	<i>T. urticae</i> , <i>B. tabaci</i> , <i>Eriophyes ficus</i> Cotte	<i>C. africanus</i> (Yousef), <i>C. cordiae</i> Muma, <i>C. medianicus</i> (El-badry), <i>C. zaheri</i> (El-badry)
	<i>Galendromus</i>	<i>occidentalis</i>	<i>T. pacificus</i> McGregor, <i>Eotetranychus willamette</i> Ewing	
	<i>Galendromus</i> (<i>Galendromus</i>)	<i>annectens</i>	<i>Oligonychus perseae</i> Tuttle	
	<i>Neoseiulella</i>	<i>tiliarum</i>	Ériophydes, <i>Tetranychus</i>	<i>N. formosa</i> (Wainstein)
	<i>Paraseiulus</i>	<i>soleiger</i>	Eriophyides	<i>P. incognitus</i> (Wainstein & Arutunjan), <i>P. trimediosetus</i> (Xin, Liang & Ke), <i>P. xiningensis</i> Chen & Chu
		<i>athiasae</i>	<i>T. urticae</i> , <i>Eriopes dioscoridis</i> (Insecta : Thysanoptera), <i>P. citri</i>	<i>T. (T.) hellenicus</i> Swirski & Ragusa, <i>T. (T.) pelargonicus</i> El-Badry, <i>T. (T.) peribibus</i> Wainstein & Arutunjan, <i>T. (T.) siwa</i> El-Badry
	<i>Typhlodromus</i> (<i>Typhlodromus</i>)	<i>exhilaratus</i>	<i>E. carpini</i>	Morphologiquement proche à <i>T. (T.) phialatus</i>
		<i>phialatus</i>	Acariens ravageurs en citrus	<i>T. (T.) ulex</i> Evans
		<i>pyri</i>	<i>Tetranychus</i> , <i>Drepanothrips reuteri</i> Uzel	
	<i>Typhlodromus</i> (<i>Anthoseius</i>)	<i>caudiglans</i>	<i>P. ulmi</i>	<i>T. (A.) nodosus</i> (De Leon), <i>T. (A.) timidus</i> Wainstein & Arutunjan

1.2. Position taxonomique des Phytoseiidae

Avec 2,709 espèces décrites dont 2,436 considérées comme valides, la famille des Phytoseiidae est celle qui comprend le plus d'espèces dans l'ordre des Mesostigmata (ou Gamasida) (Moraes *et al.*, 2004 ; Tixier *et al.*, 2008c ; Demite *et al.*, 2014), certainement du fait des nombreuses études liées à leur rôle majeur en lutte biologique (i.e. Gerson, 2003 ; Hoy, 2011 ; McMurtry *et al.*, 2013 ; Lopes *et al.*, 2015). Cette famille est la seule parmi les Mesostigmata dont les espèces sont très majoritairement planticoles. Ainsi, Takahashi et Chant (1993) suggèrent qu'elle a probablement divergé de son groupe-frère, la famille des Ascidae (Oudemans), il y a plus de 100 millions d'années avec l'émergence des angiospermes. La position taxonomique de la famille des Phytoseiidae selon la classification actuelle (Chant & McMurtry, 2007 ; Krantz & Walter, 2009 ; Lindquist *et al.*, 2009) est décrite dans la **Figure 1**. Cette famille est divisée en trois sous-familles et 91 genres (Moraes *et al.*, 1986, 2004 ; Chant & McMurtry, 2007). Cette organisation taxonomique est exclusivement basée sur des caractères morphologiques (Chant & McMurtry, 2007). De plus, le système de classification actuel n'est pas fondé sur des approches cladistiques, et de nombreuses divergences d'opinion sur la validité des genres et des sous-familles existent dans la littérature.

Domaine : **Eukaryota** Whittaker & Margulis, 1978

Règne : **Animalia** Linnaeus, 1758 synom. **Metazoa** Haeckel, 1874

Sous-règne : **Bilateria** Haeckel, 1874

Infra-règne: **Protostomia** Grobben, 1908

Super-embranchement : Ecdysozoa Aguinaldo *et al.*, 1997

Embranchement: **Arthropoda** Latreille, 1829

Sous-embranchement : **Chelicerata** Heymons, 1901

Classe : **Arachnida** Cuvier, 1812

Sous-classe : **Acari** (Leach, 1817)

Super-ordre: **Anactinotrichida** synom. **Parasitiformes** Reuter, 1909

Ordre : **Mesostigmata** Canestrini, 1891

Sous-ordre : **Monogynaspida** Camin & Gorirossi, 1955

Cohorte : **Gamasina** Leach, 1815

Sous-cohorte: **Dermanyssiae** Kolenati, 1859

Super-famille : **Ascoidea** Oudemans, 1905

Famille : **Phytoseiidae** Berlese, 1916

Figure 1. Position taxonomique actuelle de la famille des Phytoseiidae (Chant & McMurtry, 2007 ; Krantz & Walter, 2009 ; Lindquist *et al.*, 2009).

1.3. Distribution biogéographique des Phytoseiidae

Les Phytoseiidae sont présents dans toutes les régions biogéographiques, sauf dans la région Antarctique (**Figure 2**). Le nombre d'espèces le plus élevé est signalé dans les régions Ouest-Paléarctique, Néotropicale et Orientale. Ces trois régions présentent également les niveaux d'endémisme les plus importants (Tixier *et al.*, 2008c). Le plus grand nombre d'espèces de la sous-famille des Amblyseiinae est observé dans la zone Néotropicale et dans une moindre mesure dans les régions Ouest Paléarctique et Orientale. La sous-famille des Typhlodrominae présente un profil de distribution différent, la majorité des espèces est signalée des zones Ouest et Est Paléarctiques et dans une moindre mesure de la région orientale. Enfin, le nombre le plus élevé d'espèces de Phytoseiinae est observé dans la région Orientale et dans une moindre mesure dans les zones Néotropicale et Paléarctiques. Les taux d'endémisme des trois sous-familles sont généralement les plus forts dans les régions où le plus grand nombre d'espèces est observé. A noter cependant que pour la sous-famille des Typhlodrominae, les plus hauts niveaux d'endémisme sont observés dans la zone Ethiopienne alors que ce n'est pas la zone comprenant le plus d'espèces. Tixier *et al.* (2008c) ont proposé une distribution de tous les genres de Phytoseiidae décrits jusqu'en 2005. Cette étude constitue l'étude biogéographique des Phytoseiidae la plus complète et la plus récente.

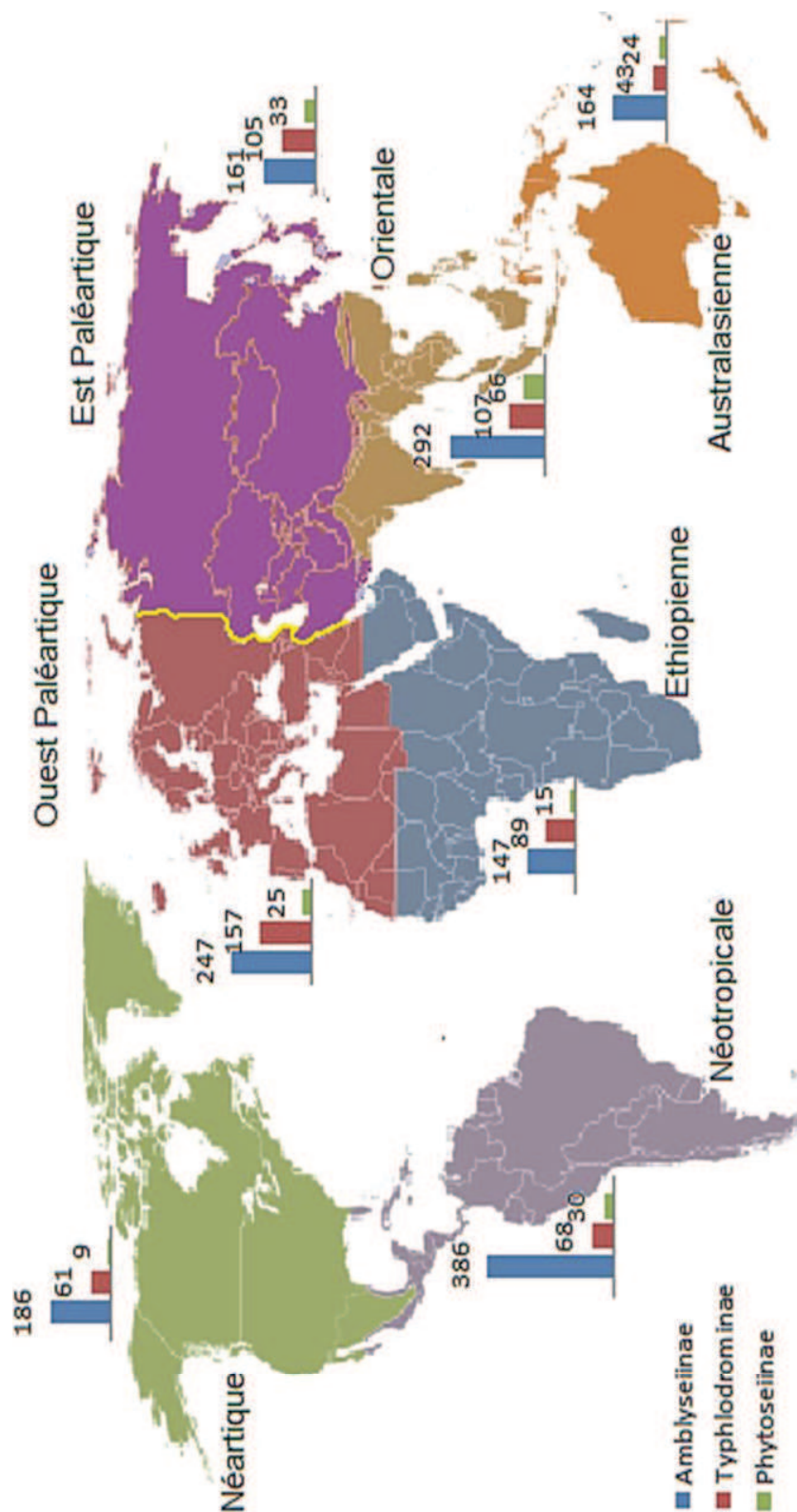
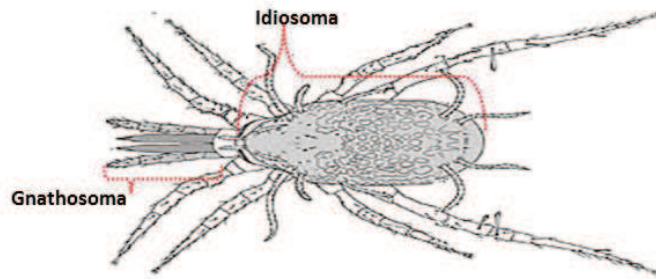


Figure 2. Nombre d'espèces de Phytoseiidae dans les régions biogéographiques pour chacune des trois sous-familles Amblyseinae, Phytoseiinae et Typhlodrominae (d'après Tixier *et al.*, 2008c)

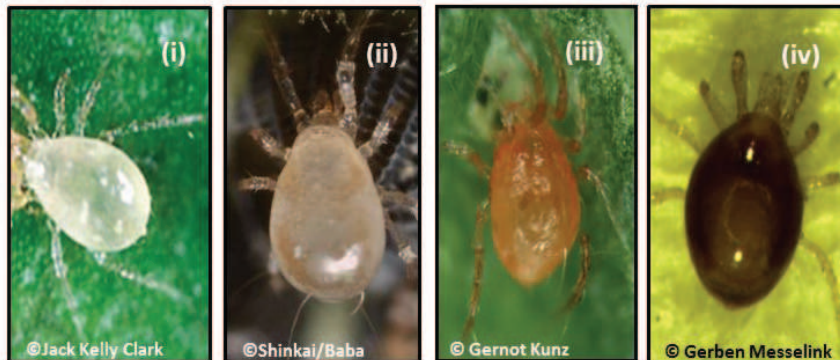
1.4. Caractéristiques morphologiques générales des Phytoseiidae

Le corps des Phytoseiidae, comme celui de tous les acariens, est divisé en une région antérieure, le gnathosoma, et une région postérieure, l'idiosoma (Kranz, 1978) **(Figure 3.A.)**. Les espèces de Phytoseiidae ont un corps piriforme présentant différents niveaux de sclérotisation et une coloration allant du blanc à diverses teintes de marron (Moraes & Flechtmann, 2008) **(Figures 3.B.)**. La longueur de l'idiosoma varie de 200 à 600 μm , la taille des femelles étant plus grande que celle des mâles (Helle & Sabelis, 1985). Au stade larvaire, les acariens sont hexapodes et au stade adulte le corps comporte quatre paires de pattes (Chant & McMurtry, 1994 ; Kreiter *et al.*, 2003) **(Figures 3.C., 3.D.)**.



Adapté (© Walter, 2005)

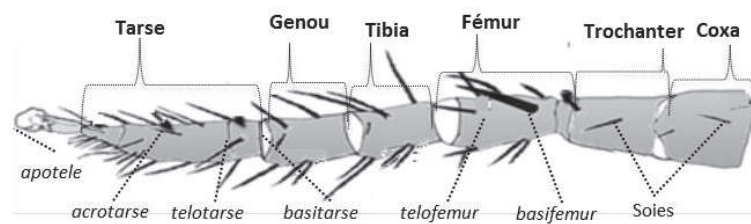
3.A. Le gnathosoma et l'idiosoma d'un acarien adulte.



3.B. Différentes nuances de couleur du corps des Phytoseiidae: (i) *Euseius tularensis*, (ii) *Neoseiulus californicus*, (iii) *Phytoseiulus persimilis* et (iv) *Iphiseius degenerans*.



3.C. Le stade larvaire (i) d'*Amblyseius swirskii* (trois paires de pattes) et (ii) le stade adulte de *Neoseiulus californicus* (quatre paires de pattes).



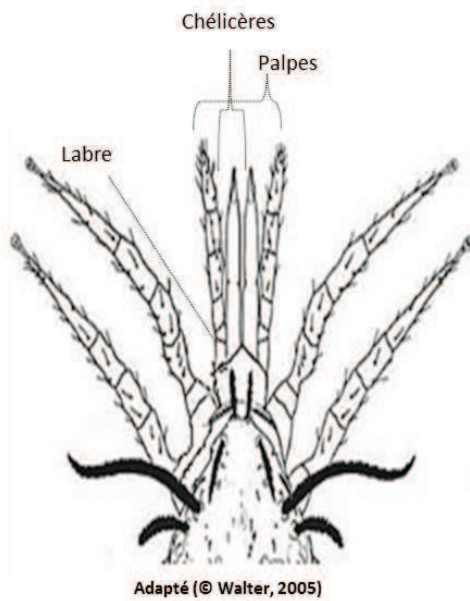
Adapté (© Walter, 2005)

3.D. Morphologie d'une patte d'un acarien adulte.

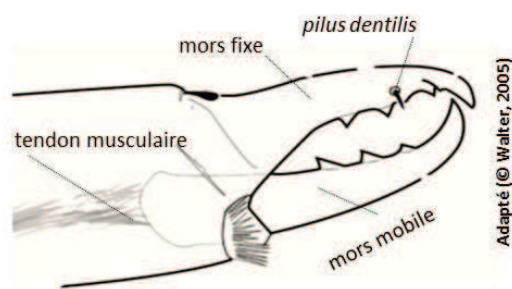
Figure 3. Aspects morphologiques des acariens de la famille des Phytoseiidae.

1.4.1. Le gnathosoma

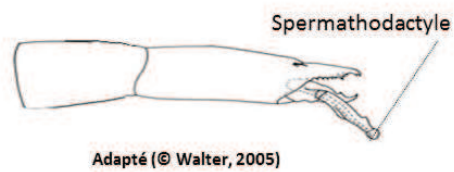
Le gnathosoma porte les chélicères et les palpes (Chant & McMurtry, 1994, 2007) (**Figure 4.A.**). Les acariens n'ont pas d'antennes, la première paire d'appendices correspond aux chélicères, chacune étant composée de deux mors (fixe et mobile) qui possèdent des dents en nombre variable (Helle & Sabelis, 1985) (**Figure 4.B.**). Les chélicères permettent de capturer et de maintenir les proies. Celles du mâle présentent un spermatodactyle (sur le mors mobile) qui permet le transfert du sperme du tractus génital mâle vers les voies génitales femelles (Amano & Chant, 1978 ; Chant, 1985) (**Figure 4.C.**). La dentition des chélicères est parfois utilisée pour la différenciation des espèces (Denmark & Kolodochka, 1990 ; Chant & McMurtry, 1994, 2007 ; Beard, 1999). Le mors fixe porte quelquefois un *pilus dentilis*, probablement doté de fonctions mécanoréceptrices, informant l'acarien sur la nature des éléments saisis avec ses chélicères (Swirski *et al.*, 1998). Les palpes, sont des organes sensoriels servant à la détection de la nourriture, de l'environnement et des partenaires sexuels (Swirski *et al.*, 1998 ; Kreiter *et al.*, 2003).



4.A. Le gnathosoma.

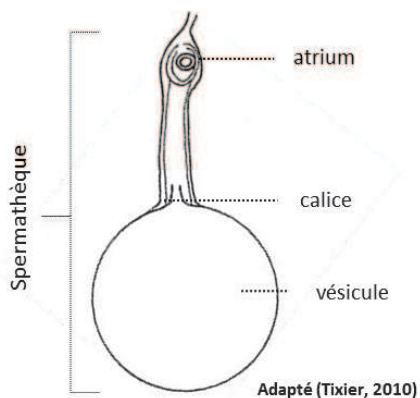


4.B. La chélicère des femelles adultes.

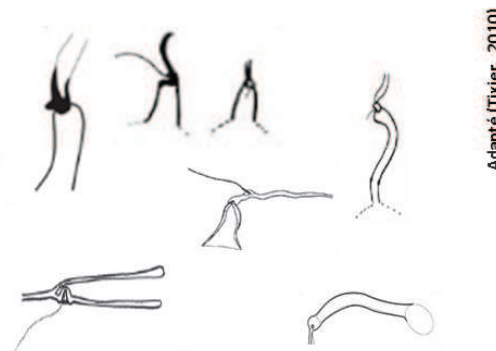


4.C. Le spermatodactyle d'un mâle adulte.

Figure 4. Le gnathosoma et les chélicères des acariens adultes de la famille des Phytoseiidae.



5.A. La spermatheque d'une femelle adulte.



5.B. La variation des formes et de dimensions des spermatheques.

Figure 5. Aspects morphologiques de la spermatheque des femelles adultes de Phytoseiidae.

1.4.2. L'idiosoma

L'idiosoma porte sur les parties dorsale et ventrale, des boucliers (ou plaques) aux niveaux de sclérotisation variables (Moraes & Flechtmann, 2008).

La face dorsale est recouverte d'un bouclier dorsal présentant entre 14 à 23 paires de soies (Chant & McMurtry, 1994, 2007), dont le nombre et la position (chaetotaxie) sont des éléments majeurs pour la subdivision en sous-familles et en genres (Chant & McMurtry, 1994, 2007) (**Encadré 1**). Il porte également des ouvertures de glandes cuticulaires (solénostomes), des organes sensoriels (poroïdes) et des traces d'insertions musculaires sur le tégument (sigilles). Le nombre et la forme de l'ensemble de ces organes sont variables entre genres et espèces ; ils sont utilisés par les taxonomistes (Athias-Henriot, 1975).

La face ventrale des femelles de Phytoseiidae comporte trois boucliers : sternal, génital et ventrianal (**Encadré 1**). La forme des boucliers sternal et ventrianal des femelles est un des éléments utilisés pour la distinction des genres et des espèces. Chez les mâles, la face ventrale porte uniquement deux boucliers, le bouclier sternogénital (fusion des boucliers sternal et génital) et le bouclier ventrianal (Chant, 1985 ; Swirski *et al.*, 1998 ; Kreiter *et al.*, 2003).

L'idiosoma porte également d'autres caractères morphologiques aussi utilisés pour identifier les espèces de Phytoseiidae. De formes et de dimensions variées, la spermathèque (appareil d'insémination femelle) est un organe interne situé entre les coxa III et IV. Sa forme est couramment utilisée pour la distinction des espèces de Phytoseiidae (Athias-Henriot, 1967, 1968, 1969) (**Figure 5.A. et 5.B.**). Certains auteurs considèrent même que ce caractère devrait être davantage pris en compte pour la définition des genres (Athias-Henriot, 1960, 1968, 1969 ; Ragusa & Tsolakis, 1998 ; Tsolakis *et al.*, 2012).

Le péritrème s'étend sur les bords latéraux de l'idiosoma, depuis la patte IV jusqu'à la limite antérieure du bouclier dorsal (Swirski *et al.*, 1998 ; Kreiter *et al.*, 2003). Sa longueur présente aussi une valeur taxonomique pour la différenciation des espèces (Athias-Henriot, 1977 ; Chant & McMurtry, 1994, 2007 ; Ferragut & Escudero 1997 ; Ragusa & Tsolakis, 1998).

Encadré 1: La chaetotaxie des boucliers dorsal et ventral des acariens de la famille des Phytoseiidae.

La chaetotaxie des soies dorsales représente un des éléments essentiels dans la taxonomie de la famille des Phytoseiidae (Chant & McMurtry, 1994, 2007). Les soies du *podosoma* sont représentées pour une lettre minuscule et celles de l'*Opisthosoma* par une lettre majuscule.

Le bouclier dorsal (Figure: E.1.1) comprend: 10 paires de soies centrales (*j/j*), *j1*, *j3*, *j4*, *j6* et *j5* toujours présentes, *j5*, *J1*, *J2*, *J3* et *J4* présentes / absentes; 10 paires de soies médianes (*z/z*), *z2*, *z4*, *z5*, *Z4*, *Z5* toujours présentes, *z3*, *z6*, *Z1*, *Z2*, *Z3*, présentes / absentes; 5 paires de soies latérales (*s/s*), *s4* toujours présente, *s6*, *S2*, *S4* et *S5* présentes / absentes; 3 paires de soies para-verticales (*r/r*), *r3* toujours présente, *r5* & *R1* présentes / absentes.. Le bouclier dorsal porte également des paires de **solénostomes**: *gd1* (postéro-latéral à *j3*), *gd2* (postéro-médian à *z4*), *gd3* (inséré sur la plaque périrémale), *gd4* (postéro-latéral à *s4*), *gd5* (postéro-médian à *z5*), *gd6* (antéro-médian à *Z1*), *gd8* (antérieur à *Z4*), *gd9* (antérieur à *S5*).

Les boucliers ventraux (Figure: E.1.2): Le **bouclier sternal**, qui peut être fragmenté ou entier, lisse ou ornementé, porte deux ou trois paires de soies (*ST1*, *ST2* et *ST3*) et deux paires de solénostomes. La paire de soie *ST3* peut être insérée sur une petite plaque métasternale (hors de la plaque sternale) ou se trouver libre sur le tégument. La paire de soies (*ST4*) est présente sur une plaque métasternale, accompagnée par une paire de solénostomes (Chant, 1985b, Swirski *et al.*, 1998; Kreiter *et al.*, 2003). La position de *ST3* peut être un caractère pour la différenciation des espèces ou des sous-genres (Denmark & Rather, 1996 ; Denmark & Welbourn, 2002 ; Chant & McMurtry, 2003a). Le **bouclier génital**, qui peut être lisse ou réticulé, porte une paire de soies (*ST5*).

Le bouclier ventrianal, qui peut être entier ou fragmenté, lisse ou réticulé, porte une paire de soies para-anales, une seule soie post anale et plusieurs paires de soies pré-anales en nombre et distribution variables (*ZV2*, *JV1*, *JV2* et *JV3*). Des soies caudo-ventrales (*ZV1*, *ZV3*, *JV4* et *JV5*), en nombre variable, sont situées sur la membrane tégumentaire autour du bouclier ventrianal. Une paire de solénostomes, de forme, taille et position variable, peut ou non être présente sur ce bouclier.

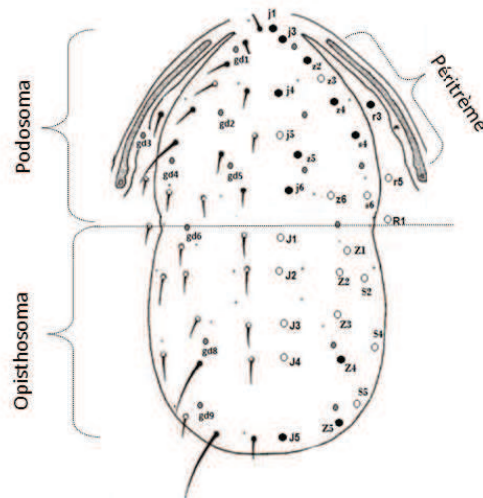


Figure E.1.1: Le bouclier dorsal théorique d'une femelle de Phytoseiidae, la chaetotaxie dorsale, soies stables(●) soies variables(○) et les différentes paires de solénostomes (gd) (d'après Swirski *et al.*, 1998 ; Chant & McMurtry, 2007); Kanouh *et al.*, 2010b).

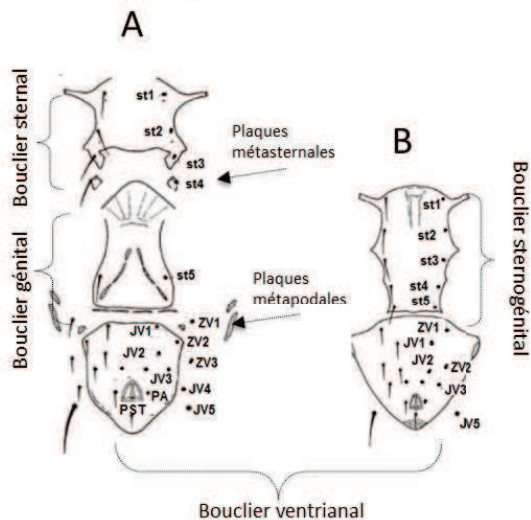


Figure E.1.2: Les boucliers ventraux des adultes ((A) femelle et (B) mâle) de Phytoseiidae (d'après Swirski *et al.*, 1998 ; Kanouh *et al.*, 2010b).

Après avoir décrit l'importance de ces prédateurs et leurs principales caractéristiques morphologiques, nous allons maintenant présenter certains éléments biologiques et écologiques qui sont directement liés à leurs utilisations pratiques en lutte biologique.

1.5. Éléments biologiques et écologiques des Phytoseiidae

1.5.1. Le cycle de développement

Les espèces de Phytoseiidae présentent cinq stades de développement : œuf, larve, protonympe, deutonympe et adulte (Helle & Sabelis, 1985). Les œufs de la plupart des espèces sont de couleur blanche, ils sont collés à la face inférieure des feuilles et sont sensibles à de faibles taux d'hygrométrie (Castagnoli & Simoni, 1994). Aux stades immatures (larve, protonympe, deutonympe), il est impossible de différencier les mâles des femelles (Rodrigues & Torres, 2005), ni d'identifier précisément les espèces. La période de pré-oviposition est variable selon les espèces, elle est généralement comprise entre 2 et 4 jours à une température de 25°C (Ragusa, 1981 ; Moraes & Flechtmann, 2008).

La période d'oviposition varie de 15 à 30 jours et la fécondité journalière est comprise entre 1 à 5 œufs selon les espèces, les conditions environnementales et la disponibilité en nourriture (Helle & Sabelis, 1985 ; Evans, 1992 ; Moraes & Flechtmann, 2008). La vitesse de développement augmente généralement avec la température (Ferragut *et al.*, 1987). Les espèces *Amblyseius andersoni*, *Neoseiulus californicus* et *Phytoseiulus persimilis* ont montré des taux d'accroissement plus élevés que certaines proies, dont les tétranyques, et cette caractéristique biologique est très favorable à leur utilisation en lutte biologique (Kreiter *et al.*, 2003). A une même température (25°C), Kreiter *et al.* (1991) ont montré que pour l'espèce *Typhlodromus (Typhlodromus) pyri*, la durée moyenne d'une génération (32,2 jours) est plus élevée que pour certaines espèces de ravageurs comme *Tetranychus urticae* (Koch) (19,7 jours), *Tetranychus turkestani* (Ugarov & Nikolski) (18,8 jours) et *Eotetranychus carpini* (Oudemans) (20,7 jours). Dans les zones tempérées, les Phytoseiidae passent l'hiver sous la forme de femelles fécondées, en s'abritant sous les écorces, à l'aisselle des bourgeons ou sur les feuilles mortes (Kreiter *et al.*, 1991 ; Carmona *et al.*, 1996). L'entrée en diapause est conditionnée par la température et

la photopériode (Overmeer, 1985). Généralement les espèces d'acariens phytophages et prédateurs entrent en diapause en même temps mais la réactivation est plus rapide pour les Phytoseiidae que pour les tétanyques (Overmeer, 1985).

1.5.2. Le régime alimentaire des Phytoseiidae

Les Phytoseiidae ont été classés par McMurtry & Croft (1997) dans quatre groupes définis selon leurs comportements alimentaires et leurs niveaux de spécialisation vis-à-vis de leurs proies. En 2013, McMurtry *et al.* ont proposé une nouvelle classification plus précise, constituée de quatre types et de huit sous-types.

Le type I correspond à des espèces de prédateurs spécialisés, il est divisé en trois sous-types selon les proies sur lesquelles ces espèces peuvent s'alimenter. Le sous-type I-a correspond à des espèces capables de se développer en consommant uniquement des acariens du genre *Tetranychus* (Dufour). Ce sous-type comprend toutes les espèces du genre *Phytoseiulus*. Elles présentent un taux d'accroissement élevé, une grande fécondité et un cycle de développement rapide. Le sous-type I-b contient des espèces spécifiques des genres *Schizotetranychus* (Tragardh), *Stigmaeopsis* (Banks) et *Oligonychus* (Berlese). Les espèces des sous-types I-a et I-b ont la capacité de pénétrer dans les toiles que tissent leurs proies. Le sous-type I-c correspond à des prédateurs spécialisés à la super-famille Tydeoidea (Kramer, 1877). Il est composé majoritairement des espèces des genres *Paraseiulus* (Muma) et *Typhlodromina* (Muma), mais contient également certaines espèces du genre *Proprioseiopsis* (Muma).

Le type II correspond aux prédateurs spécialistes de la famille des Tetranychidae. Il s'agit d'espèces appartenant principalement aux genres *Galendromus* Muma et *Neoseiulus* Hughes, ainsi de quelques espèces du genre *Typhlodromus* (*Anthoseius*) (De Leon). Contrairement aux espèces de type I, les espèces de type II peuvent consommer un plus large éventail d'espèces de tétanyques, et également des espèces d'autres groupes d'acariens notamment des Eriophyidae, des Tarsonemidae et des Tydeoidea (McMurtry & Croft, 1997).

Le type III correspond à des prédateurs polyphages. Ils représentent la majorité des espèces de Phytoseiidae. Ce groupe est divisé en cinq sous-types définis en fonction de leurs micro-habitats et leurs occupations du phylloplan : III-a, sur les feuilles

pubescentes ; III-b, sur les feuilles glabres ; III-c, dans des espaces confinés sur les plantes dicotylédones ; III-d, dans des espaces confinés sur les plantes monocotylédones ; et III-e, dans le sol / dans la litière (McMurtry *et al.*, 2013). Ces espèces peuvent se développer en consommant différents types de proies (e.g. ériophydes, tétranyques, tydéides et petits insectes) ainsi que du pollen, du mycélium et des exsudats végétaux (Croft & McMurtry, 1997 ; McMurtry *et al.*, 2013).

Le type IV correspond à des prédateurs généralistes polliniphages. Leur taux d'accroissement est généralement plus élevé quand ils consomment du pollen que des proies. La plupart des espèces du genre *Euseius* (De Leon) appartient à cette catégorie. Bien que consommant du pollen, ces espèces s'alimentent aussi à partir des proies et certaines sont utilisées pour contrôler les ravageurs (e.g. l'espèce récemment commercialisée *Euseius gallicus* Kreiter & Tixier).

D'autres types de comportements alimentaires sont observés chez les Phytoseiidae.

L'alimentation à partir d'autres Phytoseiidae. Le cannibalisme a été observé chez certaines espèces de Phytoseiidae (Yao & Chant, 1989 ; MacRae & Croft, 1993 ; Croft & Croft, 1993 ; Croft & Zhang, 1994 ; Zhang & Croft, 1995 ; Schausberger, 1997, 1999, 2003 ; Zannou *et al.*, 2005 ; Meszaros *et al.*, 2007 ; Famah Sourassou *et al.*, 2013 ; Ghazy & Armano, 2016). Ce type de comportement peut varier principalement en fonction du stade de développement et de la disponibilité en nourriture. Généralement, ce sont les adultes qui sont observés en train de se nourrir des stades immatures (Schausberger, 1997, 1999 ; Walzer & Schausberger, 1999a, b).

L'alimentation à partir de la plante. Certaines espèces de Phytoseiidae peuvent se nourrir à partir de la plante en perçant les feuilles pour absorber de l'eau et des nutriments, sans cependant occasionner de dégâts pour la plante (Adar *et al.*, 2012). Ce type de comportement a été noté par Kreiter *et al.* (2002) pour *K. aberrans*, par Magalhães & Bakker (2002) pour *T. aripo* et par Nomikou *et al.* (2003) pour *Euseius scutalis* (Athias-Henriot). Ces caractéristiques particulières pourraient conduire à la création d'un nouveau groupe fonctionnel de Phytoseiidae (McMurtry *et al.*, 2013). Ces espèces sont principalement incluses dans le genre *Euseius*, et de façon plus restreinte dans les genres *Kampimodromus*, *Phytoseius*, *Typhlodromalus*,

Typhlodromus (Anthoseius), *Typhlodromus (Typhlodromus)* et *Amblydromalus* (McMurtry *et al.*, 2013).

1.5.3. Le mode de reproduction

Le mode de reproduction des espèces est la pseudo-arrhénotoque (Wysoki & Bolland, 1983). Les mâles haploïdes et les femelles diploïdes sont issus d'œufs fécondés (Helle *et al.*, 1978 ; Nelson-Rees *et al.*, 1980), l'accouplement est donc obligatoire pour la formation d'œufs (Nelson-Rees *et al.*, 1980). Quelques heures après la fécondation, la perte des chromosomes paternels survient dans les zygotes qui donneront naissance à des mâles haploïdes. Aucune perte des chromosomes paternels n'est observée pour les embryons qui donneront naissance à des femelles diploïdes. Le mâle utilise son spermatodactyle pour transférer le sperme dans les spermathèques de sa partenaire (Chant, 1955). Plusieurs accouplements peuvent être observés chez certaines espèces, augmentant ainsi le taux de fécondité et la période d'oviposition (McMurtry *et al.*, 1970). La sex-ratio est biaisée en faveur des femelles (Zaher *et al.*, 2007), elle est approximativement d'un mâle pour deux femelles. Cependant, quelques variations peuvent être observées selon les espèces et les conditions climatiques et trophiques (Chant, 1959 ; Helle & Sabelis, 1985).

1.5.4. Les capacités de dispersion

La dispersion dépend des caractéristiques propres à chaque espèce mais aussi des conditions abiotiques (température, hygrométrie) ou biotiques (rapport entre les ressources alimentaires disponibles et les exigences du prédateur) (Schausberger, 1998 ; Saha *et al.*, 2001). La dispersion peut se faire par voie aérienne, par voie ambulatoire ou par phorésie (Sabelis & Dicke, 1985).

Les Phytoseiidae étant aptères, la dispersion par voie aérienne se fait par l'intermédiaire du vent (Sabelis & Dicke, 1985). Ce type de dispersion semble être la principale voie de colonisation de *Galendromus (Galendromus) occidentalis* (Nesbitt) et *K. aberrans* dans les vergers et les parcelles viticoles aux USA et en France, respectivement (Johnson & Croft, 1979 ; Whalon et Croft, 1986 ; Dunley & Croft, 1990 ; Tixier *et al.*, 1998, 2000 ; Jung & Croft, 2001).

La dispersion par voie ambulatoire permet aux Phytoseiidae de se déplacer de façon rapide sur de courtes distances entre les feuilles et les plantes proches, à l'échelle d'une parcelle cultivée (Tixier *et al.*, 1998). Elle permettrait également à certaines espèces comme *Neoseiulus californicus* et *Neoseiulus fallacis* (Garman) de se déplacer depuis la strate herbacée jusqu'à la canopée par exemple dans les vergers de pommiers (Johnson & Croft, 1976, 1979 ; 1981 ; Berry & Holtzer, 1990 ; Fauvel & Gendrier, 1992 ; Auger *et al.*, 1999 ; Pratt *et al.*, 1998 ; Jung & Croft, 2001). Sahraoui *et al.* (2016) ont également montré des dispersions ambulatoriales le long des troncs de citrus depuis la strate herbacée. Les pratiques culturales telles que le désherbage, le labour et le fauchage affectent cette dispersion (Fauvel *et al.*, 1993 ; Monteiro *et al.*, 2002 ; Duso *et al.*, 2009 ; Sarahoui *et al.*, 2016).

La dispersion par phorésie a été davantage supposée que testée, certains Phytoseiidae ont été en effet parfois observés sur le corps de certains insectes comme des pucerons (Sabelis & Dicke, 1985).

1.5.5. Les Phytoseiidae et les plantes-hôtes

Bien que prédateurs, une des particularités de la biologie des Phytoseiidae est les relations étroites qu'ils entretiennent avec les plantes sur lesquelles ils vivent (Chant *et al.*, 1978 ; Krantz, 1978 ; Chant, 1985 ; Moraes *et al.*, 1986 ; Tixier *et al.*, 2008c). Certaines espèces ou groupes d'espèces sont observés sur des groupes de plantes particuliers. Des espèces se rencontrent par exemple davantage sur des végétaux aux feuilles pileuses (e.g. *K. aberrans*, certaines espèces du genre *Phytoseius*) alors que d'autres se retrouvent préférentiellement sur des feuilles glabres (e.g. certaines espèces des genres *Euseius* et *Amblyseius* (Berlese)). Beard & Walter (2001) ont montré la préférence des prédateurs généralistes sur certaines espèces d'arbres en Australie (e.g. *Neoseiulus cappar* Beard sur *Cappari mitchelli* Lindl., *N. eremitus* Beard sur *Eremophila mitchelli* Benth., *N. buxeus* Beard sur *Eucalyptus populnea* F. Muell et *N. brigarinus* Beard sur *Acacia harpopylla* F. Muell.). Villanueva & Childers (2006) ont également montré la préférence d'*Iphiseiodes quadripilis* Banks pour *Citrus paradisi* Macfadyen en comparaison à *Citrus sinensis* (L.) Osbeck aux USA. De même, les espèces du genre *Neoseiulella* sont principalement observées sur des plantes du genre *Acer* L. (Kanouh *et al.*, 2010b). Les caractéristiques des plantes

telles que les structures foliaires (trichomes, domaties, relief) constituent les principaux facteurs expliquant la présence de certaines espèces sur certains végétaux (McMurtry & Croft, 1997 ; Kreiter *et al.*, 2002, 2003 ; Palevsky *et al.*, 2008 ; Tixier & Kreiter, 2009). La pilosité des feuilles et la présence de domaties permettent de protéger les œufs et les stades immatures vis-à-vis des hygrométries faibles. Ces structures constituent également des abris contre d'autres prédateurs (O'Dowd & Wilson, 1989, 1991 ; Walter & O'Dowd, 1992 ; Grostal & O'Dowd, 1994 ; Agrawal, 1997 ; 2000 ; Agrawal & Karban, 1997 ; Kasai *et al.*, 2002 ; Schmidt, 2004 ; Seelmann *et al.*, 2007). Kreiter *et al.* (2002) ont montré que les feuilles pileuses présentaient des densités plus importantes de pollen que des feuilles glabres, fournissant ainsi une plus grande ressource alimentaire.

Dans certains cas, des substances sémiochimiques pourraient intervenir dans la reconnaissance de la plante-hôte (Dicke *et al.*, 1998 ; Beard & Walter, 2001 ; Kennedy, 2003 ; Simmons & Gurr, 2005). Ferrero *et al.* (2007, 2014) ont montré des relations tritrophiques entre la plante (Solanacées), *Tetranychus urticae*, et *Phytoseiulus longipes*. Les plantes attaquées par *T. urticae* émettent des composés volatils comme le méthyl salicylate (MeSa) Herbivore-Induced Plant Volatile (HIPV) qui attirent les prédateurs et protègent ainsi les plantes (Kappers *et al.*, 2010). Certains auteurs nomment de « gardes du corps » ces prédateurs qui sont « appelés » par la plante lorsqu'elle est en danger (Takabayashi *et al.*, 2000 ; Kant *et al.*, 2004 ; 2008 ; Van Wijk *et al.*, 2008).

L'identification et la classification sont des étapes fondamentales pour l'utilisation potentielle des espèces de Phytoseiidae en lutte biologique mais aussi pour retracer leur évolution et y associer de façon correcte leurs traits d'histoire de vie. Nous allons présenter dans la partie suivante les concepts de classification supra-spécifique des Phytoseiidae ainsi que les questions qu'ils posent, puis nous présenterons les éléments concernant l'identification des espèces (niveau spécifique).

1.6. La classification actuelle des Phytoseiidae et ses limites

La classification de la famille Phytoseiidae est basée sur les caractéristiques morphologiques externes des femelles adultes. Des caractères à la fois continus et discrets sont considérés.

Les caractères continus correspondent essentiellement à des mesures de longueurs des soies dorsales, et les caractères morphologiques discrets correspondent à l'absence et / ou la présence de certaines structures morphologiques (Athias-Henriot, 1960 ; Muma, 1961 ; Wainstein, 1962 ; Chant & Yoshida-Shaul, 1992 ; Moraes *et al.*, 2004 ; Chant & McMurtry, 1994, 2007). La forme de certaines structures est également prise en considération, comme celle du bouclier sternal et ventrianal, de la spermathèque, du péritrème, de la dentition des chélicères et de la terminaison des soies (bulbeuses ou filiformes) (Athias-Henriot, 1960, 1977 ; Muma, 1961 ; Schicha, 1987 ; Denmark & Kolodochka, 1990; Chant & Yoshida-Shaul, 1992 ; Chant & McMurtry, 1994, 2003a, b, 2004a, b, 2007 ; Ragusa & Tsolakis, 1994, 1998 ; Swirski *et al.*, 1998 ; Denmark & Welbourn, 2002).

La classification des Phytoseiidae a été marquée par des remaniements importants. Celle actuellement admise correspond à l'école anglo-saxonne. Elle est proposée par Chant & McMurtry (1994, 2007) et comprend trois sous-familles (Amblyseiinae Muma, Phytoseiinae Berlese et Typhlodrominae Scheuten) et 91 genres. Parmi ces genres, 39 % sont monotypiques et 19 % sont constitués de 2 à 5 espèces (Demite *et al.*, 2014).

1.6.1. La division en trois sous-familles

La sous-division en trois sous-familles (**Figure 6**) est essentiellement basée sur la chaetotaxie du bouclier dorsal (Chant & McMurtry, 1994, 2007).

La sous-famille des Amblyseiinae est caractérisée par la présence de quatre paires de soies latérales ($j3$, $z2$, $z4$ et $s4$) sur la partie antérieure du bouclier dorsal et l'absence des soies $z3$ et $s6$. Cette sous-famille comprend 1,748 espèces réparties dans 65 genres et 9 tribus (Chant & McMurtry, 1994, 2007 ; Demite *et al.*, 2014). Parmi les genres de cette sous-famille, 27 sont monotypiques.

La sous-famille des Phytoseiinae est caractérisée par la présence des soies $z3$ et/ ou $s6$ sur la partie antérieure du bouclier dorsal en plus des quatre soies présentes également sur celui des Amblyseiinae ($j3$, $z2$, $z4$ et $s4$) et par l'absence des soies $Z1$, $S2$, $S4$ et $S5$ sur la partie postérieure du bouclier dorsal. Cette sous-famille comporte 229 espèces réparties dans trois genres (Chant & McMurtry, 1994, 2007 ; Demite *et al.*, 2014). Un seul genre est monotypique dans cette sous-famille et aucune tribu n'a été établie.

La sous-famille des Typhlodrominae se différencie des deux précédentes par la présence des soies $z3$ et/ou $s6$ sur la partie antérieure du bouclier dorsal et d'au moins une des soies suivantes : $Z1$, $S2$, $S4$ ou $S5$ sur l'opisthosoma. Cette sous-famille comprend 732 espèces réparties dans 23 genres et 6 tribus (Chant & McMurtry, 1994, 2007 ; Demite *et al.*, 2014). Parmi les genres de cette sous-famille, six sont monotypiques.

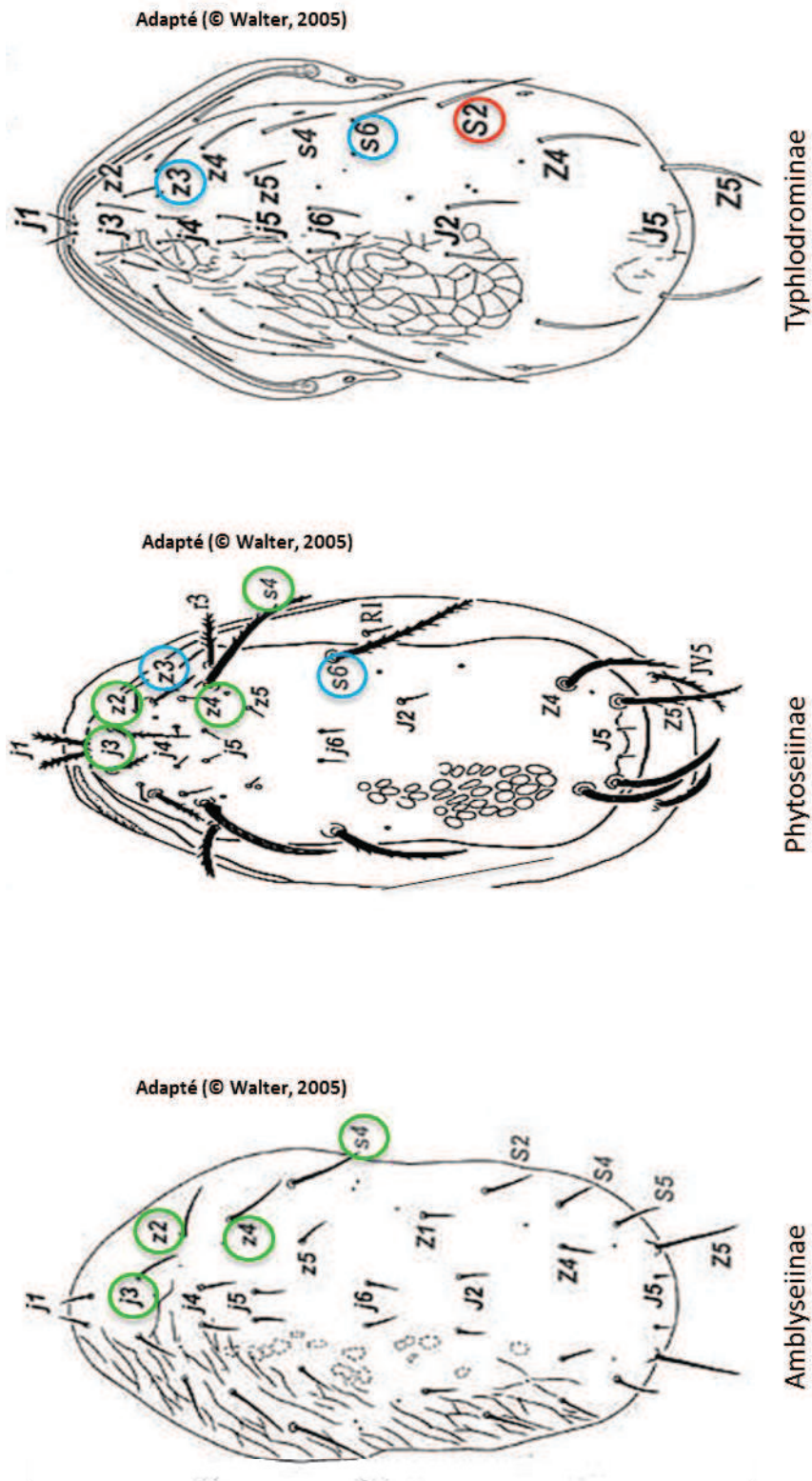


Figure 6: Chaetotaxie du bouclier dorsal des trois sous-familles de Phytoseiidae: Amblyseinae, Phytoseiinae et Typhlodrominae (Chant & McMurtry, 1994, 2007).

1.6.2. Les questions posées par la classification actuelle des Phytoseiidae

La première difficulté d'ordre méthodologique est liée à la seule prise en compte des caractères morphologiques. Du fait de la taille microscopique des Phytoseiidae, les structures morphologiques sont difficiles à observer finement rendant leurs comparaisons globales sujettes à des analogies. Par exemple, le nombre de dents sur les chélicères est considéré comme un caractère continu. Or, il est impossible de déterminer quelles dents sont homologues entre deux types de chélicères portant un nombre de dents différent ou même identique. Il en est de même de la signification taxonomique d'autres structures y compris la présence / absence de certaines soies du bouclier dorsal pour lesquelles il est parfois difficile de déterminer de façon certaine l'homologie. De plus, du fait de la très petite taille des Phytoseiidae, le nombre de caractères actuellement accessibles avec les outils de microscopie couramment utilisés (microscope à contraste de phase) est réduit.

Le déséquilibre entre le grand nombre de taxa et le faible nombre de caractères morphologiques à disposition rend difficile les premières analyses phylogénétiques basées sur les caractères morphologiques invalides du fait de polytomies (Tixier, données non publiées).

Les autres limites sont d'ordre analytique. Aucune règle générale *a priori* ne définit quels sont les caractères morphologiques qui ont davantage de valeur « évolutive » que d'autres et/ou des valeurs plus ou moins basales. Cette décision est laissée à l'appréciation des taxonomistes.

Ainsi selon l'école anglo-saxonne (Chant & McMurtry, 2007), la chaetotaxie dorsale est l'élément basal qui permet la différenciation entre les taxa supra-spécifiques (sous-familles, tribus, genres). Or, d'autres auteurs (Athias-Henriot, 1960, 1968 ; Ragusa & Tsolakis, 1998 ; Tsolakis *et al.*, 2012) ont aussi prôné l'importance de la spermathèque comme critère à prendre en compte pour la différenciation entre les genres. Ces questions ne sont pas tranchées puisqu'il a été impossible de les tester jusqu'à aujourd'hui. En effet, toutes ces classifications ne sont pas basées sur des analyses cladistiques. Certes, des arbres sont parfois fournis, mais ils sont tracés à la main et les caractères soutenant les branches reportées également manuellement (Chant & McMurtry, 2007). Ainsi, même si la classification de Chant et McMurtry (2007) est celle utilisée aujourd'hui, elle n'a pas de réelle valeur scientifique et ne

peut être considérée que comme une hypothèse de travail. De plus, des études prenant en compte des données moléculaires pour deux genres *Neoseiulus* (Tsolakis *et al.*, 2012) et *Phytoseiulus* (Kanouh *et al.*, 2010a) ainsi que des analyses biogéographiques (Tixier *et al.*, 2008c) remettent partiellement en cause les théories couramment admises, montrant donc bien la nécessité de s'interroger sur cette classification tant concernant les caractères soutenant les clades que sur la monophylie de ces derniers. Un des moyens de tester ces théories est de réaliser des études phylogénétiques prenant en compte des données moléculaires permettant d'accéder à un nombre de caractères plus importants que les caractères morphologiques. Ces approches seront abordées dans les **chapitres V** et **VI** de cette thèse.

1.7. L'identification des espèces de Phytoseiidae

Comme le système de classification, l'identification des espèces de la famille des Phytoseiidae est principalement fondée sur les caractères morphologiques des femelles (Athias Henriot, 1968 ; Chant & McMurtry, 1994 ; Moraes *et al.*, 2004 ; Chant & McMurtry, 2007). Au cours des trois dernières décennies, des progrès méthodologiques ont été accomplis dans le diagnostic spécifique des spécimens de Phytoseiidae avec d'une part l'amélioration des techniques microscopiques et d'autre part l'accès à des données moléculaires.

L'utilisation des approches moléculaires a été déterminante pour caractériser certains cas de synonymies et / ou pour attester de la validité de certaines espèces (Jeyaprakash & Hoy, 2002; Tixier *et al.*, 2008a, b ; Okassa *et al.*, 2009; 2010; Kanouh *et al.*, 2010a, b; Tsolakis *et al.*, 2012; Bowman & Hoy 2012 ; Yang *et al.*, 2012 ; Navia *et al.*, 2014 ; Rezende *et al.*, 2015). Les bases de données mondiales, comme le « *National Center for Biotechnology Information* » -NCBI/GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) proposent un moyen rapide de comparer et de partager des séquences nucléotidiques. Cependant, comme pour d'autres organismes, des incohérences concernant l'assignation des espèces de Phytoseiidae aux séquences déposées subsistent dans ces bases de données (Tixier *et al.*, 2011b). La création d'une base de données moléculaire spécifique aux espèces de Phytoseiidae validée par des taxonomistes représente donc un enjeu majeur. Dans

ce contexte, la base de données « Arthemis DB@se *ARTHropod Ecology Molecular Identification and Systematics* » de l'UMR CBGP disponible gratuitement (<http://arthemisdb.supagro.inra.fr/>) vise à l'identification moléculaire des certaines groupes d'arthropodes en se basant sur l'expertise reconnue des taxonomistes y ayant déposé leurs séquences.

De même, il existe des enjeux majeurs concernant les méthodes analytiques tant pour les assignations moléculaires que morphologiques. Des approches statistiques ont été proposées par Tixier (2012, 2013) pour délimiter les espèces en se basant sur les caractères morphologiques les plus utilisés (longueurs des soies du dorsum - caractères continus) pour le diagnostic morphologique. Ces approches rendent la décision permettant de déterminer si des spécimens appartiennent ou non à une même espèce moins arbitraire en proposant des règles de décision basées sur les variations intra et inter-spécifiques associées à des seuils d'erreur. Cependant des questions subsistent encore quant aux règles d'assignations moléculaires. Cette dernière question sera abordée dans le **chapitre IV** de cette thèse.

Après avoir décrit dans les paragraphes précédents certains éléments concernant la biologie, la morphologie et la taxonomie de la famille des Phytoseiidae, modèle d'étude de ce travail de thèse, nous allons maintenant aborder des éléments plus généraux de la systématique, correspondant au contexte conceptuel de la thèse.

CHAPITRE II : PRINCIPES ET CONCEPTS TAXONOMIQUES

2.1. Taxonomie et Systématique : définitions

La classification des êtres vivants est directement liée à la nécessité de l'Homme de les reconnaître et d'organiser le vivant (Guerra-Garcia *et al.*, 2008). Depuis le III^{ème} siècle avant J.-C., des classifications ont été élaborées regroupant les organismes dans des catégories ayant généralement des finalités pratiques (Manktelow, 2010).

La Taxinomie ou Taxonomie est définie comme la science qui décrit, explore, découvre, délimite, compare et nomme les organismes vivants et fossiles, tandis que la **Systématique** est définie comme la science qui organise les informations taxonomiques en élaborant leur classification et précisant les rapports hiérarchiques existant entre les taxa en fonction de leurs degrés de parenté (Darlu & Tassy, 2004 ; Tillier, 2005 ; Dubois, 2007). Dans la pratique, ces deux activités sont très rarement séparées et les deux termes sont utilisés pour exprimer les activités auxquelles ces deux disciplines font référence.

La classification des êtres vivants est traditionnellement basée sur la comparaison de caractères morphologiques. Aujourd'hui, les caractères moléculaires sont aussi largement utilisés, car ils permettent d'accéder à un nombre d'attributs beaucoup plus grands et de natures variées. D'autres types de caractères comme des attributs biologiques, physiologiques et écologiques sont également de plus en plus considérés pour expliquer les relations phylogénétiques. L'utilisation de plusieurs types de caractères est définie comme une approche de taxonomie intégrative (Dayrat, 2005). Ce concept vise à combiner des caractères afin d'améliorer le diagnostic spécifique et la résolution de nœuds supra-spécifiques en s'appuyant sur un faisceau de preuves convergeant vers une même solution (Dayrat, 2005 ; DeSalle *et al.*, 2005 ; Fisher & Smith, 2008 ; Pires & Marinoni, 2010 ; Padial *et al.*, 2010).

Les travaux de systématique se situent à deux principaux niveaux hiérarchiques : (i) le niveau spécifique ayant pour objectif de sécuriser le diagnostic et assurer une identification correcte des espèces et (ii) le niveau supra-spécifique ayant pour objectif de sécuriser le diagnostic des taxa supra-spécifiques en apportant la preuve

phylogénétique de leur monophylie. Nous allons aborder ces deux niveaux d'appréhension, discuter les caractères utilisés et les approches analytiques développées pour les étudier.

2.2. Le niveau spécifique : les concepts d'espèces

L'espèce est considérée comme l'unité fondamentale pour toutes les études de biologie, d'écologie et de conservation. Selon Mayden (1997), il existe plus de 22 concepts d'espèces différents. Cependant, ces différentes définitions peuvent être regroupées selon trois concepts principaux : biologique, morphologique et phylogénique.

2.2.1. Le concept biologique de l'espèce

Selon ce concept défini par Mayr (1942), une espèce est définie comme un groupe d'individus interféconds qui sont dans l'incapacité de se reproduire avec des individus d'une autre espèce. Des mécanismes biologiques (incompatibilité gamétique, développement embryonnaire anormal du zygote), mécaniques (différences morphologiques entre les organes copulateurs mâles et femelles) et écologiques (espèces aux distributions géographiques disjointes) sont à l'origine des processus de spéciation et des isolements reproducteurs (Palumbi, 1998 ; Seidel *et al.*, 2010).

Le concept biologique de l'espèce est le seul testable expérimentalement et est de ce fait considéré comme le plus fiable. Des croisements ont été réalisés entre espèces / populations de Phytoseiidae pour vérifier leur statut notamment quand les caractères morphologiques n'étaient pas suffisants ou que leurs valeurs diagnostiques étaient remises en cause (Croft, 1970 ; Hoving & Croft, 1970 ; McMurtry *et al.*, 1976 ; McMurtry & Badii, 1989 ; Famah-Sourassou *et al.*, 2010 ; Noronha & Moraes 2004 ; Tixier *et al.*, 2006a, b ; Navia *et al.*, 2014). Cependant, pour les Phytoseiidae comme pour les autres organismes, ces approches sont difficiles à appliquer en raison de la difficulté d'élever certaines espèces en laboratoire. De plus, elles ne peuvent pas être appliquées de façon systématique, car il est impossible pour avoir la preuve biologique de l'espèce de croiser tous les populations et espèces sur Terre.

2.2.2. Le concept morphologique de l'espèce

Le concept morphologique de l'espèce est basé sur des critères phénotypiques et ne prend pas en compte la notion d'état primitif ou dérivé d'un état de caractère **(Encadré 2)**. Ainsi, il est très difficile de différencier des espèces proches, ainsi que de présumer si les états de caractères correspondent à des convergences évolutives (homoplasie) ou pas. De plus, il peut exister à l'intérieur d'une même espèce un polymorphisme morphologique important entre sexes, entre stades et / ou au sein d'un même stade, rendant l'application du concept morphologique complexe. Comme pour la majorité des arthropodes, ce concept est actuellement le plus utilisé pour la délimitation des espèces de Phytoseiidae. Cependant, il présente certaines limites principalement liées à la difficulté d'appréhender de façon exhaustive le polymorphisme intra-spécifique pour un caractère donné et de conclure quant à sa valeur discriminatoire.

Encadré 2 : Définition d'état de caractère

Plésiomorphe : état ancestral d'un caractère.

Synplésiomorphe : caractère plésiomorphe présent chez deux ou plusieurs taxons.

Apomorphe : état dérivé d'un état ancestral, suite une et/ou plusieurs transformations évolutives d'un caractère.

Synapomorphe : caractère apomorphe partagé par deux ou plusieurs taxons.

Autapomorphe : lors d'une comparaison de caractères entre groupes-frères, l'adjectif autapomorphe désigne l'état dérivé (ou apomorphe) d'un caractère propre à l'un de ces deux groupes.

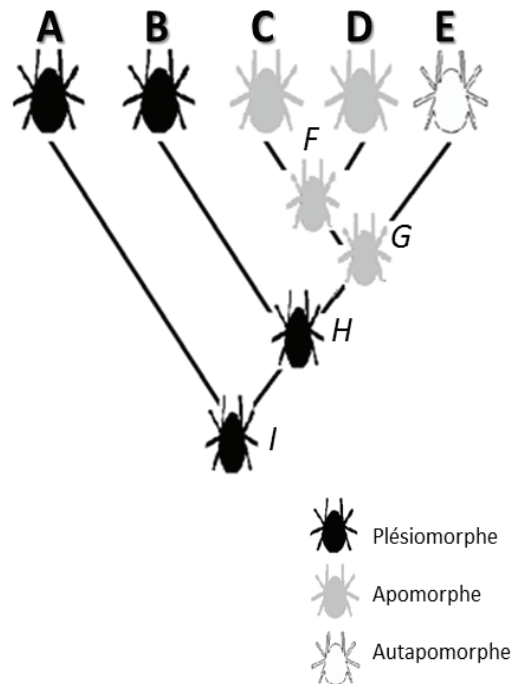


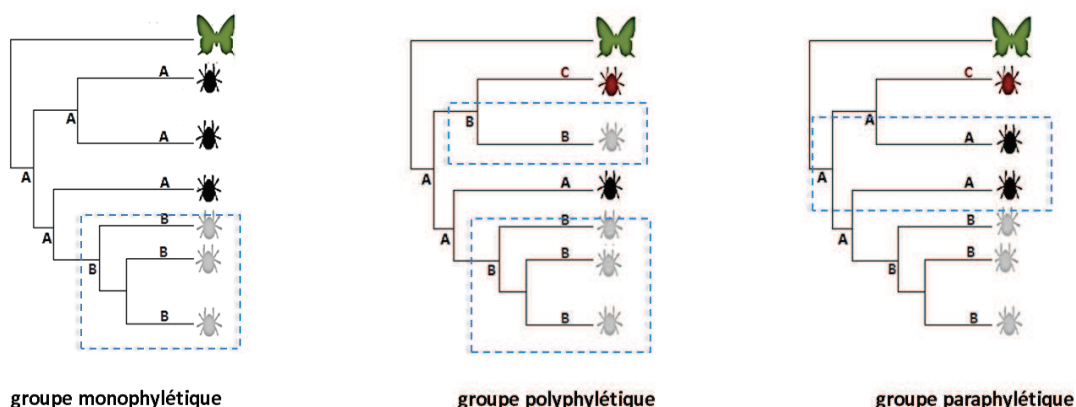
Figure E.3.1. : États de caractères des taxa A à E.

Dans la Figure E.3.1., les taxa A, B, C, D et E sont existants, tandis que les taxa F, G, H et I sont considérés comme des ancêtres communs (hypothétiques). Le caractère "noir" est un caractère du taxon ancestral I. Dans cet exemple, cet état de caractère est **plésiomorphe**. L'état de caractère gris est **apomorphe** : il dérive d'un état ancestral, suite à une séquence de transformations évolutives. Ce caractère apomorphe est **synapomorphe** car il est présent dans au moins deux groupes (C et D). L'état de caractère représenté par la couleur blanche est **autapomorphe** car il n'est représenté que dans le taxon E.

2.2.3. Le concept phylogénétique de l'espèce

Selon ce concept, les espèces sont considérées comme des *Operational Taxonomic Unit* (OTU) « unités taxonomiques opérationnelles » (Hennig, 1966 ; Blaxter *et al.*, 2005). Les individus appartenant à une même espèce forment un clade monophylétique, qui est observé *a posteriori* lors de la construction d'arbres phylogénétiques (Harry, 2011). Selon ce concept, seuls les caractères apomorphiques sont considérés. Des caractères moléculaires notamment des séquences nucléotidiques d'ADN et / ou d'ARN peuvent être également utilisés. L'**Encadré 3** présente les différents types de relations entre des groupes phylogénétiques. Cette approche phylogénétique a été appliquée quelquefois pour la famille des Phytoseiidae pour déterminer la monophylie d'un groupe comprenant des individus d'une même espèce (i.e. Okassa *et al.*, 2009, 2010 ; Kanouh *et al.*, 2010a ; Tixier *et al.*, 2010a, 2011a, 2012).

Encadré 3: Les concepts de clades en phylogénie.



Groupe monophylétique: est un groupe incluant un **ancêtre commun** souvent hypothétique et tous ses descendants. Le caractère dérivé *B* est partagé pour tous les acariens en gris, formant un groupe monophylétique.

Groupe polyphylétique: si les taxons qui le constituent sont dérivés de plus d'un ancêtre commun. Le caractère dérivé *B* est partagé par deux lignées évolutives différentes ne partageant pas le même ancêtre.

Groupe paraphylétique: est un groupe dont l'ancêtre commun est partagé avec un autre taxon. Les taxa noir et rouge partagent le même ancêtre commun. Le groupe partageant le caractère *A* est paraphylétique.

2.3. Les taxa supra-spécifiques

Les espèces sont rassemblées dans des entités supra-spécifiques comme les genres, les tribus, les sous-familles, les familles ou encore les ordres. Il n'existe pas de définition universelle de ces entités si ce n'est que toutes les espèces d'une même entité supra-spécifique sont comprises dans un groupe monophylétique (ayant le même ancêtre commun le plus proche). Ces regroupements ont été traditionnellement réalisés sur la base de caractères morphologiques. Leur constitution dépendait de l'appréciation des spécialistes et de leur avis sur l'importance hiérarchique des ressemblances et différences observées, sans bien souvent prendre en compte des aspects évolutifs. Actuellement, des reconstructions phylogénétiques basées sur les données moléculaires sont couramment utilisées pour tester la monophylie des taxa considérés, étudier leurs relations de parenté et parfois en redéfinir ou en créer de nouveaux (Hillis, 1987 ; Moritz *et al.*, 1987 ; Hillis, 1996 ; Moreira & Philippe, 1999 ; Grechko, 2002 ; Avise, 2012 ; Condamine *et al.*, 2013 ; Patwardhan *et al.*, 2014). Dans la famille des Phytoseiidae, les définitions des entités supra-spécifiques (3 sous-familles, 15 tribus et 91 genres) proposées par Chant & McMurtry (2007) ont été établies à partir de la comparaison de caractères morphologiques, sans qu'aucune analyse cladistique ne les soutienne. Récemment, des approches phylogénétiques moléculaires réalisées pour les genres *Phytoseiulus* et *Neoseiulus* remettent partiellement en cause leur monophylie et les caractères morphologiques qui les définissent (Kanouh *et al.*, 2010a ; Tsolakis *et al.*, 2012). La généralisation de ces approches semble donc nécessaire pour d'une part vérifier la validité des taxa proposés, et d'autre part étudier leurs relations de parenté et comprendre les processus évolutifs à l'origine de la mise en place de cette diversité.

La définition des entités spécifiques et supra-spécifiques repose sur la comparaison de caractères, les plus courants étant les caractères morphologiques et moléculaires. Nous allons donc présenter la pertinence de chacune de ces catégories de caractères pour aborder les questionnements taxonomiques aux niveaux spécifiques et supra-spécifiques.

2.4. Les caractères morphologiques

La taxonomie traditionnelle est basée sur l'étude de caractéristiques morphologiques externes (Narendran, 2008 ; Tahseen, 2014). Cette approche est la plus couramment utilisée encore par la plupart des taxonomistes aussi bien pour le niveau spécifique que supra-spécifique.

L'identification des espèces (*via* les clefs d'identification) et la description de nouvelles sont traditionnellement basées sur des caractères morphologiques (Lecointre & Guyader, 2002 ; Padial *et al.*, 2010). Ce sont des caractères comparativement plus « parlants », illustratifs mais aussi plus facilement accessibles que des caractères moléculaires.

De plus, un avantage majeur de l'utilisation des caractères morphologiques aussi bien pour le diagnostic que pour les études supra-spécifiques est que ces approches peuvent s'appuyer sur l'observation des spécimens de collections présents dans les muséums et universités, ainsi que sur des individus fossiles (Hillis, 1987). Elles peuvent aussi se baser sur les descriptions originales et les redescriptions des taxa (Hillis, 1987).

Cependant, certains inconvénients majeurs sont à noter :

- (i) une délimitation complexe des groupes entre lesquels les différences morphologiques sont parfois très ténues (cas d'espèces cryptiques),
- (ii) un nombre très limité de caractères morphologiques disponibles (rendant les phylogénies non soutenues),
- (iii) de mauvaises interprétations sur les différences entre les caractères qui relèvent parfois d'un jugement subjectif (Padial *et al.*, 2010).

2.5. Les caractères moléculaires

Les caractères moléculaires aujourd'hui majoritairement utilisés sont des séquences d'ADN, de type nucléaire ou mitochondrial (Avisé *et al.*, 1987 ; Patwardhan *et al.*, 2014). Chaque site nucléotidique correspond à un caractère et les quatre bases A (adénine), G (guanine), C (cytosine) et T (thymine) en sont les états de caractères. Les séquences de protéines sont parfois également utilisées selon la proximité des organismes étudiés et les objectifs visés (Zuckerlandl & Pauling, 1965a, b ; O'Farrell, 1975 ; Hillis, 1996 ; Zardoya & Meyer, 1996 ; Patwardhan *et al.*, 2014). Les séquences de nucléotides sont majoritairement utilisées dans les études de taxa proches tandis que les séquences de protéines généralement plus conservées sont utilisées pour étudier des taxa plus éloignés (Patwardhan *et al.*, 2014). Au sein de la molécule d'ADN, certaines zones sont conservées entre taxa apparentés, alors que d'autres varient considérablement (Felsenstein, 1988 ; Swofford *et al.*, 1996 ; Holder & Lewis, 2003). Le choix des marqueurs est donc un élément clef et à adapter selon le rang taxonomique investigué. Cet aspect sera abordé dans le **chapitre IV** de cette thèse.

L'avantage majeur des marqueurs moléculaires est que le nombre d'informations obtenues est quantitativement plus grand que celui apporté par des caractères morphologiques (Hillis *et al.*, 1994). Cependant, l'utilisation des caractères moléculaires a également ses limites :

- (i) Cette approche n'est pas applicable (ou difficilement) ni à des fossiles ni à des individus conservés à sec ou montés entre lames et lamelles.
- (ii) Elle nécessite de travailler sur du matériel fraîchement collecté et/ou conservé dans l'alcool absolu. Ainsi, les études basées sur les caractères moléculaires doivent faire face au problème du « sampling completion » (échantillonnage complet). Il est en effet parfois très difficile (voire impossible) de collecter des espèces rares, observées une seule fois et / ou signalées de contrées lointaines, alors qu'elles présentent des caractéristiques morphologiques remarquables dont la signification évolutive interpelle.
- (iii) Enfin, il a été pendant longtemps difficile d'extraire, avec un rendement efficace, l'ADN d'un seul individu pour des espèces

microscopiques. Aujourd'hui, ce problème est résolu grâce aux développements technologiques. Il est de plus possible de récupérer des spécimens vouchers après extraction d'ADN grâce à des méthodes non destructives (même pour les spécimens de petite taille comme les acariens Phytoseiidae), permettant d'accéder pour un même individu à ses caractéristiques morphologiques et moléculaires (Okassa *et al.*, 2009, 2010 ; Tixier *et al.*, 2010a).

2.5.1. Les marqueurs mitochondriaux et leur utilisation en taxonomie

L'ADN mitochondrial existe dans chaque cellule animale (Caterino *et al.*, 2000), il est généralement utilisé pour étudier les niveaux intra-spécifiques et spécifiques, car il présente un taux d'évolution élevé (Avisé *et al.*, 1987 ; Caterino *et al.*, 2000 ; Cameron, 2014). De plus, les séquences répétées et les introns sont rares dans ce type de marqueurs ce qui facilite les alignements de séquences (Avisé *et al.*, 1987). Les gènes sont organisés à peu près toujours de la même manière au long du génome mitochondrial (Moritz *et al.*, 1987 ; Avisé, 1993). Les gènes mitochondriaux les plus utilisés pour les études sur les arthropodes sont ceux codant pour des protéines impliquées dans la chaîne respiratoire (Cytochrome Oxydase I, II, III, et Cytochrome Oxydase B) et les gènes ribosomiques 12S et 16S (Caterino *et al.*, 2000 ; Hebert *et al.*, 2004a, b). Ces gènes peuvent être utilisés individuellement mais aussi de façon combinée (Hebert *et al.*, 2004a, b). Cependant, des limites biologiques compromettent parfois la performance de ces marqueurs, principalement à cause de biais liés à la transmission maternelle et à l'introggression inter-spécifique ce qui conduit à surestimer les différences entre espèces (Galtier *et al.*, 2009).

2.5.1.1. Le Barcoding : un exemple de démocratisation du diagnostic moléculaire

Le projet Barcoding développé au début des années 2000 propose l'utilisation d'une courte séquence d'ADN pour le diagnostic spécifique (Hebert *et al.*, 2003a, b ; Hebert & Gregory, 2005 ; Schindel & Miller, 2005). Pour les animaux, la séquence d'ADN choisie est une région de 600-700 pb du gène Cytochrome Oxydase I (COI) (Hebert *et al.*, 2003a, b, 2005 ; Moritz & Cicero, 2004). Les utilisateurs peuvent comparer par

BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) les séquences obtenues directement sur la base de données dédiée, BOLD « Barcode of life data base » (<http://www.boldsystems.org>) ou dans la banque générale mondiale Genbank (Ratnasingham & Hebert, 2007). Le diagnostic par Barcoding n'a pas pour objectif d'établir des relations phylogénétiques entre taxa ni de remplacer les approches traditionnelles d'identification (Blaxter, 2004 ; Ratnasingham & Hebert, 2007). Cette approche est présentée comme une méthode complémentaire à l'identification morphologique (Hebert *et al.*, 2004a, b; Fowler-Walker *et al.*, 2006 ; Leliaert *et al.*, 2009). La vitesse du diagnostic et sa performance dans le cas d'espèces cryptiques constituent les atouts majeurs de cette méthode (Cross *et al.*, 2010 ; Goldstein & DeSalle, 2010). De plus, dans le cas de règles de décision bien établies et d'une base de données de référence complète et correcte, cette approche est facilement utilisable par tous, en s'affranchissant du recours à l'expertise des spécialistes. Les applications et enjeux sont donc importants par exemple pour l'identification de stades immatures, pour une caractérisation plus rapide et plus exhaustive de la biodiversité ainsi que pour la détection des espèces par les organismes publics chargés du contrôle des organismes invasifs aux frontières. Le projet QBOL (<http://www.qbol.org/en/qbol.htm>) en Europe est spécifiquement dédié à ce dernier aspect. Malgré l'efficacité de cette approche, elle présente cependant certaines limites, telles que le phénomène d'hétéroplasmie, qui peut empêcher d'obtenir des séquences de COI sans clonage, ou entraîner une surestimation des variations intra-spécifiques et donc conduire à un diagnostic incorrect (Rubinoof *et al.*, 2006). L'utilisation de méthodes *NGS* (*New Generation Sequencing*) permet de s'affranchir de la première difficulté par l'accès à l'ensemble des copies sans nécessiter d'étape de clonage. Une autre contrainte, dans certains cas, est une variation trop faible du gène COI pour la différenciation des espèces-sœurs récemment divergées ou au contraire trop élevée qui fait apparaître plusieurs espèces alors qu'il s'agit de populations d'une seule espèce (Velzen *et al.*, 2012). C'est pourquoi le Barcoding multigénique représente une alternative de plus en plus utilisée. Il s'agit de combiner l'utilisation de plusieurs fragments d'ADN pour augmenter le faisceau de preuves convergeant vers une même solution. Ces aspects seront abordés dans le **chapitre III** de cette thèse.

2.5.1.2. Les marqueurs mitochondriaux et leur utilisation dans la famille des Phytoseiidae

Les marqueurs mitochondriaux ont été utilisés pour étudier certains cas de synonymies dans la famille des Phytoseiidae (Cruickshank, 2002 ; Tixier *et al.*, 2006a, b, 2014). Le **Tableau II** présente une synthèse des principales études réalisées à partir des marqueurs moléculaires pour le diagnostic des espèces de Phytoseiidae. Les marqueurs codant pour les protéines COI et CYTB (Cytochrome Oxydase B), et le gène ribosomique 12S sont les plus largement utilisés dans ces études. Le marqueur mitochondrial codant 16S n'a pas été utilisé pour le diagnostic des espèces de Phytoseiidae alors qu'il l'a été dans d'autres familles d'acariens comme les Avenzoariidae Oudemans (Dabert *et al.*, 2010) et les Ixodidae Koch (Black *et al.*, 1994).

Tableau II. Liste des principales études utilisant des marqueurs moléculaires pour le diagnostic des espèces de Phytoseiidae.

Références	Année	Marqueurs Moléculaires	Genres de Phytoseiidae étudiés	Nombre d'espèces étudiées	Utilisation d'autres types de données
Bowman & Hoy	2012	12S ARNr, EF1a	<i>Amblyseius</i> , <i>Neoseiulus</i> , <i>Galendromus</i>	5	
Evangelou <i>et al.</i>	2016	12S ARNr	<i>Iphiseius</i>	1	Biologiques
Guichou <i>et al.</i>	2010	12S ARNr, COI ADN mt, ITSS, 18S ARNr, 28S ARNr	<i>Neoseiulus</i>	1	Morphologiques
Jeyaparakash & Hoy	2002	12S ARNr	<i>Neoseiulus</i> , <i>Galendromus</i> , <i>Iphiseius</i> , <i>Phytoseiulus</i>	6	
Jiale <i>et al.</i>	2016	12S ARNr, CYTB ADN mt, ITSS	<i>Neoseiulus</i>	2	Biologiques
Kanouh <i>et al.</i>	2010b	12S ARNr, CYTB ADN mt, ITSS	<i>Neoseiulella</i>	5	Morphologiques Géographique
	2010a	12S ARNr, CYTB ADN mt, ITSS	<i>Phytoseiulus</i>	5	Morphologiques Géographiques
Navia <i>et al.</i>	2014	12S ARNr, ITSS	<i>Amblyseius</i>	6	Morphologiques Biologiques
Okassa <i>et al.</i>	2009	12S ARNr, COI ADN mt	<i>Euseius</i>	3	Morphologiques
	2010	12S ARNr, CYTB ADN mt	<i>Phytoseiulus</i>	3	Morphologiques
	2011	12S ARNr, CYTB ADN mt, ITSS	<i>Neoseiulus</i>	2	Morphologiques
	2012	12S ARNr, CYTB ADN mt	<i>Typhlodromus</i>	2	Biologiques
Ramadan <i>et al.</i>	2004	COI ADN mt, ITSS	<i>Amblyseius</i>	1	Morphologiques
Rezende <i>et al.</i>	2015	COI ADN mt, ITSS	<i>Neoseiulus</i>	1	Morphologiques Biologiques
Tixier <i>et al.</i>	2006	COI ADN mt	<i>Kampimodromus</i>	4	Morphologiques
	2010	12S ARNr	<i>Phytoseiulus</i>	2	Morphologiques
	2010	12S ARNr, COI ADN mt, ITSS, 18S ARNr, 28S ARNr	<i>Amblyseius</i> , <i>Euseius</i> , <i>Iphiseius</i> , <i>Neoseiulus</i> , <i>Kampimodromus</i> , <i>Phytoseiulus</i> , <i>Galendromus</i> , <i>Neoseiulella</i> , <i>Typhlodromus</i>	15	
	2011	12S ARNr, CYTB ADN mt, ITSS	<i>Neoseiulus</i>	2	Morphologiques
	2012	12S ARNr, COI ADN mt, CYTB ADN mt, ITSS	<i>Typhlodromus</i>	4	Morphologiques
	2014	12S ARNr	<i>Neoseiulus</i>	5	Morphologiques
Tsolakis <i>et al.</i>	2012	12S ARNr, ITSS	<i>Neoseiulus</i>	24	Morphologiques
Yang <i>et al.</i>	2012	COI ADN mt, ITSS	<i>Euseius</i>	1	

2.5.2. Les marqueurs nucléaires et leur utilisation en taxonomie

Les gènes nucléaires ont généralement un taux d'évolution plus lent que les gènes mitochondriaux et ont prouvé leur efficacité dans la résolution de relations phylogénétiques à différents niveaux taxonomiques supra-spécifiques (Caterino *et al.*, 2000 ; Dabert, 2006). Deux catégories de marqueurs nucléaires peuvent être distinguées : les gènes nucléaires ribosomiques et les gènes nucléaires codant pour des protéines (Avisé *et al.*, 1987). Les gènes nucléaires ribosomiques forment un assemblage multigénique, constitué par des gènes codant pour la petite et la grande sous-unité ribosomique (18S ARNr, 28S ARNr) et deux espaceurs transcrits mais non codants ITS1 et ITS2 séparés par l'ARN 5.8S (Coleman, 2003). Les gènes nucléaires codant pour des protéines ont généralement un taux d'évolution plus faible que les gènes nucléaires ribosomiques, et ils sont couramment utilisés pour résoudre des relations phylogénétiques principalement au niveau des familles et des ordres (Caterino *et al.*, 2000 ; Rokas *et al.*, 2002 ; Danforth *et al.*, 2005). Ces gènes pourront être combinés avec d'autres marqueurs mitochondriaux et / ou nucléaires ribosomiques afin d'améliorer les signaux phylogénétiques. La principale limite de l'ensemble de ces marqueurs nucléaires (notamment ceux non traduits) est la difficulté d'alignement du fait de la présence d'introns (Caterino *et al.*, 2000). De plus, des copies paralogues d'ADN mitochondrial dans le génome nucléaire (pseudogènes) peuvent limiter les interprétations des résultats (Caterino *et al.*, 2000 ; Hoy *et al.*, 2013).

2.5.2.1. Les marqueurs nucléaires et leur utilisation dans la famille des Phytoseiidae

Les marqueurs nucléaires ont été utilisés pour la famille des Phytoseiidae afin de différencier les espèces appartenant au même genre et établir les relations entre certains genres (Okassa *et al.*, 2010 ; Kanouh *et al.*, 2010a ; Tixier *et al.*, 2010b ; Tsolakis *et al.*, 2012). Le marqueur le plus utilisé est le fragment ITSS (ITS1-5.8S-ITS2). D'autres marqueurs nucléaires par exemple 18S ARNr, 28S ARNr ont été peu utilisés pour les Phytoseiidae alors qu'ils l'ont été pour caractériser les relations entre les taxa supra-spécifiques d'autres familles d'acariens (Cruickshank, 2002). Le **Tableau III**

présente une synthèse des marqueurs nucléaires utilisés pour différents groupes d'acariens et les niveaux taxonomiques étudiés.

Tableau III. Marqueurs nucléaires les plus couramment utilisés pour les différents groupes d'acariens et niveaux taxonomiques investigués.

Marqueurs Nucléaires	Niveaux taxonomiques						Taxon	Références Bibliographiques
	Population	Espèce	Genre	Tribu	Sous-famille	Famille		
28S ARNr	x	x	x		x	x	Ixodida, Oribatida, Phytoseiidae	Dowding & O'Connor, 2010, Klompen, 2010, Tixier <i>et al.</i> , 2010b, Scheaffer <i>et al.</i> , 2010, Sonoda <i>et al.</i> , 2012
ITSS	x	x	x				Phytoseiidae	Navajas <i>et al.</i> , 1999, Yli-Mattila <i>et al.</i> , 2000, Jeyaparakash & Hoy, 2002, Tixier <i>et al.</i> , 2006a, b, 2010a, 2012, Bowman & Hoy, 2012, Kanouh <i>et al.</i> , 2010b, Tsolakis <i>et al.</i> , 2012
18S ARNr	x	x	x		x		Oribatida, Ixodida, Phytoseiidae	Mangold <i>et al.</i> , 1998, Dobson & Barker, 1999, Lekveishvili & Klompen, 2004, Domes <i>et al.</i> , 2007, Klompen <i>et al.</i> , 2007, Laumann <i>et al.</i> , 2007, Dabert <i>et al.</i> , 2010, Klompen, 2010, Schaefer <i>et al.</i> , 2010, Tixier <i>et al.</i> , 2010a
EF-1 α		x				x	Phytoseiidae, Oribatida	Jeyaparakash & Hoy, 2009, Bowman & Hoy, 2012, Klompen, 2000, Laumann <i>et al.</i> , 2007, Scheaffer <i>et al.</i> , 2010
HSP90			x			x	Oribatida	Laumann <i>et al.</i> , 2007, Schaefer <i>et al.</i> , 2010

Afin d'établir un diagnostic moléculaire et les relations phylogénétiques à partir de caractères moléculaires, il est nécessaire de s'appuyer sur des méthodes analytiques que nous allons développer dans les paragraphes suivants.

2.6. Marqueurs moléculaires et concepts analytiques

2.6.1. Quels concepts analytiques pour étudier le niveau spécifique ?

2.6.1.1. Les arbres phylogénétiques

Le résultat d'une caractérisation moléculaire peut être représenté sous la forme d'un arbre phylogénétique. Dans ce type de représentation, les organismes inclus dans un même clade sont apparentés, ils partagent des caractères communs apomorphes et forment un groupe dit monophylétique (Reijmers *et al.*, 1999). Les individus appartenant à un même clade ont le même ancêtre commun le plus proche, on peut supposer qu'ils appartiennent à une même espèce. Cependant, la distinction entre espèces et populations est parfois délicate par ce type de représentation. Selon la nature des marqueurs utilisés et leurs variations, les différents clades observés peuvent en effet correspondre non pas à plusieurs espèces mais à différentes populations à l'intérieur de la même espèce. Les arbres sont donc difficilement interprétables seuls et il est nécessaire d'avoir recours à des analyses complémentaires pour conclure sur l'état « populations » ou « espèces » des clades observés.

2.6.1.2. Distances, gaps et seuils

La délimitation entre espèces peut se baser sur les différences existant entre les distances génétiques intra- et inter-spécifiques et sur l'existence d'absence de chevauchements entre variations intra et inter-spécifiques (Hebert *et al.*, 2003a, b). La variation intra-spécifique initialement détectée dans les premières approches de barcoding (COI) pour certaines espèces de vertébrés et d'arthropodes était d'environ 2 à 3 % (Johns & Avise, 1998 ; Avise, 1999 ; Hebert *et al.*, 2003a, b, 2004). La divergence inter-spécifique était beaucoup plus élevée, et des règles de décision considérant une divergence inter-spécifique d'environ 10 fois supérieure à la variation intra-spécifique ont été initialement proposées par Hebert *et al.* (2003a). Cependant, ce taux de séparation ne peut pas être généralisé à tous les taxa et cette

règle n'est plus en vigueur aujourd'hui (Fergusson, 2002 ; Holland *et al.*, 2004 ; Bichain *et al.*, 2007).

Il est en effet difficile de déterminer un seuil universel en dessous duquel les distances entre deux séquences correspondraient à de la variation intra-spécifique. Néanmoins, la comparaison des distances constitue un outil analytique complémentaire des arbres phylogénétiques précédemment présentés. Les distances donnent des indications sur la nature de la variation observée dans la mesure où :

- (i) ces distances peuvent être comparées à des références obtenues pour des espèces d'un même taxon (famille, tribus, genre etc.)
- (ii) ces références sont suffisamment représentatives des variations intra et inter-spécifiques à l'intérieur du taxa considéré, ce qui suppose généralement d'avoir étudié un large nombre d'espèces mais aussi d'individus à l'intérieur de chacune de ces espèces (Will & Rubinoff, 2004 ; Frezal & Leblois, 2008 ; Austerlitz *et al.*, 2009).

Ainsi, comme dans le cas des arbres, les distances seules sont difficilement interprétables et leur signification dépend de l'établissement d'une base de référence pour chaque taxa considéré. Étant donné le travail que ceci sous-entend (caractérisation du polymorphisme intra-spécifique), certains auteurs ont proposé des méthodes automatisées de diagnostic moléculaire.

2.6.1.3. Méthodes d'optimisation analytique

L'augmentation des données obtenues par Barcoding a rendu nécessaire le développement de méthodes d'analyses automatisées (Sites & Marshall, 2003 ; Sarkar *et al.*, 2008 ; Kekkonen *et al.*, 2015).

- Les méthodes basées sur la théorie de la coalescence ont été établies pour donner une signification aux clades obtenus (Wakeley, 2009). Une de ces méthodes probabilistes utilise le modèle mixte de coalescence GMYCM « General Mixed Yule Coalescent Model » (Pons *et al.*, 2006 ; Fontaneto *et al.*, 2007) qui est une procédure automatique que consiste à appliquer un seuil temporel au dessus duquel les clades correspondent à des populations et en dessous duquel ils correspondent à des espèces. Cette méthode a été utilisée avec succès pour délimiter plusieurs espèces

d'insectes (Meyer & Paulay, 2005 ; Pons *et al.*, 2006, Ahrens *et al.*, 2007 ; Pagès *et al.*, 2010) et pour conclure sur des clades à l'intérieur de l'espèce de Phytoseiidae : *T. (Typhlodromus) pyri* (Tixier *et al.*, 2012).

- La méthode « *ABGD* » (Automatic Barcode Gap Discovery) (Puillandre *et al.*, 2012) est une procédure automatique qui propose de séparer les séquences nucléotidiques en des groupes (espèces hypothétiques) en fonction du « barcoding gap ». Ce « gap » est établi à partir du plus petit « non chevauchement » observé dans le jeu de données, auquel est appliqué un seuil de confiance. L'ensemble des données est ensuite re-analysé à l'aide de ce modèle (gap et seuil de confiance) pour affiner la première partition. Cette méthode fournit un nombre de groupes (et ses représentants) ainsi que la valeur maximale de la distance intra-spécifique qui permet de séparer ces groupes entre eux (Kekkonen *et al.*, 2015). Cette méthode n'a jamais été utilisée pour les acariens, et elle sera abordée dans le **chapitre III**.

- La méthode CAOS (Characters Attributes Organization System) est basée sur un algorithme décrit par Sarkar *et al.* (2002, 2008). Cet algorithme identifie systématiquement les états de caractères conservés et différents entre les espèces considérées (dans la séquence d'ADN / ARN). Il identifie les « pure attributes » c'est-à-dire les nucléotides spécifiques à un taxon donné et les « private attributes » c'est-à-dire les nucléotides présents dans quelques unes des espèces considérées mais jamais dans certaines autres. La présence de « pure attributes » pour tous les individus d'une espèce donnée correspond ainsi à des sites diagnostic. L'identification sera donc spécifiquement basée sur ces sites et pas à partir d'une distance globale retraçant des différences entre plusieurs séquences. Ces sites sont considérés comme des caractères discrets (avec 4 états de caractères). L'hypothèse sur laquelle repose cette méthode est que ces sites particuliers seront suffisamment conservés au sein d'une même espèce et différents avec ceux d'une autre espèce pour qu'ils puissent servir de caractères diagnostiques. Ainsi, des clefs d'identification basée sur la nature de la base nucléotidique à de ces sites ont même été proposées (Rach *et al.*, 2008). Ce concept méthodologique est assez analogue de celui de l'identification morphologique et il n'a été pas utilisé pour les Phytoseiidae du fait de la difficulté de caractériser de tels sites diagnostiques.

2.6.2. Quels concepts analytiques pour l'étude des taxa supra-spécifiques ?

L'objectif d'une l'analyse phylogénétique est de représenter *via* un arbre les relations de parenté entre des taxa, d'estimer leur temps de divergence et ainsi de retracer l'histoire évolutive du groupe taxonomique considéré. Tout d'abord, pour éviter des reconstructions phylogénétiques erronées, la pertinence des marqueurs moléculaires utilisés doit être évaluée (Patwardhan *et al.*, 2014, cf. **chapitre IV, section 4.1**). La combinaison de différents types de marqueurs moléculaires permet de fiabiliser les reconstructions phylogénétiques en augmentant le nombre de caractères mais surtout en apportant des informations complémentaires permettant de résoudre les différents niveaux taxonomiques de l'arbre (Barrett *et al.*, 1991 ; Sullivan, 1996 ; Wheeler, 1996 ; Cunningham, 1997). Cependant, avant de concaténer le jeu de données, des tests de congruence sont nécessaires pour vérifier d'éventuelles conflits entre chaque marqueur moléculaire (Mickey & Farris, 1981 ; Kluge, 1989 ; Wheeler, 1999).

Trois méthodes sont couramment utilisées pour reconstruire ces relations de parenté : (i) la méthode basée sur les distances (non décrite ici car déjà exposée dans le **chapitre III section 3.2.3**), (ii) le maximum de parcimonie et (iii) les méthodes probabilistes.

- La méthode de Maximum de Parcimonie (MP) consiste à minimiser le nombre de mutations nécessaires pour passer d'un état de caractère à un autre, pour aboutir ainsi à un arbre avec un minimum d'événements évolutifs (Farris, 1970 ; Swofford *et al.*, 1996 ; Holder & Lewis, 2003). Cependant, seule une partie des informations est utilisée (sites non informatifs : ceux invariants entre les taxa considérés ou différents pour un seul des taxa considérés). Contrairement aux méthodes probabilistes, la parcimonie ne prend pas en compte de modèles de substitutions multiples.

Les méthodes de parcimonie ont été initialement développées pour traiter des caractères morphologiques, mais ont été ensuite largement utilisées en phylogénie moléculaire (Holder & Lewis, 2003). L'ILD ou « *Incongruence Length Difference Test* » (Farris *et al.*, 1994, 1995) est un algorithme utilisé pour vérifier la congruence entre plusieurs marqueurs moléculaires dans le cas où l'analyse de parcimonie est réalisée sur une combinaison de gènes.

- Les méthodes probabilistes sont fondées sur le concept de vraisemblance (probabilité conditionnelle d'observer les données sous un modèle particulier). Ces méthodes sont basées sur des modèles d'évolution des séquences et présentent l'avantage de permettre l'application d'une large gamme de tests statistiques pour évaluer différentes hypothèses évolutives (Delsuc & Douzery, 2004). Il existe deux méthodes probabilistes :

La méthode de maximum de vraisemblance (ML) a été proposée pour Felsenstein (1973) pour résoudre l'interprétation de mutations multiples sur un même site. Cette méthode sélectionne l'arbre qui maximise la vraisemblance c'est à dire, l'arbre ayant la plus forte probabilité d'avoir conduit aux données (Delsuc & Douzery, 2004). Ainsi la vraisemblance ne donne pas la probabilité que l'arbre soit vrai, mais exprime la probabilité que l'arbre soit ajusté aux données observées selon le modèle choisi.

L'Inférence bayésienne (IB) est une méthode de reconstruction probabiliste, qui recherche l'arbre le plus adapté au modèle et au jeu de données. Cette approche fait appel au concept des probabilités postérieures (le théorème de Bayes) (Huelsenbeck & Ronquist, 2001 ; Holder & Lewis, 2003). L'algorithme calcule la probabilité d'obtenir une topologie d'arbre en fonction du nombre de topologies d'arbres possibles *a posteriori* et conserve celle qui est la plus probable. La probabilité postérieure d'une topologie est approximée en utilisant la méthode de Monte Carlo par chaînes de Markov (MCMC), qui échantillonne les arbres proportionnellement à leur probabilité (Huelsenbeck & Ronquist, 2001).

Dans ce chapitre, nous avons évoqué les principaux concepts mobilisés dans cette thèse, les caractéristiques intrinsèques des marqueurs moléculaires mitochondriaux et nucléaires, ainsi que certains aspects analytiques.

Après avoir caractérisé le sujet d'étude et présenté les principaux concepts analytiques, la chapitre III aborde des questions concernant le diagnostic moléculaire de deux espèces de Phytoseiidae utiles dans le contrôle biologique.

CHAPITRE III : TAXONOMIE DES PHYTOSEIIDAE & DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

3.1. Problématique

Les approches moléculaires pour l'identification des espèces de la famille Phytoseiidae sont de plus en plus utilisées du fait de la difficulté de caractériser la valeur diagnostique de certains caractères morphologiques. Tixier *et al.* (2006b) a démontré grâce à des analyses moléculaires et des croisements que deux espèces morphologiquement proches et situées dans une même localité, *Typhlodromus (Typhlodromus) exhilaratus* Ragusa et *Typhlodromus (Typhlodromus) phialatus* Athias-Henriot sont uniquement distinguables par la forme de leurs spermathèques. De la même manière, Okassa *et al.* (2009) ont montré grâce aux marqueurs moléculaires que les espèces *Euseius gallicus* et *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) bien que morphologiquement très proches (légère différence de forme du calyx de la spermathèque et du niveau de la sclérotisation du dorsum) sont bien deux taxa différents. Au contraire, d'autres études utilisant des marqueurs moléculaires ont conduit à la mise en synonymie de certaines espèces invalidant ainsi l'importance des caractères morphologiques utilisés pour les distinguer. Pour illustrer ceci, nous pouvons citer l'exemple de *Neoseiulus idaeus* et *Neoseiulus picanus* (Ragusa), deux espèces établies comme différentes du fait de la présence chez l'une du solénostome *gd2* et l'absence chez l'autre de cette structure. Les analyses moléculaires ont démontré que ces deux espèces étaient synonymes et que l'absence / présence de *gd2* correspondait à un polymorphisme intra-spécifique. Ce chapitre porte sur le diagnostic spécifique des Phytoseiidae à l'aide de marqueurs moléculaires. Il est illustré ici par deux études :

- La première étude porte sur l'espèce *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot signalée sur l'île de La Réunion de manière inattendue. La question posée était de déterminer si ces individus appartenaient réellement à l'espèce *Amblyseius Swirskii* ou à une espèce morphologiquement proche.
- La deuxième étude porte sur la variation intra-spécifique d'une espèce importante en lutte biologique dans les vignobles du sud de l'Europe *Phytoseius*

finitimus Ribaga. Les variations moléculaires importantes observées ont en effet fait émerger des questions (i) quant à l'existence d'espèces cryptiques et (ii) quant aux règles de décision et d'assignation moléculaire.

3.2. Le cas d'*Amblyseius swirskii* Athias-Henriot à l'Île de la Réunion

3.2.1. *Amblyseius swirskii*, une espèce importante en lutte biologique

Distribution géographique. *Amblyseius swirskii* est originaire de la région méditerranéenne (Israël, Italie, Egypte, Grèce, Turquie, Espagne) (Demite *et al.*, 2014) mais cette espèce est également signalée aux USA (Californie et Floride), en Argentine, en Chine, au Japon et dans certains pays d'Afrique (République Démocratique du Congo, Sénégal, Ghana, Kenya, Yémen) (Arthurs *et al.*, 2009 ; Cedola & Polack, 2011 ; Kade *et al.*, 2011 ; Chen *et al.*, 2011 ; Demite *et al.*, 2014). *Amblyseius swirskii* ne présente pas de diapause, ce qui signifie que cette espèce ne peut pas survivre durant les périodes hivernales dans les zones tempérées. Cette caractéristique a clairement facilité les autorisations d'importation et de commercialisation puisque cette espèce n'est pas censée survivre durablement dans les agro et écosystèmes naturels durant la période hivernale (Nomikou *et al.*, 2001).

Régime alimentaire. *Amblyseius swirskii*, selon la classification proposée par McMurtry *et al.* (2013), est un prédateur de régime alimentaire de Type III-b (généraliste sur feuilles glabres). Cette espèce commercialisée par les entreprises comme Biobest®, Koppert® et Syngenta-Bioline® est utilisée *via* des lâchers massifs pour le contrôle biologique de diverses espèces de thrips et d'aleurodes dans des serres (Nomikou *et al.*, 2001 ; Buitenhuis *et al.*, 2010 ; Kakkar *et al.*, 2016 ; Kumar *et al.*, 2016). Plusieurs caractéristiques font de cette espèce un prédateur intéressant dans un contexte de lutte biologique :

- Selon Cavalcante *et al.* (2015a, b), une femelle d'*A. swirskii* peut consommer en moyenne chaque jour 13.8 œufs de *Bemisia tabaci*, 25.1 œufs de *T. urticae* ou 27.3 larves d'*Aleuroglyphus ovatus* (Troupeau) (Astigmatina : Acaridae). D'autres études montrent l'efficacité de *A. swirskii* pour le contrôle d'acariens phytophages des familles des Eriophyidae (Park *et al.*, 2011), Tetranychidae (Swirski *et al.*, 1967; El-Laithy & Fouly, 1992 ; Momen & El-Saway, 1993 ; El-Laithy, 1998 ; Van Houten *et al.*, 2007a), Tarsonemidae (Tal *et al.*, 2007, Argov *et al.*, 2007 ; Onzo *et al.*, 2012), ainsi

que de petits insectes tels que les thrips (Swirski *et al.*, 1967 ; Nomikou *et al.*, 2001, 2002 ; Hoogerbrugge *et al.*, 2005 ; Van Houten *et al.*, 2005 ; Messelink *et al.*, 2005, 2006 ; Calvo *et al.*, 2006 ; Wimmer *et al.*, 2008).

- Son régime alimentaire généraliste de type III (McMurtry *et al.*, 2013) lui permet de se maintenir sur les plantes même en l'absence de proies, en consommant par exemple du pollen (Ragusa & Swirski, 1975 ; Goleva & Zebitz, 2013).

- Il est capable de se développer à une large gamme de températures (18°C à 36°C) avec une température optimale comprise entre 25°C et 28°C et une humidité relative optimale de 70 % (Trottin *et al.*, 2006 ; Buitenhuis *et al.*, 2010 ; Park *et al.*, 2010).

3.2.2. *Amblyseius swirskii*, une espèce appartenant à un genre particulièrement complexe

Le genre *Amblyseius* comprend actuellement 363 espèces valides (Chant & McMurtry, 2007 ; Demite *et al.*, 2014). Ce genre est distribué dans toutes les régions biogéographiques (Tixier *et al.*, 2008c). Certaines espèces du genre *Amblyseius* sont morphologiquement très proches : 46 cas de synonymies ont été constatés dans ce genre (Chant & McMurtry, 2007 ; Demite *et al.*, 2014). Trois cas de synonymies ont même été signalés pour *A. swirskii* : *Amblyseius capsicum* (Basha, Yousef, Ibrahim & Mostafa), *Amblyseius enab* El-Badry et *Amblyseius rykei* Pritchard & Baker. De plus, il n'existe pas de clefs d'identification pour les espèces de ce genre au niveau mondial, ce qui rend les identifications complexes puisque l'identificateur doit avoir en sa possession les descriptions originales des 363 espèces d'*Amblyseius* pour réaliser les comparaisons appropriées.

3.2.3. L'étude réalisée et ses principales conclusions

Des spécimens d'*A. swirskii* ont été signalés sur l'île de la Réunion. Or, cette observation était quelque peu inattendue, car cette espèce n'a jamais été reportée dans cette région, qui de plus est, très éloignée de la zone d'origine de cette espèce. Étant donné le nombre élevé d'espèces appartenant à ce genre et le risque de mauvaise identification du fait de l'existence d'espèces morphologiquement proches, une étude morphologique couplée à une analyse moléculaire a été réalisée pour déterminer l'identité des spécimens trouvés dans les serres de la Réunion.

Une comparaison basée sur 49 caractères morphologiques a été réalisée avec les données issues de la description originale et de trois redescriptions d'*A. swirskii*. Aucune différence morphologique significative n'a été observée.

Des analyses moléculaires ont été réalisées en utilisant le marqueur mitochondrial 12S ARNr. Les séquences ont été comparées à des séquences de référence correspondant à des individus commercialisés par Koppert® (B.V.). Les distances génétiques obtenues entre les individus collectés à la Réunion et les individus de référence sont faibles (moyenne : 1,7 %, min : 0,3 %, max : 3,6 %). Ces distances génétiques correspondent clairement à des distances intra-spécifiques.

Les données morphologiques et moléculaires convergent donc vers la même conclusion, les spécimens collectés sur l'île de la Réunion appartiennent à l'espèce *A. swirskii*. La confirmation de la présence d'*A. swirskii* sur l'île de la Réunion est très importante, car elle est de nature à faciliter l'importation et la commercialisation de cette espèce dans ce territoire d'Outre-mer, pour le contrôle biologique d'acariens phytophages et de thrips sur diverses cultures (rosiers, citrus).

3.2.4. Article: An unexpected occurrence of *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) in La Reunion Island (Acari: Phytoseiidae)

Acarologia 56(2): 175–181 (2016)
DOI: 10.1051/acarologia/20162254

SHORT NOTE

An unexpected occurrence of *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) in La Réunion Island (Acari: Phytoseiidae)

Serge KREITER¹, Victor VICENTE¹, Marie-Stéphane TIXIER¹ and Olivier FONTAINE²

(Received 15 April 2016; accepted 25 April 2016; published online 10 May 2016)

¹ Montpellier SupAgro, UMR CBGP INRA/IRD/CIRAD/ Montpellier SupAgro, 755 Avenue du Campus International Agropolis, CS 30016, 34988 Montpellier-sur-Lez cedex, France. serge.kreiter@supagro.fr, victor.vicente@supagro.fr, marie-stephane.tixier@supagro.fr

² SARL La Coccinelle, 6 Chemin Beaurivage, 97410 Saint-Pierre (La Réunion), France. coccinelle.reunion@gmail.com

ABSTRACT — The identity of specimens of phytoseiid mites collected inside greenhouses infested by thrips in La Réunion Island was assessed. As the sampled species belongs to the genus *Amblyseius*, presently containing 415 species which are notoriously difficult to discriminate, morphological and molecular traits were evaluated. Both morphological and DNA comparisons showed that the collected specimens belong to the species *Amblyseius swirskii*, a successful biological control agent introduced in the market more than ten years ago in Europe and Northern America. This finding was unexpected, as this species was never reported in this part of the world; an accidental introduction is thus suspected.

KEYWORDS — thrips, pepper, roses, biological control agent, 12S rRNA

INTRODUCTION

Biological control is the most environmentally safe and most economical mode of pest management for growers (Cock *et al.* 2010). Augmentative biological control has been proved to be an efficient alternative to chemical control in vegetable production in greenhouses (van Lenteren and Bueno 2003). The biocontrol industry has made great advances in the last decades with the discovery of more than 230 species of natural enemies available for augmentative biological control worldwide (van Lenteren 2012). Among them, phytoseiid mites are efficient

predators of small insects and mites (McMurtry *et al.* 2013). They are considered important biocontrol agents with many species sold and used all around the world (Wright 2004). The predatory mite *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot, 1962 (Acari: Phytoseiidae) is one of the most efficient; it is currently released in more than 50 countries of the world. It originates from the East Mediterranean coast and has been described in 1962 from almond (*Prunus amygdalus* [Miller] D.A. Webb) in Bet Dagan, Israel by Athias-Henriot (1962). This species was then reported along the coast of Israel, Middle Eastern countries, Southern Europe, Sub-Saharan Africa

and the America (Demite *et al.* 2016).

Three species have been recently established as junior synonyms of *A. swirskii*:

- *Amblyseius capsicum* (Basha, Youssef, Ibrahim & Mostafa, 2001), described and reported from Egypt on *Capsicum annum* L. (Solanaceae) (Demite *et al.* 2016).
- *Amblyseius enab* El-Badry 1967, described and reported from Egypt on *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) (Demite *et al.* 2016).
- *Amblyseius rykei* Pritchard & Baker 1962, described from Congo on *Hoslundia opposita* Vahl (Lamiaceae) and reported in Benin, Cuba, Congo, Ghana, Kenya, Malawi, Nigeria and Zimbabwe (Demite *et al.* 2016).

Thus, this species is able to develop not only in the Mediterranean basin but also in subtropical and tropical areas (Zannou and Hanna 2011). Since this species is not entering diapause, it can be used throughout much of the season where day-time temperatures regularly exceed 22 °C (Calvo *et al.* 2015). *Amblyseius swirskii* is commonly used to control whiteflies and thrips in greenhouse vegetables (especially cucumber, pepper and eggplant) and some ornamental crops, in Europe and North America (Calvo *et al.* 2015). The biology of this species and its importance for biocontrol were recently reviewed by Calvo *et al.* (2015) and Buitenhuis *et al.* (2015).

In 2015, a species looking like *A. swirskii* was discovered after a thrips outbreak on peppers and roses at the Réunion Island, at several thousand kilometres from its supposed native area. *Amblyseius swirskii* was furthermore not reported in previous mite biodiversity surveys in La Réunion Island (Quilici *et al.* 1997, 2000; Kreiter *et al.* 2002; Kreiter *et al.* unp. data). Production of vegetables and ornamentals in greenhouses in this Island correspond to great economic inputs. Furthermore because of recurrent problems with pesticide use (efficiency, environmental and health risks), the development of biological control is very important to improve.

According to the new French regulations on importation of macro-organisms (Anonymous, 2012), *A. swirskii* is currently authorized for sale in the French Metropolitan Area but La Réunion is an

over-seas territory; therefore it is impossible to sell and use this species in this latter area, as it is not indigenous. An importation permit could be requested, but it is expensive and chances to obtain are low. The objective of this paper is thus to assess the identity of the species occurring in the landscape of La Réunion Island in order to determine if the interesting biological control agent *A. swirskii* is occurring in this territory. Furthermore, as the genus *Amblyseius* contains approximately 415 species, as no over-all identification key of species of this genus exists, as many species are morphologically very close (with suspicion of synonymies or cryptic species), both morphological and molecular approaches have been carried to ascertain the diagnosis.

MATERIALS AND METHODS

Collection of mites and mountings

The specimens were collected on pepper plants *Capsicum annum* L. and on roses *Rosa* sp. inside greenhouses in La Réunion Island in two locations: Bassin-Martin (in city of Saint-Pierre territory), Station Armefflor (lat. 55°31'9" S, long. 21°20'0" E, altitude 450 m) in greenhouse 1 on roses, 13 V 2015 (coll. Olivier Fontaine); Montvert-les-Bas, EARL Le Montvert (lat. 55°32'19" S, long. 21°19'42" E, altitude 582 m), in greenhouse with peppers, 15 V 2015 (coll. Mrs Solène Callarec and Olivier Fontaine); same location, in another greenhouse with peppers, 15 V 2015 (coll. Ingrid Avril) (Table 1). Phytoseiid mites were stored in 95 % ethanol. Part of this material was used for morphological identification; permanent slides were prepared using Hoyer's medium and kept on a hot plate (50 °C) for two weeks. The other part of the material was used for molecular analyses (see below).

Morphological analyses

The concept of generic classification of Chant & McMurtry (2007) is used in this paper. The terminologies for chaetotaxy are those proposed by Lindquist & Evans (1965) as adapted by Rowell *et al.* (1978) for dorsal idiosomal setae and by Chant

TABLE 1: Origin and characteristics of studied populations with molecular sequencing and Genbank accession numbers.

Origin	Locality	GPS Coordinates	Altitude	Host plants	Genbank accession numbers
Koppert BV, Commercial strain of <i>Amblyseius swirskii</i>				Rearings	KX064691
					KX064692
					KX064693
					KX064694
					KX064695
					KX064696
France La Réunion Island Wild strain of <i>Amblyseius</i> sp.	Montvert	55°32'19"S 21°19'42"E	582 m	<i>Capsicum annuum</i>	KX064698
					KX064699
					KX064700
					KX064701
					KX064702
					KX064703
	Bassin-Martin	55°31'9"S 21°20'0"E	450 m	<i>Rosa</i> sp.	KX064697
					KX064704

& Yoshida-Shaul (1991) for ventral idiosomal setae. Adenotaxy and poroidotaxy terminologies are those proposed by Athias-Henriot (1975). Measurements were performed using a phase and interference contrast microscope (Leica DLMB, Leica Microsystems SAS, Rueil-Malmaison, France) (400x magnification). All measurements are given in micrometers (μm). Measurements of specimens collected in La Réunion were compared to measurements of the original description and to measurements of several re-descriptions: specimens from Israel (Porath and Swirski 1965), from several countries in Africa (Zannou *et al.* 2007), Cape Verde (Ueckermann 1992), Egypt (Abo-Shnaf and Moraes 2014), and from Spain (Ferragut *et al.* 2010). All voucher specimens are deposited in the mite collection of Montpellier SupAgro Acarology Collection, UMR CBGP, Montpellier, France.

Molecular analysis

As individuals identified morphologically were very close to *A. swirskii* with only some very minor morphological differences, as many cryptic species exist among many genera of Phytoseiidae and as it is important to ascertain the identity of the species in the perspective of potential further studies and uses, molecular analyses were conducted to assess the identity of mites collected in La Réunion. Specimens of La Réunion Island were compared to specimens of the commercial strain of *A. swirskii* reared and sold by Koppert BV (Veilingweg 14, 2651 BE

Berkel en Rodenrijs, The Netherlands) (Table 1). DNA was individually extracted from females, using a Qiagen DNeasy tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany), according to the DNA extraction protocol described in Kanouh *et al.* (2010). After DNA extraction, females were retrieved from the Qiagen column as described by Tixier *et al.* (2010). A mitochondrial DNA markers (12S rRNA) was used to allow efficient molecular species diagnosis (see e.g. Okassa *et al.*, 2009, 2011; Tixier *et al.* 2011, 2012, 2014). Primers for the amplification of the DNA fragments were as follows: 12S rRNA, 5'-3' TACTATGTTACGACTTAT and 3'-5' AAAGTAGGATTAGATACCC (Jeyaparakash and Hoy 2002).

The PCR reactions were performed in a 25 μL volume, containing 4 μL of mite DNA, 2.5 μL (1mM) of buffer 10X, 1 μL (1.5mM) of MgCl_2 , 0.5 μL (0.05mM for each) dNTPs, 0.175 μL (0.7 mM) of each primer, 0.125 μL (0.625 U) of Taq Qiagen and 16.525 μL of water. Thermal cycling conditions were as follows for the 12S rRNA marker: 95 °C for 1 min, followed by 35 cycles of 94 °C for 30 s, 40 °C for 30 s and 72 °C for 1 min, and final extension phase at 72 °C for 5 min. Electrophoresis was carried out on a 1.5 % agarose gel in 0.5 x TBE buffer during 20 min at 100 V. PCR products were sequenced along both strands with Dynamic ET Terminator Cycle Sequencing kit, and purified ExoSAP-IT (Amersham Biosciences, GE Healthcare Europe GmbH, CS 20529-78457, 24 Avenue de l'Europe, 78457 Velizy-Villacoublay), us-

TABLE 2: Morphological measurements of females and males of various populations of *Amblyseius swirskii* in comparison with the population collected in La Réunion Island (females and males). In bold: specimen measurements average

VAS: ventrianal shield; MD: movable digit of the chelicera; FD: fixed digit of the chelicera; L1: leg 1; L2: leg 2; L3: leg 3; L4: leg 4; Spermatheca l.: spermathecal length; Shaft: spermatodactyl digit; *: St1-St5 distances and not St1-St3; ¹ in Athias-Henriot (1962); ² in Ueckermann (1992); ³ in Zannou et al. (2007); ⁴ in Ferragut et al. (2010); ⁵ in Abo-Shnaf and Moraes (2014); ⁶ in Porath and Swirski (1965)

Character	Females						Males			
	Israel 1962 ¹	Cape Verde 1992 ²	Africa 2007 ³	Spain 2010 ⁴	Egypt 2014 ⁵	La Réunion 2016	Israel 1965 ⁶	Africa 2007 ³	Egypt 2014 ⁵	La Réunion 2016
Specimens number	*	16 specimens	10 specimens	Unknown	8 specimens	10 specimens	10 specimens	1 specimen	5 specimens	5 specimens
DS l	*	347-408	338 (326-352)	345-370	375 (358-397)	384 (368-400)	255-295	258	275 (254-292)	289 (280-300)
DS w	*	211-246	205 (202-208)	188-202	214 (195-224)	233 (205-245)	*	190	179 (145-203)	180 (167-187)
Peritreme extension	[1]	[1]	[1]	[1]	[1]	[1]	?	[1-3]	[1-3]	[1-3]
Solenostomes	*	*	*	?	6	?	?	?	?	?
j1	29 (25-32)	31-39	29 (24-32)	24-28	30 (25-32)	29 (25-31)	21-26	25	22 (20-24)	24 (23-26)
j3	51 (46-57)	57-69	53 (48-56)	56	55 (52-57)	53 (50-58)	44-49	43	44 (41-47)	44 (41-47)
j4	*	8-9	8	9	10 (9-15)	8 (8-10)	5-8	7	8 (7-11)	8 (6-10)
j5	*	8-9	8	8	9 (8-10)	8	5-8	7	8 (7-8)	8
j6	*	9-11	9 (8-10)	8	10 (9-11)	8 (8-10)	5-8	8	8 (7-9)	8
j2	8 (7-9)	9-11	9 (8-10)	8	9 (8-10)	8	5-8	7	8 (7-9)	8
j3	*	9-11	7 (6-8)	8	10 (8-10)	10 (8-10)	5-8	8	8 (7-8)	8
z2	15 (13-20)	12-15	12 (11-16)	16	14 (11-16)	15 (13-15)	12-16	13	14 (12-16)	15 (14-15)
z4	17 (15-26)	12-15	13 (10-18)	16-22	15 (12-18)	15 (15-17)	13-18	13	13 (10-15)	15 (14-15)
z5	*	8-9	7 (6-8)	8-10	8 (7-10)	8 (5-8)	5-8	6	7 (7-8)	8
Z1	*	9-11	9 (8-10)	8-10	11 (10-12)	10 (8-10)	10-16	8	11 (10-13)	8
Z4	72 (67-76)	69-77	73 (69-78)	76-80	73 (70-76)	76 (73-80)	49-62	52	52 (49-53)	58 (55-60)
Z5	108 (102-116)	100-126	110 (106-115)	110-118	109 (105-112)	113 (108-114)	73-81	80	74 (70-78)	79 (78-80)
s4	76 (70-81)	74-85	75 (70-82)	76-80	78 (73-81)	83 (78-100)	57-65	59	61 (57-64)	63 (60-65)
s2	19 (17-25)	15-20	13 (11-14)	16-22	19 (18-21)	18 (17-22)	13-18	14	15 (13-18)	15 (13-18)
s4	12 (10-14)	9-11	9 (8-10)	12-14	11 (8-13)	11 (10-12)	9-13	9	9 (7-15)	14 (13-18)
s5	*	9-11	7 (6-8)	10-12	11 (9-12)	10 (10-11)	9-13	9	9 (8-10)	10 (8-11)
s3	*	23	20 (19-21)	22-25	25 (23-27)	24 (23-25)	21-23	20	21 (19-23)	21 (19-23)
R1	*	12-15	11 (10-13)	14-16	15 (12-17)	15 (13-17)	16-18	14	14 (13-14)	15 (13-15)
Sge I	33 (29-36)	26-31	24	*	29 (27-30)	25	*	*	24 (21-25)	20
Sge II	32 (26-37)	31-39	28 (27-29)	*	33 (32-35)	33 (30-38)	*	25	26 (23-28)	29 (28-30)
Sge III	37 (36-39)	31-39	32	*	36 (35-37)	37 (33-48)	*	24	26 (23-28)	30
StI III	*	26-28	22 (21-24)	*	27 (26-28)	26 (25-28)	*	20	21 (16-23)	28
Sge IV	64 (61-66)	57-69	61 (56-66)	65	63 (60-65)	64 (60-67)	39-52	39	45 (40-47)	47 (45-48)
StI IV	45 (42-47)	46-54	44 (40-51)	40-42	47 (44-50)	43 (40-45)	31-44	35	36 (32-38)	38 (35-40)
St IV	62 (53-68)	57-69	59 (53-64)	62-66	66 (60-68)	64 (63-65)	49-62	50	54 (48-58)	54 (50-55)
IV5	*	62-77	*	*	72 (65-72)	67 (63-70)	31-41	*	36 (33-39)	29 (28-31)
L1 length	*	*	*	*	*	377 (362-387)	*	*	*	302 (295-315)
L2 length	*	*	*	*	*	289 (274-320)	*	*	*	239 (225-242)
L3 length	*	*	*	*	*	300 (260-332)	*	*	*	252 (225-250)
L4 length	*	*	*	*	*	402 (382-430)	*	*	*	317 (300-317)
St1-St1	61 (61-62)	*	*	*	63 (55-68)	61 (58-65)	*	*	55 (52-60)	52 (50-53)
St2-St2	*	*	70 (69-70)	*	77 (71-87)	71 (63-78)	*	*	59 (56-63)	60
St3-St3	81 (78-83)	*	*	*	87 (79-91)	85 (82-90)	*	*	61 (56-66)	60 (57-63)
St1-St3	64 (61-66)	*	62	*	64 (63-65)	64 (63-65)	*	*	*	112* (110-113)
St4-St4	*	*	*	*	91 (82-101)	86 (80-92)	*	*	47 (43-51)	49 (48-50)
St5-St5	70 (64-76)	*	73 (67-78)	*	76 (70-81)	68 (60-73)	*	*	39 (35-43)	39 (35-40)
length of VAS	117 (106-129)	130	115 (110-120)	123-134	132 (128-135)	131 (125-140)	112-125	113	121 (109-128)	110 (108-110)
width VAS (ZV2)	83 (78-85)	85-90	79 (72-86)	89-92	83 (71-89)	87 (85-90)	*	145	151 (123-164)	158 (150-160)
width VAS (Anus)	*	*	79 (78-80)	*	86	84 (83-85)	*	*	*	79 (75-80)
Spermatheca l/Shaft	*	*	10	*	11	10	*	19	20 (19-21)	21 (19-23)
Chel. movable digit	*	*	33 (33-35)	*	33 (32-34)	33	*	*	25 (23-27)	29 (25-30)
Chel. fixed digit	*	*	28 (28-30)	*	33 (31-34)	33	*	*	26 (25-27)	31 (27-33)
Nb of teeth / MD	*	3	3	3	3	3	1	*	1	1
Nb of teeth / FD	*	11	9-10	11	9-10	9	6	*	6	6

TABLE 3: 12S rRNA mean genetic distances (minimal and maximal values) of *Amblyseius swirskii* specimens collected in La Réunion Island and *Amblyseius swirskii* specimens from rearing units (Koppert)

	<i>Amblyseius swirskii</i> Koppert	<i>Amblyseius swirskii</i> La Réunion
<i>Amblyseius swirskii</i> Koppert	0.014 (0.003 - 0.027)	-
<i>Amblyseius swirskii</i> La Réunion	0.017 (0.003 - 0.0036)	0.004 (0 - 0.010)

ing Megabase 1000 apparatus. The sequences were compared to previously published sequences using BLAST and aligned with CodonCode Aligner (4.0.4.) (CodonCode, Inc., Centerville, MA, USA). The distance matrix was constructed using the Kimura 2-Parameter model using Mega 6.0 (Tamura *et al.* 2013). Genbank Accession Numbers are indicated in Table 1.

RESULTS

Morphological analyses

For the females, except for some slightly longer (*s4*) or shorter (*Sge I*) setae and some slightly shorter dimensions of the sternal and genital shields in the La Réunion population, the measurements were very close to all those reported in the original description and further re-descriptions (Table 2). Clearly the differences observed fall into the intraspecific variation as defined in Tixier (2012). Males of the La Réunion population have slightly longer *S4*, *Sge II*, *Sge III* and *Sti III* and shorter *Sge I* and *JV5* (Table 2). Morphological comparisons seem to show that specimens found in La Réunion belong to the species *A. swirskii*.

Molecular analyses

A fragment of 418 bp was amplified. The mean genetic distance (1.7 %) between specimens collected in La Réunion Island and specimens of *A. swirskii* from Koppert was low. Genetic distances range between 0.3 and 3.6 % (Table 3). Such values are similar to distances observed between specimens of the Koppert population. Furthermore, such distances clearly correspond to intraspecific distances reported for other species of Phytoseiidae (e.g. Okassa *et al.* 2009, 2011; Tixier *et al.* 2011, 2012,

2014). The molecular results thus confirm that the specimens collected in La Réunion Island belong to *A. swirskii*.

Discussion and conclusion

Molecular and morphological results both allow us to conclude that specimens collected in La Réunion Island belong to the species *A. swirskii*. The origin of the population collected in La Réunion Island remains unknown. The population may originate from previous releases of a commercial strain of *A. swirskii* coming from Europe. *Amblyseius swirskii* has however been reported from another island far away from a continent: Cape Verde, in 1992 (Ueckermann 1992), far before it was sold and used in large numbers in many countries. It can also have come "naturally" or by human commercial activities from Eastern Africa directly or via Madagascar and / or Mauritius.

Several species of thrips and whiteflies occur in vegetable and ornamental crops in greenhouses in La Réunion (Vayssières *et al.* 2001), along with the broad *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), and the external demands for alternatives to chemical control are increasing. The potential for development of this indigenous population of *A. swirskii* as a bio-control agent for La Réunion crops, mainly in greenhouses but possibly also in outdoor crops such as citrus orchards (Juan-Blasco *et al.* 2012), is therefore very high.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are very grateful to Ingrid Avril (EARL Le Montvert, 77 Chemin Grand-Père, 97410 Saint-Pierre) the producer who has found the species on peppers and has had the intuition of its importance. We thank also Jean-Sébastien Cottineau, Technical

Manager in Arnefflor, and Jacques Fillatre, responsible of horticultural, strawberry and Papam production at Arnefflor for their investments in the collection and identification of the species. We are very grateful to the staff of Koppert BV (Koppert BV, Veilingweg 14, 2651 BE Berkel en Rodenrijs, The Netherlands) and especially to Dr Markus Knapp for providing us with specimens of the commercial strain of *Amblyseius swirskii*.

REFERENCES

- Abo-Shnaf R.I.A., Moraes G.J. de. 2014 — Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) from Egypt, with new records, descriptions of new species, and a key to species — *Zootaxa* 3865(1): 1-71.
- Anonymous 2012 — Décret n°2012-140 du 30 janvier 2012 relatif aux conditions d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macroorganismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique — *Journal Officiel de la République Française* 26 (texte n° 48), Réf. AGRG1124788D, 31 I 2012: 1803.
- Athias-Henriot C. 1975 — Nouvelles notes sur les Amblyseini. II. Le relevé organotaxique de la face dorsale adulte (Gamasides, Phytoseiidae) — *Acarologia* 27: 20-29.
- Basha A.E., Yousef A.A., Ibrahim M.H., Mostafa E.M. 2001 — Five new phytoseiids from Egypt (Acari: Gamasida: Phytoseiidae) — *Al-Azhar J. Agricult. Res.* 33: 371-386.
- Buitenhuis R., Murphy G., Shipp L. and Scott-Dupree C. 2015 — *Amblyseius swirskii* in greenhouse production systems: a floricultural perspective — *Exp. Appl. Acarol.* 65(4): 451-464 DOI: 10.1007/s10493-014-9869-9 doi:10.1007/s10493-014-9869-9
- Calvo F.J., Knapp M., van Houten Y.M., Hoogerbrugge H., Belda J.E. 2015 — *Amblyseius swirskii*: what made this predatory mite such a successful biocontrol agent? — *Exp. Appl. Acarol.* 65(4): 419-433. doi:10.1007/s10493-014-9873-0
- Chant D.A., McMurtry J.A. (2007) — Illustrated Keys and Diagnoses for the Genera and Subgenera of the Phytoseiidae of the World (Acari: Mesostigmata) — Indira Publishing House, West Bloomfield, Michigan, USA, 220 pp.
- Chant D.A., Yoshida-Shaul E. 1991 — Adult ventral setal patterns in the family Phytoseiidae (Acari: Gamasina) — *Int. J. Acarol.* 17(3): 187-199. doi:10.1080/01647959108683906
- Cock M.J.W., van Lenteren J.C., Brodeur J., Barratt B.I.P., Bigler F., Bolckmans K., Consoli F.L., Haas F., Mason P.G., Parra J.R.P. 2010 — Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? — *BioControl* 55: 199-218. doi:10.1007/s10526-009-9234-9
- Demite P.R., Moraes G.J. de, McMurtry J.A., Denmark H.A., Castilho R.C. 2016 — Phytoseiidae Database. Available from: www.lea.esalq.usp.br/phytoseiidae
- El-Badry E.A. 1967 — Five new phytoseiid mites from U.A.R., with collection notes on three other species (Acarina: Phytoseiidae) — *Indian J. Entomol.* 29: 177-184.
- Ferragut F., Pérez Moreno L., Iraola V., Escudero A. 2010 — *Acaros depredadores en las plantas cultivadas. Familia Phytoseiidae* — Agrotécnicas Ed, 202 pp.
- Jeyaprakash A., Hoy M.A. 2002 — Mitochondrial 12S rRNA sequences used to design a molecular ladder assay to identify six commercially available phytoseiids — *Biol. Cont.* 25: 136-142. doi:10.1016/S1049-9644(02)00056-7
- Juan-Blasco M., Qureshi J.A., Urbaneja A., Stansley P.A. 2012 — Predatory mite, *Amblyseius swirskii* (Acari Phytoseiidae), for biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) — *Fla Entomol.* 95: 543-551. doi:10.1653/024.095.0302
- Kanouh M., Tixier M.-S., Okassa M., Kreiter S. 2010 — Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae) — *Zool. Script.* 39: 450-461. doi:10.1111/j.1463-6409.2010.00439.x
- Kreiter S., Ueckermann E.A., Quilici S. 2002 — Seven new phytoseiid species, with a generic assignment and a key to the species of La Réunion Island (Acari: Mesostigmata) — *Acarologia* 42(4): 335-350.
- Lindquist E., Evans G.W. 1965 — Taxonomic concepts in the Ascidae, with a modified setal nomenclature for the idiosoma of the Gamasina (Acarina: Mesostigmata) — *Mem. Entomol. Soc. Canada* 47: 1-64. doi:10.4039/entm9747fv
- McMurtry J.A., Moraes G.J. de, Sourasso N.F. 2013 — Revision of the life styles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies — *Syst. Appl. Acarol.* 18: 297-320.
- Okassa M., Tixier M.-S., Cheval B., Kreiter S. 2009 — Molecular and morphological evidence for new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae) — *Canad. J. Zool.* 87: 689-698. doi:10.1139/Z09-057
- Okassa M., Kreiter S., Guichou S., Tixier M.-S. 2011 — Molecular and morphological boundaries of the predator *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) — *Biol. J. Linn. Soc.* 104: 393-406.

- Porath A., Swirski E. 1965 — A survey of phytoseiid mites (Acarina: Phytoseiidae) on citrus, with a description of one new species — *Isr. J. Agric. Res.* 15: 87–100.
- Pritchard A.E., Baker E.W. 1962 — Mites of the family Phytoseiidae from Central Africa, with remarks on the genera of the world — *Hilgardia* 33(7): 205–309.
- Quilici S., Kreiter S., Ueckermann E. A., Vincenot D. 1997 — Predatory mites (Acari) from various crops on Réunion Island — *Intern. J. Acarol.* 23(4): 283–291. doi:10.1080/01647959708683578
- Quilici S., Ueckermann E. A., Kreiter S., Vayssières J.-F. 2000 — Phytoseiidae (Acari) of La Réunion Island — *Acarologia* 41(1-2): 97–108.
- Rowell H.J., Chant D.A., Hansell R.I.C. 1978 — The determination of setal homologies and setal patterns on the dorsal shield in the family Phytoseiidae (Acarina: Mesostigmata) — *Canad. Entomol.* 110: 859–876. doi:10.4039/Ent110859-8
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. 2007 — MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 — *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596–1599. doi:10.1093/molbev/msm092
- Tixier M.-S. 2012 — Approaches to assess intraspecific variations of morphological continuous characters: the case study of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) — *Cladistics* 28(5): 489–502. doi:10.1111/j.1096-0031.2012.00394.x
- Tixier M.-S., Okassa M., Kreiter S. 2012 — An integrative morphological and molecular diagnostics for *Typhlodromus pyri* (Phytoseiidae) — *Zool. Script.* 41: 68–78. doi:10.1111/j.1463-6409.2011.00504.x
- Tixier M.-S., Okassa M., Liguori M., Poinso A., Salerno B., Kreiter S. 2010 — Voucher specimens for DNA sequences of phytoseiid mites (Acari: Mesostigmata) — *Acarologia* 50: 487–494. doi:10.1051/acarologia/20101984
- Tixier M.-S., Otto J., Kreiter S., Vicente V., Beard J. 2014 — Is *Neoseiulus wearnei* the *Neoseiulus californicus* of Australia? — *Exp. Appl. Acarol.* 62: 267–277. doi:10.1007/s10493-013-9740-4
- Tixier M.-S., Isolakis H., Ragusa S., Poinso A., Ferrero M., Okassa M., Kreiter S. 2011 — An integrative taxonomical approach demonstrates the synonymy between *Cydnodromus idaeus* and *C. picanus* — *Invert. Syst.* 25: 273–281.
- Ueckermann E.A. 1992 — Some Phytoseiidae of the Cape Verde Islands (Acari: Mesostigmata) — *Phytophylactica* 24: 145–155.
- Vayssières J.-F., Delvare G., Maldas J.-M., Aberlenc H.-P. 2001 — Inventaire préliminaire des arthropodes ravageurs et auxiliaires des cultures maraîchères sur l'île de la Réunion — *Intern. J. Trop. Insect Science* 21: 11–22.
- van Lenteren J.C. 2012 — The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake — *BioControl* 57(1): 1–20.
- van Lenteren J.C., Bueno V.H.B.F. 2003 — Augmentative biological control of arthropods in Latin America — *BioControl* 48: 123–139. doi:10.1023/A:1022645210394
- Wright R.J. 2004 — Retail suppliers of beneficial organisms — Nebraska Cooperative Extension NF94-182, Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, <http://ianrpubs.unl.edu/insects/nf182.htm>
- Zannou I.D., Hanna R. 2011 — Clarifying the identity of *Amblyseius swirskii* and *Amblyseius rykei* (Acari: Phytoseiidae): are they two distinct species or two populations of one species? *Exp. Appl. Acarol.* 53: 339–347. doi:10.1007/s10493-010-9412-6
- Zannou I.D., Moraes G.J. de, Ueckermann E.A., Oliveira A.R., Yaninek J.S., Hanna R. 2007 — Phytoseiid mites of the sub-tribe Amblyseini (Acari: Phytoseiidae: Amblyseini) from sub-Saharan Africa — *Zootaxa*, 1550: 1–47.

COPYRIGHT

 Kreiter S. et al. Acarologia is under free license. This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

3.3. Le cas de *Phytoseius finitimus* Ribaga

3.3.1. *Phytoseius finitimus*, une espèce potentiellement importante en lutte biologique

Distribution géographique. *Phytoseius finitimus* est une espèce originaire de la région méditerranéenne (Algérie, Égypte, Espagne, France, Grèce, Israël, Italie, Monténégro, Portugal, Tunisie et Turquie) ; elle a été reportée une fois aux États Unis (Californie) et en Iran (Castagnoli, 1989 ; Nicotina, 1996 ; Papaioannou-Souliotis *et al.*, 1999 ; Kreiter *et al.*, 2000 ; Ragusa & Tsolakis, 2001 ; Demite *et al.*, 2014). Ce prédateur généraliste de type IIIa (feuilles pubescentes) (McMurtry *et al.*, 2013) est principalement observé dans les vignobles de la région méditerranéenne, en Italie, en Corse (France) et en Grèce sur des variétés à feuilles pubescentes (Duso & Vettorazo, 1999 ; Papaioannou-Souliotis *et al.*, 1999 ; Kreiter *et al.*, 2000 ; Duso & Fontana, 2002 ; Duso *et al.*, 2009). Cette espèce est également signalée d'arbres fruitiers et sur des plantes non cultivées (Swirski & Ragusa, 1976, 1977 ; Duso & Vettorazo, 1999 ; Papaioannou-Souliotis *et al.*, 1999 ; Tsolakis *et al.*, 2000 ; Nomikou *et al.*, 2001 ; Peverieri *et al.*, 2009 ; Faraji *et al.*, 2011 ; Özsisli & Cobanoglu, 2011).

Régime alimentaire. *Phytoseius finitimus* est un prédateur se nourrissant d'acariens phytophages tels que des tétranyques (comme *Panonychus ulmi* Koch), des ériophyides, de petits insectes (*Bemisa tabaci* et thrips) ainsi que de pollen de *Thypha* sp. (Rasmy & El-Banhawy, 1975 ; Escudero & Ferragut, 1999 ; Papaioannou *et al.*, 1999 ; Papas *et al.*, 2013). Cependant, globalement il existe peu d'études sur le régime alimentaire de cette espèce (Duso *et al.*, 2009).

3.3.2. *Phytoseius finitimus*, une espèce appartenant à un genre à la taxonomie complexe

Le genre *Phytoseius* comprend 199 espèces valides, c'est le plus grand genre de la sous-famille Phytoseiinae (Chant & McMurtry 2007 ; Demite *et al.*, 2014). *Phytoseius* est un genre réparti dans toutes les régions biogéographiques, dont la région Orientale concentre environ 38 % des espèces (Tixier *et al.*, 2008c). *Phytoseius finitimus* a un seul synonyme : *Phytoseius dubinini* (Beglyarov) (Demitte *et al.*, 2014), et selon Nesbitt (1951), *P. finitimus* est morphologiquement proche de *Phytoseius*

horridus (Ribaga). Duso et Fontana (2002) ont réalisé un travail conséquent pour redéfinir l'espèce *Phytoseius finitimus* à partir du matériel collecté dans les zones initiales de description de l'espèce et mettre fin aux confusions entre *P. finitimus* et *Phytoseius plumifer* (Canestrini & Fanzago) qui avaient été mis en synonymies par plusieurs auteurs (Chant & McMurtry, 1994). Aucune clef d'identification des espèces de *Phytoseius* n'existe, ce qui signifie que l'identification morphologique repose sur une comparaison avec les 199 espèces actuellement décrites. De plus, comme le nombre de caractères pour distinguer ces espèces est faible (moins de soies par exemple que pour les autres sous-familles), et que beaucoup d'espèces sont assez semblables, des questions sur les caractères diagnostiques dans ce genre existent clairement.

3.3.3. L'étude réalisée et ses principales conclusions

Cette étude vise à caractériser les causes de la variation moléculaire importante observée pour les gènes mitochondriaux (12S ARNr, CYTB ADN mt) au sein de quatre populations initialement identifiées comme *Phytoseius finitimus*, collectées en France et en Italie. Les distances génétiques entre ces individus pour les marqueurs 12S rRNA (moyenne = 2,9 %, min-max = 0-9 %) et CYTB mtDNA (moyenne = 7,6 %, min-max = 0-23 %) étaient élevées. Ce résultat interroge donc sur l'existence d'espèces cryptiques parmi les individus initialement identifiés comme *P. finitimus*. Comme il n'existe quasiment aucune étude sur les règles de prise de décision quant au diagnostic moléculaire des Phytoseiidae et des acariens en général, nous avons proposé dans cet article une approche intégrative, en appliquant des règles statistiques à la matrice de caractères morphologiques et trois méthodes analytiques moléculaires.

La première méthode analytique correspond à l'approche basée sur les arbres (Neighbour Joining, Parcimonie et Inférence Bayésienne). La deuxième consiste à analyser les gaps entre les distances intra et inter-populations et comparer les distances obtenues avec celles déjà observées au niveau intra- et inter-spécifique chez les Phytoseiidae. La troisième est une méthode de détection automatique des gaps entre lots de distances ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) implémentées selon les modèles : Jukes-Cantor (JC69), Kimura (K80) et P-distance.

Les arbres phylogénétiques obtenus montrent des topologies similaires entre les trois approches (Neighbour Joining, Parcimonie et Inférence Bayésienne). Pour les deux marqueurs moléculaires mitochondriaux 12S ARNr et CYTB ADN mt, trois clades ont été obtenus : Corse-Italie/vigne, Corse/kiwi et Italie/*V. lantana*. Pour le marqueur moléculaire nucléaire ITSS, deux clades ont été obtenus : Italie/*V. lantana* et un autre, formé par l'ensemble des individus des trois populations. La topologie obtenue à partir des marqueurs concaténés (Parcimonie et Inférence Bayésienne) a été identique à celle obtenue avec les marqueurs mitochondriaux. Ainsi, selon le critère « arbre phylogénétique », notre jeu de données pourrait donc comprendre deux ou trois entités différentes, mais il est impossible de conclure sur leur nature : espèces différentes ou populations différentes.

Des gaps entre les distances séparant ces quatre populations ont été recherchés. Selon le critère de chevauchement des distances intraspécifiques, les trois marqueurs indiquent que les populations sur vigne (France et Italie) et kiwi appartiennent à la même espèce. Pour les individus collectés sur *V. lantana* aucune conclusion ne peut être tirée car des divergences entre les marqueurs sont observées, les marqueurs ITSS et CYTB militant pour une seule espèce et le marqueur 12S ARNr pour l'existence de deux entités. Les distances génétiques obtenues ont été comparées avec celles déjà publiées pour des espèces de la famille des Phytoseiidae (distances maximales intra-spécifiques et distances minimales inter-spécifiques). Ces comparaisons montrent que les distances maximales entre les clades sont globalement inférieures aux distances intra-spécifiques déjà publiées, ce qui suggère que tous les individus considérés appartiennent à une même espèce.

L'approche ABGD implémentée avec Jukes-Cantor (JC69) et Kimura (K80) ont abouti à des résultats similaires pour les deux marqueurs mitochondriaux (12S ARNr et CYTB ADN mt). Cependant, un nombre supérieur de clades que celui observé sur les arbres phylogénétiques basés sur les marqueurs mitochondriaux a été obtenu. Dans les cas où la P-distance a été utilisée, seulement deux clades, un comprenant Italie/*V. lantana* et l'autre comprenant l'ensemble des spécimens, ont été observés. Pour le marqueur ITSS, l'approche ABGD a donné des résultats similaires indépendamment des algorithmes utilisés, suggérant que tous les individus étudiés appartiennent à une même espèce.

Des analyses morphologiques ont été réalisées et les règles de décision statistiques basées sur les travaux de Tixier (2012, 2013) ont été appliquées. Les différences entre les individus des quatre populations considérées sont incluses dans une variation morphologique intra-spécifique normale. Ainsi, la convergence entre les résultats des analyses morphologiques et l'analyse moléculaire (notamment les marqueurs nucléaires) a confirmé que les quatre populations étudiées appartiennent à l'espèce *Phytoseius finitimus*.

Cette étude a été la première à aborder les variations moléculaires au sein de la sous-famille Phytoseiinae et à mobiliser de nouveaux concepts d'analyses moléculaires pour les Phytoseiidae. Les résultats obtenus montrent clairement l'importance de l'utilisation de bases de données pour la comparaison à des distances de référence aux niveaux intra- et inter-spécifiques. Un des enjeux pour le futur est donc la constitution de bases de données complètes et fiables, associée à la formulation de règles de décision basées sur des analyses statistiques (seuils) afin d'améliorer la fiabilité et la cohérence des identifications. L'identification morphologique erronée de spécimens très proches peut avoir des conséquences du point de vue pratique, notamment en lutte biologique. Ce travail montre que les quatre populations ont des profils moléculaires différents ; les populations collectées dans les parcelles cultivées sont clairement différenciées de celle collectée dans les abords non cultivés de ces parcelles. Sur la base de travaux conduits sur l'espèce de Phytoseiidae, *Phytoseiulus longipes*, montrant une relation entre les clades génétiques et des comportements alimentaires différents (Tixier *et al.*, 2010a), on peut se demander si les différences génétiques mises à jour ici pour l'espèce *Phytoseius finitimus* sont associées à des différences biologiques, importantes dans le cadre de la lutte biologique. Par exemple, quels échanges entre les populations présentes dans les cultures et celles présentes dans les abords dans le cadre de la lutte biologique par conservation de la biodiversité ? Des études biologiques concernant les populations étudiées dans ce travail pourraient permettre de répondre à de telles questions.

3.3.4. Article: Great molecular variation questions the species *Phytoseius finitimus* (Acari: Phytoseiidae): implications for diagnosis within the mite family Phytoseiidae.

Acarologia 57(3): 493–515 (2017)
DOI: 10.1051/acarologia/20174168

Great molecular variation within the species *Phytoseius finitimus* (Acari: Phytoseiidae): implications for diagnosis decision within the mite family Phytoseiidae

Marie-Stéphane TIXIER¹✉, Victor DOS SANTOS VICENTE¹, Martial DOUIN¹, Carlo DUSO²
and Serge KREITER¹

(Received 23 August 2016; accepted 30 November 2016; published online 05 May 2017; edited by Farid FARAJI)

¹ Montpellier SupAgro, UMR CBGP, INRA/IRD/CIRAD/Montpellier SupAgro, 755 Avenue du Campus Agropolis, CS 30016, 34988 Montpellier-sur-Lez cedex, France. marie-stephane.tixier@supagro.fr (✉), victor.vicente@supagro.fr, serge.kreiter@supagro.fr, martial.douin@supagro.fr

² Department of Agronomy, Food, Natural resources, Animals and Environment, University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy. carlo.duso@unipd.it

ABSTRACT — Molecular markers are increasingly used for species identification and new taxa description. However, rules to determine frontiers between populations and species are not clear depending on taxa considered. For mites, few studies deal with molecular diagnoses, making associated decision' rules difficult. The present study focuses on a species of the predatory mite family Phytoseiidae (*Phytoseius finitimus*), considered for biological control of mites and small insect pests in fruit orchards and vineyards in the Mediterranean basin. This paper aims to elucidate the causes of great molecular variations and questions the occurrence of cryptic species. Molecular (12S rRNA, CytB mtDNA, ITSS) and morphological analyses were performed on four populations collected in Corsica and Italy in crops (vine and kiwi) and in an uncultivated environment (*Viburnum lantana*). Different methods for identifying species have been used (tree approaches, distances and ABGD algorithms). A reference database of distances within and between Phytoseiidae species has been elaborated to inform the present question and to assist with further diagnosis within Acari. Mitochondrial DNA analyses show that specimens from *V. lantana* were well separated from the three other populations with high genetic distances, suggesting the existence of a cryptic species. Molecular ITSS analyses coupled with morphological features show however that the four populations seem to belong to the same species. The great mitochondrial polymorphism is discussed in regards to: (i) genetic distances reported for Phytoseiidae species and (ii) potential biological differences between populations (cultivated *versus* uncultivated areas). This study clearly emphasizes the necessity of integrative taxonomy approaches for diagnosis decisions. Furthermore, based on the polymorphism herein detected, maximal intraspecific distances are proposed (9, 23 and 2.8 % for 12S rRNA, CytB mtDNA and ITSS) for diagnosis decisions within Phytoseiidae. Further statistical analyses are however clearly required to determine statistical error for general and reliable decision making.

KEYWORDS — Acari; molecular taxonomy; morphometrics; species delineation; integrative taxonomy

INTRODUCTION

Molecular markers for differentiating microorganism, plant and animal species are currently used in taxonomy. The rapid technical developments (*i.e.* DNA extraction, PCR and Sanger sequencing) during these last decades as well barcoding approaches and associated conceptual definitions have led to the development of molecular diagnosis (*i.e.* Hebert *et al.* 2003a,b; 2004a,b; DeSalle *et al.* 2005; Goldstein and DeSalle 2011). Molecular markers were traditionally used when doubts on species identity arise from morphological comparisons and sometimes from biological features between populations. However, cryptic species are more and more revealed *via* comparison of DNA sequences of apparently morphologically similar specimens (*i.e.* Pons *et al.* 2006; Witt *et al.* 2006; Bickford *et al.* 2007; Valentini *et al.* 2009; Foottit *et al.* 2009; Pauls *et al.* 2010; Jorger *et al.* 2012; Kekkonen and Hebert, 2014; Kekkonen *et al.* 2015). The present study focuses on a species of the mite family Phytoseiidae: *Phytoseius finitimus* Ribaga. This family, containing 2,479 valid species (Demite *et al.* 2016), is one of the most well-known within the Mesostigmata, due to the predatory abilities of numerous species to control mite and small insect pests (McMurtry and Croft 1997; Gerson *et al.* 2003; McMurtry *et al.* 2013). Correct identification of these predators is clearly of huge importance for ensuring the success of biological control, as different species have different biological features (*i.e.* Tixier *et al.* 2006; McMurtry *et al.* 2013). Phytoseiidae species identification is essentially based on female morphological characters. However, the reliability of those characters as well as the low number of morphological features potentially available (due to the mite small size, 500 μm maximum in length) have led to the development of molecular studies to resolve questions concerning synonymies (*i.e.* Jeyaprakash and Hoy 2002; Noronha *et al.* 2003; Tixier *et al.* 2006, 2008a, 2010a, 2011b, 2012, 2014; Okassa *et al.* 2009, 2010, 2011, 2012; Kanouh *et al.* 2010a,b; Bowman and Hoy 2012; Chao *et al.* 2012; Navia *et al.* 2014; Rezende *et al.* 2015). For ensuring molecular diagnosis, a database containing DNA sequences associated to the correct species name is essential (*i.e.*

DeSalle *et al.* 2005; Collins and Cruickshank 2013). When elaborating such a database for Phytoseiidae species, high molecular variations were observed within specimens identified as *P. finitimus* during samplings carried out in Italy and France, two areas where this species is most commonly found.

Phytoseius finitimus is a generalist predator and is quite common in Mediterranean vineyards (*i.e.* Ragusa and Ciulla 1991; Duso and Vettorazzo 1999; Duso and Fontana 2002; Peverieri *et al.* 2009; Miñarro and Kreiter 2012). Some studies have shown its ability to control phytophagous mites, whiteflies and thrips and to develop when fed with pollen (Pappas *et al.* 2013) and Ahmad *et al.* (2015) recently studied its interspecific competition features. The present study aims to elucidate the great molecular distances observed between four *P. finitimus* populations and to determine how these great variations are related or not to cryptic species occurrence. Answering this question is clearly important for biological control applications, as implementations and advice for agro-environmental management would be different if one or two species are named under *P. finitimus*. To determine if one or several species were present, an integrative taxonomic approach based on three molecular fragments and morphological analyses has been carried out. The number of analytical developments for assessing species within a DNA sequence dataset is increasing for ensuring diagnosis decision (*i.e.* Kekkonen *et al.* 2015). Traditional cluster tree-based and distance threshold-based approach as well as the overlapping ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) algorithm have been herein used to determine their respective performance and congruence. Furthermore, a compilation of genetic distances between Phytoseiidae species retrieved from already published works is also provided as a reference comparison point. This review aims to provide additional information that can be used in informing the decision and more broadly aims to assist further analyses on DNA molecular diagnosis within the family Phytoseiidae for delimiting intra- and interspecific frontiers.

MATERIALS AND METHODS

Species and populations studied

Phytoseius finitimus, even if reported many times in the literature, is not naturally observed in great densities and is quite difficult to efficiently retrieve. It is known to be frequent in Italy and in Corsica (France), especially in vineyards (Kreiter *et al.* 2000; Duso and Fontana 2002; Demite *et al.* 2014). Four populations of *P. finitimus* were considered, with the double aims to study populations (i) from the two main areas where this species is most abundant (Italy and France) and (ii) from cultivated (vine and kiwi) and uncultivated areas (colonized by *Viburnum lantana* L.). Two populations were collected in Italy in the same locality on vines (*Vitis vinifera* L.) and on uncultivated *V. lantana* plants located besides the vine plot. Two populations were collected in France – Corsica, on vine and kiwi (*Actinidia deliciosa* C.F. Liang & A.R. Ferguson.) on plots separated by approximately 15 kms (Figure 1). The characteristics of the populations studied and accession numbers of DNA sequences in the Genbank database are presented in Table 1. The species *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) *phialatus* Athias-Henriot, belonging to the sub-family Typhlodrominae, was used as an out-group for tree construction. Sequences of this latter species were obtained by present authors and already referenced in the Genbank database (12S rRNA: HM635274, ITSS: HQ404829, CytB mtDNA: HM635300) (Okassa *et al.* 2012; Tsolakis *et al.*, 2012).

Molecular experiments

DNA extraction.

Total genomic DNA of a single female was extracted using a Qiagen DNeasy tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany), according to the DNA extraction protocol « Purification of Total DNA from Animal Blood or Cells » (Spin-Column Protocol) adapted for extracting total DNA from mites (Kanouh *et al.* 2010b). Between six and thirteen females were considered per population (Table 1). After extraction, specimens were retrieved and mounted on slides according to the method developed by Tixier *et al.* (2010 b).

DNA amplification and sequencing.

A nuclear ribosomal gene section including ITS1-5.8S-ITS2 (reported as ITSS) and two mitochondrial markers (12S rRNA, Cytochrome B mtDNA) were amplified within a multi-barcoding approach to avoid the current pitfall of barcoding using only one small DNA fragment (Moritz and Cicero 2004; Collins and Cruickshank 2013). These DNA fragments have been used for species diagnosis within Phytoseiidae (Jeyaparakash and Hoy 2002; Tixier *et al.* 2006, 2008a, 2010a, 2011b, 2012, 2014; Okassa *et al.* 2009, 2010, 2011, 2012; Kanouh *et al.* 2010a,b; Navia *et al.* 2014; Rezende *et al.* 2015). Primers and thermal cycling are those reported in Tixier *et al.* (2012). The PCR reactions were performed in a 25 µL volume, containing 4 µL of mite DNA for mt markers and 2 µL for ITSS, 2.5 µL (1 mM) of buffer 10X, 1 µL (1.5 mM) of MgCl₂, 0.5 µL (0.05 mM for each) dNTPs, 0.175 µL (0.7 µM) for each primer, 0.125 µL (0.625 U) of Taq Qiagen and 16.525 µL of water. Electrophoresis was carried out on a 1.5 % agarose gel in 0.5 X TBE buffer during 20 min at 135 volts. PCR products were purified using ExoSAP-IT (Amersham) and sequenced along both strands using Dynamic ET Terminator Cycle Sequencing kit. The sequencer used was the Megabase 1,000 apparatus. Sequences were aligned and analysed with Geneious v3.5.4 (Drummond *et al.* 2007).

Data analyses.

A preliminary analysis was conducted on the coding sequences (CytB mtDNA) to check for the absence of stop codons. Three molecular diagnosis approaches were used to assess the occurrence of cryptic species within the four populations of *P. finitimus*.

Tree-based cluster approach.

Neighbour-joining trees were constructed using the Kimura 2-parameter model and node support was determined using 1,000 bootstrap replicates calculated in Mega 6.0.6® (Tamura *et al.* 2013). The K2P model was used to make our results comparable with other studies on Phytoseiidae. Furthermore to determine how other tree models perform for resolving the question on cryptic species, Parsimony and Bayesian analyses were carried out for



FIGURE 1: Map showing the localities where the four populations of *Phytoseius finitimus* have been collected (on kiwi and vine in Corsica, on *Viburnum lantana* and vine in Italy).

each fragment and combined dataset (applying simple partition procedure with one partition corresponding to each DNA marker). As for some specimens, it was impossible to obtain PCR products (especially for ITS), the combined data set was analysed following Wiens (1998a,b), Wiens *et al.* (2005) and Zheng and Wiens (2016), who demonstrated that missing data do not affect the phylogenetic accuracy.

The Incongruence Length Difference (ILD) P value ($P = 0.07$) suggests no conflicting signals between markers (Mickey and Farris 1981; Sullivan 1996; Farris *et al.* 1994; Cunningham 1997). For

Parsimony analyses a heuristic search procedure repeated 1,000 times, was performed with randomized taxa additions and branch-swapping algorithm (TBR). To reduce misleading effects of homoplasious characters, an *a posteriori* re-weighting was applied according to the rescaled consistency index (RC) after each tree search, until the number of trees stabilised (Farris 1969, 1989) (PAUP*, v.4.0b.10 / Swofford, 2002). Bayesian analysis was carried out using MrBayes 3.1 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003); the best-fit-substitution models were determined by Modeltest 3.07 in PAUP (Posada and Crandall 1998) through hierarchical likelihood-ratio

TABLE 1: Characteristics of collection localities of the different populations, plant support species considered and accession numbers in the Genbank database.

Country	Locality	GPS coordinates	Host plant	Genbank accession numbers		
				12S rRNA	CytB mtDNA	ITSS
Italy	Manzana (Vittorio Veneto)	45°55'52.16"N 12°16'11.63"E, 168 m alt.	<i>Viburnum lantana</i> L.	KX021177	KX021132	KX021162
				KX021178	KX021133	KX021163
				KX021179	KX021134	KX021164
				KX021180	KX021135	KX021165
				KX021181	KX021136	KX021166
				KX021182	KX021137	KX021167
				KX021183	KX021138	KX021168
				KX021184	KX021139	
				KX021185		
			<i>Vitis vinifera</i> L.	KX021190	KX021146	KX021170
				KX021191	KX021147	KX021171
				KX021192	KX021148	KX021172
				KX021193	KX021149	
				KX021194	KX021150	
				KX021195	KX021151	
				KX021196	KX021152	
				KX021197	KX021153	
				KX021198	KX021154	
				KX021199	KX021155	
France	Planiccie	42°16'53"N,	<i>Kiwi: Actinidia deliciosa</i> C.F. Liang & A.R. Ferguson	KX021173	KX021128	KX021159
	San Giuliano	9°32'2"E,		KX021174	KX021129	KX021160
	Corsica	25 m alt.		KX021175	KX021130	KX021161
				KX021176	KX021131	
France	Poggiale	42°11'6"N,	<i>Vitis vinifera</i> L.	KX021186	KX021140	KX021169
	Linguizzetta	9°29'59"E,		KX021187	KX021141	
	Corsica	51 m alt.		KX021188	KX021142	
				KX021189	KX021143	
					KX021144	
					KX021145	

tests (12S rRNA: HKY+G; CytB mtDNA: TIM+I; ITSS: HKY+G). The number of categories used to approximate the gamma distribution was set at four, and four Markov chains were run for 100,000 generations. Stabilisation of model parameters (burn-in) occurred around 250 generations.

As tree clades do not necessary reflect species clusters but can represent populations of a same species (i.e. Moritz and Cicero 2004; Collins and Cruickshank 2013), the classical threshold-based approach was applied and distance matrices (using the Kimura 2-parameter) model were elaborated. With this approach, ideally no overlap should occur

between intra and interspecific distances (i.e. Meyer and Paulay 2005). Even if the no-overlap model is sometimes point of contention especially because of sampling completion, knowledge of species considered and associated taxonomical features, distance comparison is currently used to distinguish between species for practical assignments. Two approaches for comparing distances were applied.

The overlap distance criteria.

First, distances within and between the four populations were manually compared to determine gap occurrence. In addition, the ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) algorithm

was applied. It aims at automatically determining the occurrence of different species within a dataset based on gap between batches of sequences pairs (Puillandre *et al.* 2012a), detecting the first barcode gap and using it to partition the dataset into candidate species. Analyses were performed in November 2016 on the web interface (<http://www.abi.snv.jussieu.fr/public/abgd/>). They were conducted using three metrics (Jukes-Cantor (JC), Kimura 2 parameter (K2P) and simple p-distances) and default parameter values.

Empirical comparisons to references.

Distances usually constitute a useful point of comparison when the taxonomic status of the taxa compared is sure (Robinson *et al.* 2009). Thus, the genetic distances herein obtained were compared to those mentioned in 15 publications for 24 Phytoseiidae species. Only distances issued from published works and not calculated from all Phytoseiidae sequences deposited in Genbank were considered, because of great incertitude on the true identity of the sequences deposited in this world database (i.e. Tixier *et al.* 2011a). Two distances were compiled: (i) one corresponding to the maximal value observed within a same species (maximal intraspecific variation) and (ii) one corresponding the minimal value observed between two species of a same genus [minimal interspecific variation assumed to be the "Nearest Neighbour" (Kekkonen *et al.* 2015)].

Morphological analyses

Characters considered.

As female dorsal seta lengths are currently used to discriminate between Phytoseiidae species (Chant and McMurtry 2007), the seventeen dorsal idiosomal setae were measured for 5 to 10 females issued from the same populations as sequenced specimens: *j1*, *j3*, *j4*, *j5*, *j6*, *j2*, *j5*, *z2*, *z3*, *z5*, *z4*, *Z4*, *Z5*, *s4*, *s6*, *r3* and *R1*. The lengths of the seta *JV5* and the macroseta on the basitarsus of the leg IV (*St IV*) were also considered. Finally, peritreme, spermatheca, ventrianal shield and chelicera shapes were observed. Terminology for seta notation follows that of Lindquist and Evans (1965) as adapted by Rowell *et al.* (1978) for Phytoseiidae.

Data analyses. The data corresponding to the 17 continuous characters were normally distributed and variances were equal (Bartlett test). ANOVA analyses were performed for each character to determine differences between the four populations. A principal component analysis was also carried out to determine whether the combination of the morphological characters differentiates specimens considered. All statistical analyses were carried out with Statistica (Statsoft France 2010).

To determine the variation of each seta length, the rCL_{95} corresponding to the percentage of variation around the mean was calculated according to the formula provided in Tixier (2012). Furthermore, min and max values of the interval assumed to include 95 % of specimens of a same species for each setal length were modelled using the abacus provided in Tixier (2012) to determine whether the observed variation would be included in the modelled "normal" intraspecific variation.

RESULTS

Molecular analyses.

437, 418 and 690 base pairs (bp) were aligned for the 12S rRNA, Cytb mtDNA, and ITSS genes, respectively. Quite similar and constant rates of nucleotide substitutions were observed for all the populations studied. A BLAST search in Genbank showed that the sequences aligned with those of Phytoseiidae. The overall genetic distances between the specimens of *P. finitimus* for 12S rRNA (mean = 2.9 %, min-max = 0.9 %) and CytB mtDNA (mean = 7.6 %, min-max = 0.23 %) are high in regards to those obtained in other studies (Table 3) questioning the occurrence of cryptic species.

Diagnosis decision and tree cluster criteria.

The same tree topologies were observed with the three algorithms (Neighbour Joining, Parsimony, Bayesian analyses) for the three markers considered. Three clades were observed on the trees obtained with the two mitochondrial markers (12S rRNA, CytB mtDNA): one containing specimens collected in Corsica on vine, one containing specimens collected in Italy on vine and in Corsica on kiwi and

TABLE 2: Mean genetic K2P distances (minimal and maximal values), between and within the four populations considered (kiwi-Corsica, *Viburnum lantana*-Italy, vine-Italy and vine-Corsica) for the three molecular markers used 12S rRNA (a), CytB mtDNA (b) and ITSS (c).

(a)

	Vine Italy	Kiwi Corsica	Vine Corsica	<i>Viburnum lantana</i> Italy
vine Italy	0 (0-0.017)			
Kiwi Corsica	0.002 (0-0.02)	0.02 (0-0.02)		
Vine Corsica	0.04 (0.03-0.05)	0.04 (0.03-0.04)	0.02 (0-0.03)	
<i>Viburnum lantana</i> Italy	0.05 (0.04-0.06)	0.05 (0.05-0.06)	0.07 (0.06-0.090)	0.003 (0-0.008)

(b)

	Vine Italy	Kiwi Corsica	Vine Corsica	<i>Viburnum lantana</i> Italy
vine Italy	0.006 (0-0.022)			
Kiwi Corsica	0.006 (0-0.018)	0.004 (0.003-0.005)		
Vine Corsica	0.08 (0.003-0.16)	0.08 (0.003-0.14)	0.06 (0.003-0.13)	
<i>Viburnum lantana</i> Italy	0.12 (0.11-0.16)	0.12 (0.10-0.16)	0.16 (0.10-0.23)	0.023 (0-0.06)

(c)

	vine Italy	Kiwi Corsica	Vine Corsica	<i>Viburnum lantana</i> Italy
vine Italy	0.002 (0-0.003)			
Kiwi Corsica	0 (0-0)	0 (0-0)		
Vine Corsica	0 (0-0)	0 (0-0)	-	
<i>Viburnum lantana</i> Italy	0.008 (0.003-0.028)	0.006 (0.003-0.028)	0.005 (0.003-0.017)	0.007 (0-0.025)

TABLE 3: Results of the ABGD analyses with the groups obtained and Prior maximal distance and number of partitions.

	12S rRNA	CytB mtDNA	ITSS
Jukes-Cantor (JC69) and Kimura (K80) TS/TV distances	4 groups: 9 sequences: <i>V. lantana</i> 17 sequences: Vine Italy and kiwi 2 sequences: Vine Corsica 2 sequences: Vine Corsica	5 groups: 8 sequences: <i>V. lantana</i> 17 sequences: Vine Italy and kiwi 4 sequences: Vine Corsica 1 sequence: Vine Corsica 1 sequence: Vine Corsica	1 group
Prior maximal distance	7 partitions, $P = 0.02$	8 partitions, $P = 0.03$	2 partitions, $P = 0.001$
P distance	2 groups: 9 sequences: <i>V. lantana</i> 21 sequences: other populations	2 groups: 8 sequences: <i>V. lantana</i> 23 sequences: other populations	1 group
Prior maximal distance	5 partitions, $P = 0.007$	7 partitions, $P = 0.02$	1 partition, $P = 0.001$

one containing specimens collected in Italy on *V. lantana* (Figures 2, 3). One specimen collected on vine in Corsica was however located in the clade containing specimens from vine-Italy and kiwi-Corsica. These clades could be three species or three populations of a same species. Specimens included in the two former clades are more closer to each other than to specimens included in the third. Two not

well-sustained clades are observed on the ITSS tree (Figure 4), one containing specimens from *V. lantana* and one containing the specimens of the three other populations. Furthermore, the same clades as those obtained with mitochondrial markers were also obtained when concatenated data were considered for both Parsimony and Bayesian analyses (Figure 5).

Diagnosis decision and the overlap criteria.

Figure 6 presents the four intra-populations distances and the six inter-population distances. For 12S rRNA, overlap is observed between intra-population distances and distances between specimens collected on vine in Italy, vine and kiwi in Corsica. However, no overlap is observed between intra-population distances and distances between specimens collected on *V. lantana* in Italy and those from the three other populations (Figure 6). For CytB mtDNA, overlap is observed between intra-population and all inter-population distances, especially because of the high intra-population distances observed within the vine-France population. Finally, for ITSS marker, overlap is observed between all intra and inter-population distances.

With the ABGD analyses, the same groups were obtained for the Jukes-Cantor (JC69) and Kimura (K80) TS/TV distances but different clusters were observed for the P distance (Table 3). For the 12S rRNA and CytB mtDNA markers, four and five groups were observed with the K80 and JC69 distances, respectively. Globally, the same groups as those observed on the phylogenetic trees were obtained, but more clustering was observed within the population collected on vine in Corsica (two clusters for 12S rRNA and three clusters for CytB mtDNA). Using P distance, only two groups were observed with the two mitochondrial markers, one containing specimens collected on *V. lantana* and one containing all the others. For the ITSS marker, one group was observed whatever the distance considered. The ABGD method provides thus different information and groups depending on (i) mitochondrial DNA vs nuclear markers and (ii) the distance considered.

Diagnosis decision and comparison to references in literature.

The 12S molecular distances between clades I and II (0-5 %) correspond to values currently retrieved in literature for specimens belonging to the same species (Table 4). Furthermore, such distances are lower than the minimal distances observed until now between species of a same genus. In one case corresponding to distances between *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot and *P. macropilis* (Banks),

the presently observed distances are higher than the minimal distance observed between these two species (4 %). The maximal 12S rRNA distances between *V. lantana* specimens and specimens of clades I and II (9 %) is higher than the maximal intraspecific distances observed until now within a Phytoseiidae species (8 %) (Tables 2, 4). This value even if close to minimal distances observed between *Neoseiulus californicus* and *N. fallacis* (Garman) [10 % in Tixier et al. (2014) and 9.5 % in Jeyapragash and Hoy (2002)] is however lower than distances observed until now between two Phytoseiidae species of the same genus.

The mean CytB distances between specimens from clades I and II are usually lower than genetic distances observed within a same Phytoseiidae species (Tables 2, 4). However, maximal distances (16 %) observed between specimens from vine in Italy and France, and kiwi from France as well those within vine-Corsica population (13 %), are higher or equal to the maximal intraspecific distances observed until now for Phytoseiidae (13 % for *N. aceri*). The maximal CytB distances between specimens from *V. lantana* and the three other populations (23%) are higher than those already observed within a same Phytoseiidae species. This value is just below the minimal interspecific distances observed between species of some genus (23.4 % between *T. (T.) phialatus* and *T. (T.) exhilaratus* and 24 % between *N. californicus* and *N. picanus* in Okassa et al. (2011, 2012)).

The highest ITSS distances are observed between specimens collected on *V. lantana* and the specimens of the other populations. The distances between clades I and II are very low and included in the variation range of intraspecific distances retrieved in literature (Table 3). The mean distances between these two clades and specimens from *V. lantana* are usually lower than those observed between different species of a same Phytoseiidae genus. The maximal distance is however similar to the distances obtained between *T. (T.) phialatus* and *T. (T.) exhilaratus* (two morphological close species) by Tixier et al. (2006) whereas Navia et al. (2014) reported a distance of 4.75 % between these two same latter species (Table 4).

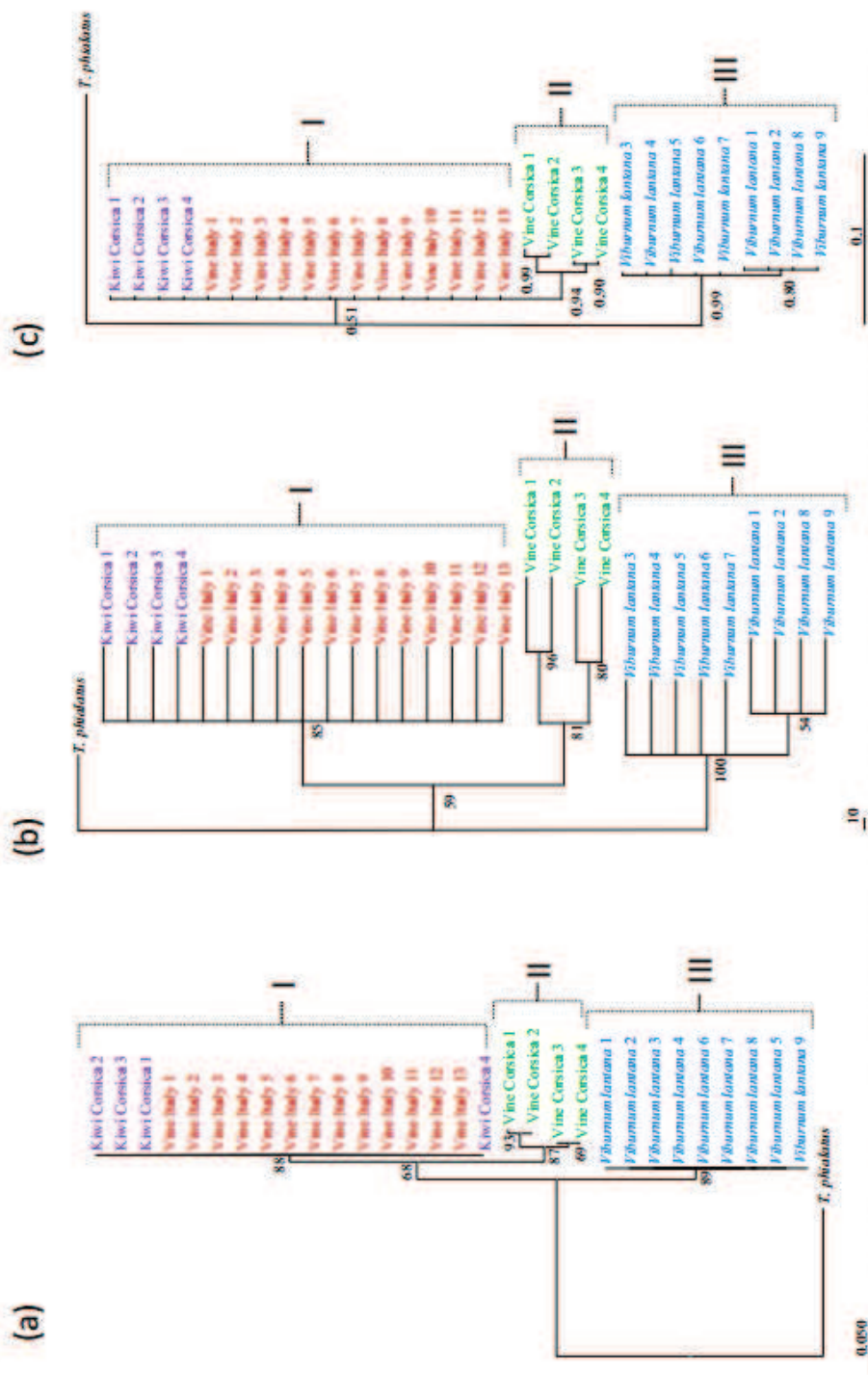


FIGURE 2: Phylogenetic trees obtained with (a) Neighbour joining, (b) Parsimony (Consistency Index = 0.97) and (c) Bayesian analyses using the 12S rRNA fragment for specimens collected on kiwi in Corsica, *Viburnum lantana* in Italy, vine in Corsica. The numbers at nodes correspond to bootstrap values (Neighbour joining, Parsimony) and posterior probability (Bayesian).

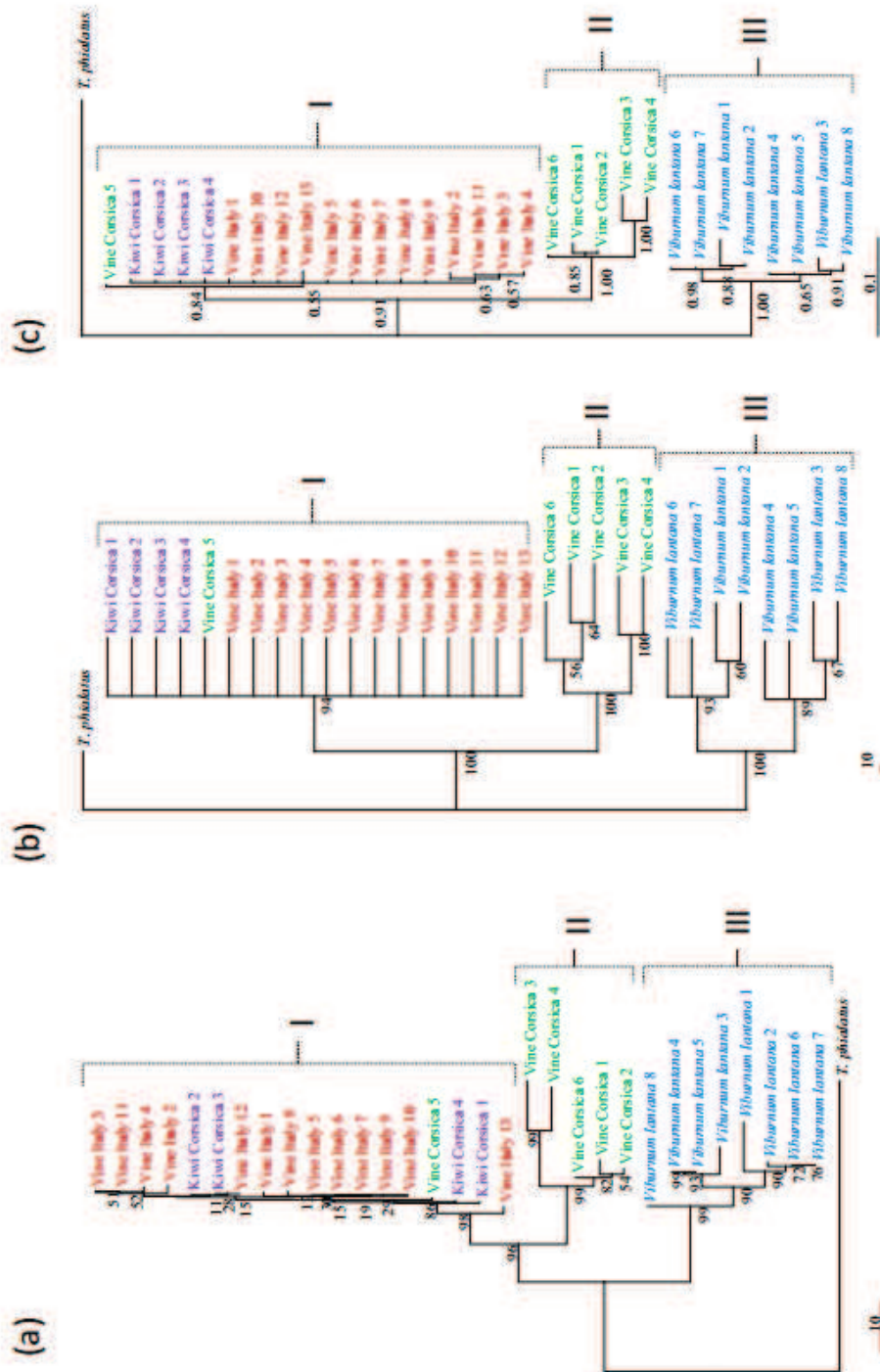


FIGURE 3: Phylogenetic trees obtained with (a) Neighbour Joining, (b) Parsimony (Consistency Index = 0.92) and (c) Bayesian analyses using the Cytb mtDNA fragment for specimens collected on kiwi in Corsica, *Viburnum lantana* in Italy, vine in Italy and vine in Corsica. The numbers at nodes correspond to bootstrap values (Neighbour Joining, Parsimony) and posterior probability (Bayesian).



TABLE 4: Maximal intraspecific distances within Phytoseiidae species and minimal interspecific distances between Phytoseiidae species of the same genus reported in literature for the DNA markers: 12S rRNA, CytB mtDNA and ITSS.

	Maximal intraspecific distances			References
	12S	CytB	ITSS	
<i>Typhlodromus (Typhlodromus) pyri</i>	4.7%	10%	1.2%	Tixier <i>et al.</i> 2012
<i>Typhlodromus (Typhlodromus) exilaratus</i>	0.3%	0.3%		Okassa <i>et al.</i> 2012
<i>Typhlodromus (Typhlodromus) phialatus</i>	0%	0%		Okassa <i>et al.</i> 2012
<i>Euseius finlandicus</i>	3%			Okassa <i>et al.</i> 2009
<i>Euseius stipulatus</i>	0%			Okassa <i>et al.</i> 2009
<i>Euseius gallicus</i>	0%			Okassa <i>et al.</i> 2009
<i>Neoseiulella aceri</i>	8%	13%	1%	Kanoun <i>et al.</i> 2010b
<i>Neoseiulella litoralis</i>	2.6%	5%	1%	Kanoun <i>et al.</i> 2010b
<i>Neoseiulella tiliarum</i>	1%		0%	Kanoun <i>et al.</i> 2010b
<i>Neoseiulus californicus</i>	5.2%	10.5%	0.04%	Okassa <i>et al.</i> 2011
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	0%	0%		Okassa <i>et al.</i> 2010
<i>Phytoseiulus macropilis</i>	0%	0%		Okassa <i>et al.</i> 2010
<i>Phytoseiulus longipes</i>	0.4%			Tixier <i>et al.</i> 2010a
<i>Neoseiulus idaeus</i>	1%	1%	1%	Tixier <i>et al.</i> 2011
<i>Neoseiulus californicus</i>	0%			Tixier <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus idaeus</i>	0%			Tixier <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus californicus</i>	0%		0%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus picanus</i>	0.10%		0.05%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>Amblyseius largoensis</i>	3%		0.16%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>Amblyseius herbicolus</i>	0%		0%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>Euseius citrifolius</i>			2%	Noronha <i>et al.</i> 2003
<i>Euseius concordis</i>			3%	Noronha <i>et al.</i> 2003
<i>Neoseiulus pusillicornis</i>			0%	Rezende <i>et al.</i> 2015
<i>Euseius nicholsi</i>			0.2%	Chao <i>et al.</i> 2012
<i>Neoseiulus californicus</i>	0%			Jeyaparakash & Hoy 2002
<i>Neoseiulus cucumeris</i>	0%			Jeyaparakash & Hoy 2002
<i>Neoseiulus fallacis</i>	0%			Jeyaparakash & Hoy 2002
<i>Iphiseius degenerans</i>	0%			Jeyaparakash & Hoy 2002
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	0%			Jeyaparakash & Hoy 2002
	Minimal interspecific distances			References
	12S	CytB	ITSS	
<i>T.(T.) exilaratus</i> / <i>T.(T.) phialatus</i>			2.8%	Tixier <i>et al.</i> 2006
<i>T.(T.) exilaratus</i> / <i>T.(T.) pyri</i>			5.4%	Tixier <i>et al.</i> 2006
<i>T.(T.) phialatus</i> / <i>T.(T.) pyri</i>			6.7%	Tixier <i>et al.</i> 2006
<i>T.(T.) exilaratus</i> / <i>T.(T.) phialatus</i>	13.9%	23.4%		Okassa <i>et al.</i> 2012
<i>Euseius gallicus</i> / <i>Euseius finlandicus</i>	16%			Okassa <i>et al.</i> 2009
<i>Euseius stipulatus</i> / <i>Euseius gallicus</i>	14%			Okassa <i>et al.</i> 2009
<i>Euseius stipulatus</i> / <i>Euseius finlandicus</i>	16%			Okassa <i>et al.</i> 2009
<i>Neoseiulella aceri</i> / <i>Neoseiulella tiliarum</i>	18%		5.9%	Kanoun <i>et al.</i> 2010b
<i>Neoseiulella aceri</i> / <i>Neoseiulella litoralis</i>	37%	47%	6%	Kanoun <i>et al.</i> 2010b
<i>Neoseiulella tiliarum</i> / <i>Neoseiulella litoralis</i>	41%		5.9%	Kanoun <i>et al.</i> 2010b
<i>Phytoseiulus macropilis</i> / <i>Phytoseiulus persimilis</i>	4%	15%		Okassa <i>et al.</i> 2010
<i>Phytoseiulus macropilis</i> / <i>Phytoseiulus fragariae</i>	13%	28%		Okassa <i>et al.</i> 2010
<i>Phytoseiulus fragariae</i> / <i>Phytoseiulus persimilis</i>	11%	24%		Okassa <i>et al.</i> 2010
<i>Phytoseiulus longipes</i> / <i>Phytoseiulus persimilis</i>	12%			Tixier <i>et al.</i> 2010
<i>Neoseiulus californicus</i> / <i>Neoseiulus idaeus</i>	16%	20%	4%	Tixier <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus californicus</i> / <i>Neoseiulus picanus</i>	12%	24%	4%	Okassa <i>et al.</i> 2011
<i>Neoseiulus idaeus</i> / <i>Neoseiulus californicus</i>	16%	20%	4%	Tixier <i>et al.</i> 2011
<i>Neoseiulus californicus</i> / <i>Neoseiulus idaeus</i>	12%			Tixier <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus californicus</i> / <i>Neoseiulus fallacis</i>	10%			Tixier <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus californicus</i> / <i>Neoseiulus picanus</i>	12%		4.17%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>Amblyseius largoensis</i> / <i>Amblyseius herbicolus</i>	23%		5.89%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>T.(T.) exilaratus</i> / <i>T.(T.) phialatus</i>	14%		4.75%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus californicus</i> / <i>Neoseiulus picanus</i>	12%		4.17%	Navia <i>et al.</i> 2014
<i>Neoseiulus californicus</i> / <i>Neoseiulus fallacis</i>	9.5%			Jeyaparakash & Hoy 2002
<i>Phytoseiulus finitimus</i> max values	9%	23%	2.8%	

TABLE 5: Morphological measurements of the characters considered (μm) (mean, Standard deviation in parentheses, min-max values) for the four populations considered (kiwi in Corsica, *Viburnum lantana* in Italy, vine in Italy and vine in Corsica) and significance of between-population comparison. rCL₉₅ values (%) and min-max interval modelled according to Tixier (2012). *StV*: macroseta lengths on the basitarsus of the leg IV.

	<i>Viburnum lantana</i> Italy (n=5)			<i>Vitis vinifera</i> Italy (n=5)			kiwi Corsica (n=10)			<i>Vitis vinifera</i> Corsica (n=10)			P value	Mean (min-max) for all populations	rCL ₉₅ (%) according to Tixier (2012)	min-max interval
	mean (SD)	min-max	mean (SD)	min-max	mean (SD)	min-max	mean (SD)	min-max	mean (SD)	min-max	mean (SD)	min-max				
<i>fl</i>	23 (3.35)	17-25	24 (1.37)	22-25	25 (1.42)	22-27	25 (0.79)	22-25	25 (0.79)	22-25	25 (0.79)	22-25	0.49	24 (17-27)	14	18-29
<i>β</i>	49 (1.12)	47-50	51.5 (3.79)	47-57	55 (3.07)	50-57	56 (1.29)	50-57	56 (1.29)	50-57	56 (1.29)	50-57	0.00005	54 (47-57)	13	45-63
<i>β</i>	30 (1.76)	7-12	9 (1.12)	7-10	10 (0.79)	10-12	10 (0.79)	10-12	10 (1.05)	10-12	10 (1.05)	10-12	0.44	10 (7-12)	22	7-13
<i>β</i>	10 (0)	10	8 (1.37)	7-10	10 (0)	10	10 (0)	10	10 (0)	10	10 (0)	10	0.00008	10 (7-12)	15	7-13
<i>β</i>	9 (1.12)	7-10	10 (1.77)	7-12	10 (0)	10	10 (0)	10	10 (0)	10	10 (0)	10	0.67	10 (7-12)	16	7-13
<i>l2</i>	11 (1.44)	10-12	12 (0)	12	13 (1.05)	13-15	13 (1.05)	13-15	13 (1.05)	13-15	13 (1.05)	13-15	0.025	13 (10-15)	19	9-16
<i>l5</i>	9 (1.44)	7-10	6 (1.44)	5-7	10 (0)	10	10 (0)	10	10 (0.79)	7-10	10 (0.79)	7-10	0.00001	9 (5-10)	33	6-12
<i>s4</i>	75 (5.30)	67-82	73 (6.22)	67-82	72 (3.98)	67-80	75 (1.67)	72-77	75 (1.67)	72-77	75 (1.67)	72-77	0.42	74 (67-82)	11	62-85
<i>s6</i>	81 (5.18)	75-87	88 (2.23)	87-92	89 (5.62)	75-95	94 (2.83)	90-100	94 (2.83)	90-100	94 (2.83)	90-100	0.00007	90 (75-100)	13	77-103
<i>s2</i>	10 (1.12)	10-12	10 (2.88)	7-12	14 (1.21)	12-15	12 (1.28)	10-15	12 (1.28)	10-15	12 (1.28)	10-15	0.00007	12 (7-15)	34	7-15
<i>s3</i>	30 (2.5)	27-32	28 (2.09)	25-30	33 (2.11)	30-37	34 (2.05)	32-37	34 (2.05)	32-37	34 (2.05)	32-37	0.00003	32 (25-37)	19	25-38
<i>s4</i>	12 (2.09)	10-15	13 (2.23)	10-15	17 (1.18)	15-20	15 (1.38)	12-17	15 (1.38)	12-17	15 (1.38)	12-17	0.00001	15 (10-20)	33	11-19
<i>s5</i>	9 (1.37)	7-10	10 (0)	10	12 (1.05)	10-12	10 (0.79)	10-12	10 (0.79)	10-12	10 (0.79)	10-12	0.00001	11 (7-10)	26	8-14
<i>Z4</i>	53 (2.74)	50-55	51 (4.78)	45-55	59 (3.29)	52-62	61 (5.65)	52-65	61 (5.65)	52-65	61 (5.65)	52-65	0.0015	58 (45-65)	19	48-68
<i>Z5</i>	84 (5.97)	75-90	86 (5.18)	80-92	83 (5.83)	70-87	84 (4.11)	77-87	84 (4.11)	77-87	84 (4.11)	77-87	0.63	84 (75-92)	12	71-96
<i>s3</i>	43 (7.15)	37-55	42 (4.67)	37-47	51 (1.29)	50-52	49 (1.05)	47-50	49 (1.05)	47-50	49 (1.05)	47-50	0.00005	48 (37-55)	21	38-56
<i>R1</i>	16 (3.35)	15-22	21 (2.39)	17-22	23 (1.69)	20-25	23 (1.21)	22-25	23 (1.21)	22-25	23 (1.21)	22-25	0.00007	22 (15-25)	29	17-27
<i>stV</i>	33 (3.25)	30-37	32 (5.77)	27-37	36 (2.41)	32-37	36 (2.12)	32-37	36 (2.12)	32-37	36 (2.12)	32-37	0.083	35 (27-37)	18	28-42
<i>RV5</i>	55 (6.22)	50-65	56 (6.98)	47-62	54 (1.21)	52-55	55 (0.79)	52-55	55 (0.79)	52-55	55 (0.79)	52-55	0.83	55 (47-65)	13	46-64

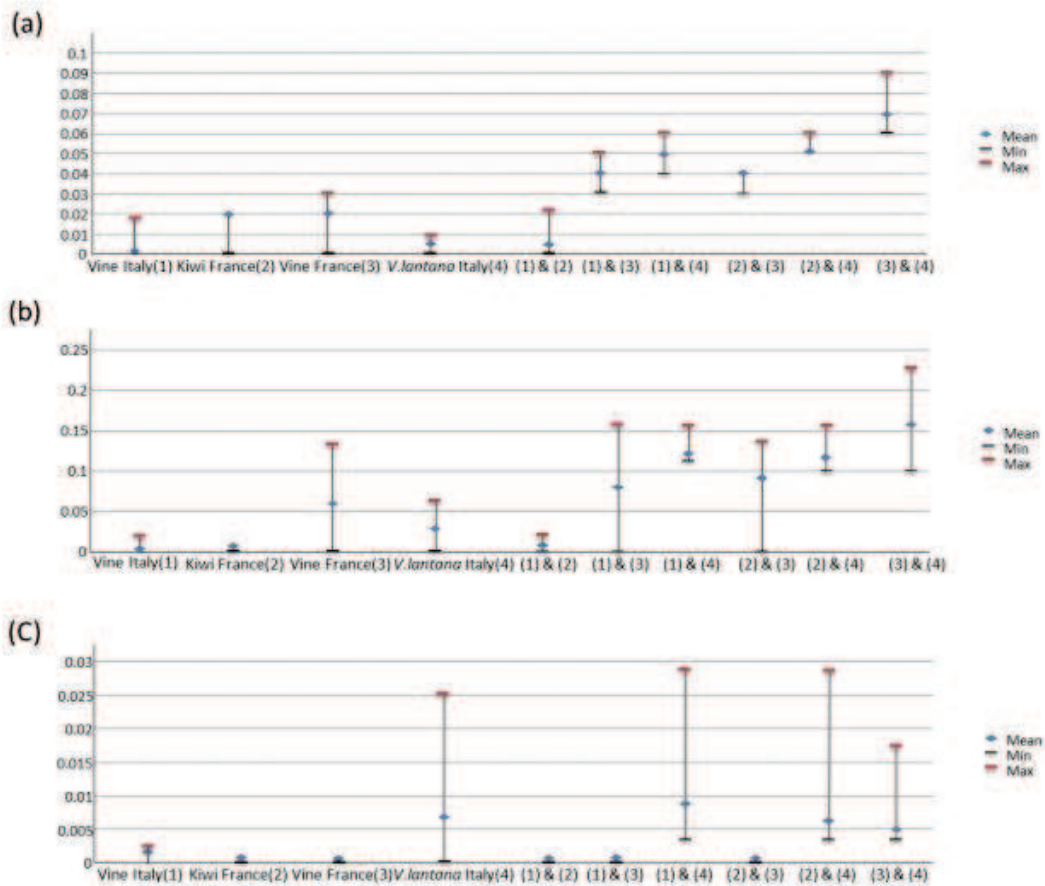


FIGURE 6: K2P genetic distances within and between the four populations of *Phytoseius finitimus* considered for the three molecular markers used (a) 12S rRNA, (b) Cytb mtDNA and (c) ITSS.

Morphological analyses.

Some statistical differences are observed for twelve continuous characters (Table 5). However, the statistical groups show that measurements of specimens from *V. lantana* are usually not different from specimens from the other three populations. The most frequent significant differences are observed between specimens from Corsica (vine and kiwi) and from Italy (vine and *V. lantana*). On the two axes of the multifactorial analysis explaining 47 % of the variation (Figure 7), specimens collected on *V. lantana* are close to those collected on vine-

Italy, these two populations being quite well separated from the specimens collected in Corsica, both on vine and kiwi. The variation within and between populations from Italy is lower than that observed within and between populations from Corsica. Mean differences in seta length even if statically significant are however usually low. The most important difference is observed in *s6* length, this setae being significantly shorter for specimens collected on *V. lantana* (mean = 81 μm) than for specimens of the three other populations (88, 89, and 94 μm for mites collected on vine in Italy, on kiwi in Corsica and on vine in Corsica, respectively).

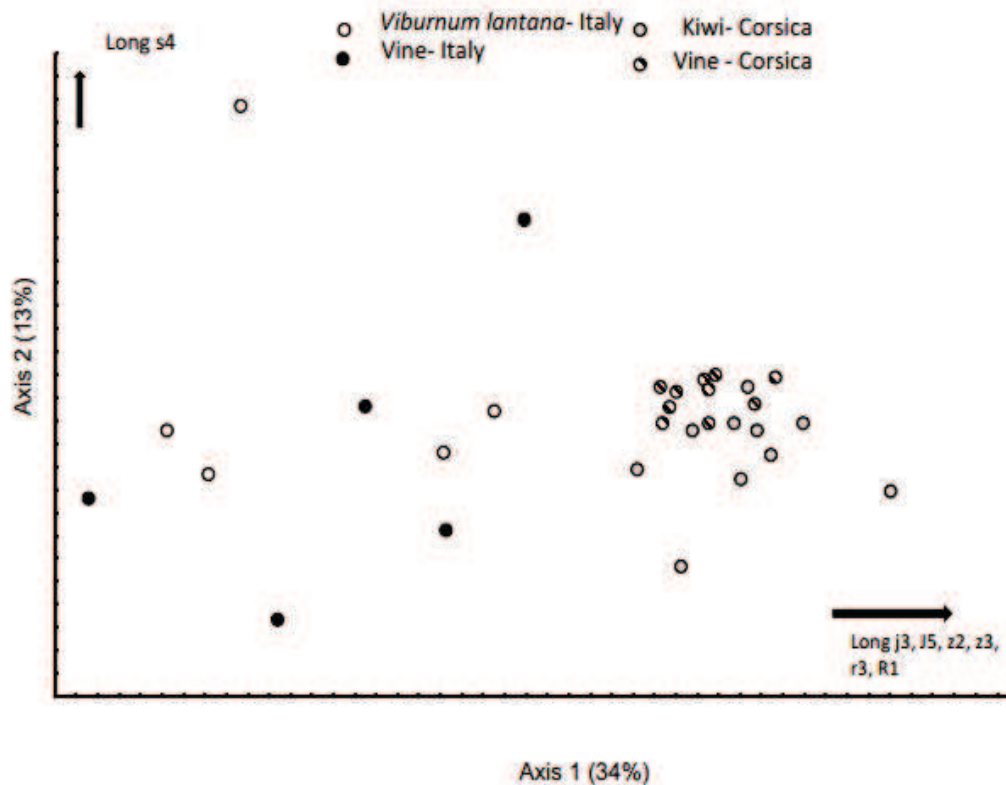


FIGURE 7: Scatter plots (PCA analysis) of the first two axes for seventeen morphological characters of specimens collected on kiwi in Corsica, *Viburnum lantana* in Italy, vine in Italy and vine in Corsica.

However the absolute value between these seta lengths, ranging between 7 and 13 μm , is according to the modelling of intraspecific seta length range proposed by Tixier (2012, 2013) included in intraspecific variation (Table 4). The $r\text{CL}_{95}$ calculated according to Tixier (2012) shows that most setae have a variation around the mean lower than 20 %, except for the smallest setae. This result is in accordance with results of Tixier (2012) when modelling the intraspecific variation rate around the mean for setae length of Phytoseiidae dorsal shield. These modelled variation intervals around the means (Tixier 2012) include the variation range of specimens herein studied for all seta considered.

Furthermore observations of shapes of spermatheca (Figure 8) as well as ventrianal shield

chaetotaxy and shape and peritremal extremity (reaching $z2$) do not reveal differences between the populations considered.

DISCUSSION

This study shows (i) the difficulty in interpreting DNA variation for species diagnosis and (ii) the necessity of an integrative taxonomic approach. Clear conclusion can be proposed for two clades (clades I and II) among the three observed on the mitochondrial DNA trees. Because (i) these two clades were not separated using the nuclear ITSS markers, (ii) distance overlap was observed for all markers (nuclear and mitochondrial) between intra and inter-population distances, (iii) these populations belong to a same group with the ABGD method

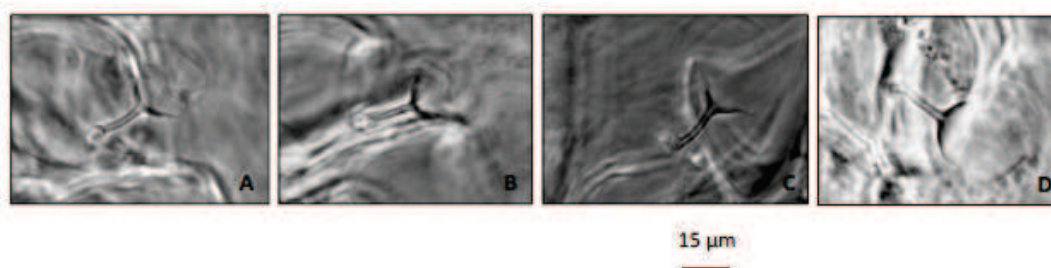


FIGURE 8: Spermatheca of the four populations of *Phytoseius finitimus*: A - kiwi-Corsica; B - *Viburnum lantana*-Italy; C - vine-Italy; D - vine-Corsica.

(using P distance), one specimen of vine-Corsica is included in the clade containing specimens from vine-Italy and kiwi-Corsica and (iv) the higher inter-population distances were much lower than the already observed ones between two species of the same genus, the convergent decision was that these two clades belong to the same species. However, for the status of the third clade containing specimens collected on *V. lantana*, the decision was more difficult. Because of (i) the well-separated clade including those specimens with both mitochondrial and nuclear markers, (ii) the high distances between those specimens and specimens from the three other populations, (iii) no clear overlap between sequences of these two groups for the 12S rRNA fragment and (iv) results obtained based on mtDNA fragments with the ABGD approach, two hypotheses could be proposed: (i) specimens of the four populations considered belong to a same species characterised by high molecular polymorphisms, or (ii) specimens from *V. lantana* belong to a species very close to the specimens of the three other populations. The final decision was made based on the observation of morphological characters. No difference between seta lengths of the four populations is observed, suggesting that they belong to the same species.

According to the markers and analytic concepts considered, diagnosis conclusion can be different and decision hard to dress.

Molecular markers and pitfalls.

Mitochondrial markers showed much more variation than was observed with the nuclear marker.

ITSS and mitochondrial markers provide thus different information; it is not possible based only on trees to give a clear decision on the state of clades obtained (different species or populations). Such a result was observed for other Phytoseiidae species for example indicating possible cryptic species within *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) *pyri* Scheuten, *Neoseiulella aceri* and *Neoseiulus californicus* (Kanounh *et al.* 2010a; Okassa *et al.* 2011; Tixier *et al.* 2012) as well for other groups of mites in Mesostigmata (Roy *et al.* 2010), Ixodidae (Leo *et al.* 2010); Hydrachnidia (Stalstedt *et al.* 2013), Oribatida (Rosenberger *et al.* 2013; Kreipe *et al.* 2015), Tetranychidae (Navajas and Boursot 2003; Ros *et al.* 2008), Eriophyidae (Skoracka and Dabert 2010), especially for the COI mtDNA marker.

Such mitochondrial polymorphism can be due to the nature of molecule evolution (*i.e.* mtDNA is more sensitive to population bottlenecks, the absence of recombination in mtDNA) and to ecological features (*i.e.* dispersal, fecundity) that lead to population separations. Furthermore, Phytoseiidae mites are haplodiploid. Even if there are few studies on the impact of such features on mtDNA variation outside of Hymenoptera, Lohse and Ross (2015) suggest that this characteristic can imply a higher introgressions for mitochondrial compared to nuclear markers; they report current incongruence between nuclear and mitochondrial trees in haplodiploid organisms, including spiders.

As a consequence, some artificial groups can be obtained, underlying the necessity to use an integrative taxonomical approach, combining morpho-

logical and molecular characters as well as different DNA fragments and associated conceptual analyses (*i.e.* Dayrat 2005).

Which analytic methods to use?

This study first stresses the difficulty in interpreting phylogenetic trees. The same clades were obtained for the three algorithms used (Neighbour-Joining, Parsimony and Bayesian analyses), suggesting that at low taxonomic level the Neighbour-Joining tree provides the same clustering as the other model-based analyses (Holder and Lewis 2003; Yang and Rannala 2012). In addition the concatenated analysis of the three DNA markers does not provide a clearer answer as the same clusters were obtained as those with the two mitochondrial markers. The concatenated tree thus can hide some information as the signal obtained clearly depends on the resolution level of each DNA marker considered.

This study also stresses the necessity of having clear distance references for comparison. The ABGD aims to construct its own rules based on a data set (without *a priori* hypothesis on taxon status) (Puillandre *et al.* 2012a). This method overcomes common threshold applications, reported to be variable according to taxa considered (*i.e.* Collins and Cruickshank 2013). For the present dataset, more than one species are emphasized using the two mitochondrial markers. Four and five groups are even observed using the JC69 and K80 distances, suggesting (i) the high sensitivity of this clustering method and (ii) the impact of the number of sequences analysed (Puillandre *et al.* 2012b). Furthermore, even with the ABGD analysis based on P distance, the specimens from *V. lantana* were always assumed to belong to a different species. However using the ITSS marker, the results converge with other analyses, especially morphology suggesting that all specimens belong to a same species. The number of populations and sequences were quite low which can lead to artificial groups significantly detected by ABGD approach (Lhose 2009; Puillandre *et al.* 2012b). To our knowledge, this latter method has never been applied for the markers 12S rRNA, CytB mtDNA and only one time for ITS2 (Schwarzfeld and Sperling 2015); it has been essentially used for

the traditional barcode fragment (COI mtDNA) and in some rare cases for 16S rRNA (*i.e.* Puillandre *et al.* 2012b; Jörger *et al.* 2012; Guarnizo *et al.* 2015; Han *et al.* 2016). Results herein obtained can be due to the fact that other DNA fragments were considered and prior parameters not adapted. Furthermore, it was also carried out only once on mites, on feather mites using COI (Doña *et al.* 2015) making conclusions of ABGD relevance for mite species delimitation difficult.

This study contributes to the characterization of decision rules for molecular diagnoses within Phytoseiidae and more generally speaking within mites. It is the first time that molecular variation of a species of the subfamily Phytoseiinae is studied. Its variation is higher than already observed within species of the other two subfamilies (Typhlodrominae and Amblyseinae). Testing additional species of the sub-family Phytoseiinae would be interesting for understanding how subfamily and associated biological/ecological features can impact intraspecific variations (*i.e.* low dispersal, small population size). The present genetic distances are the highest ever observed within a Phytoseiidae species. Yet, it seems that genetic distances higher than 9 %, 23 % and 2.8 % would correspond to interspecific distances for the markers 12S rRNA, CytB mtDNA and ITSS, respectively. Those results are quite difficult to compare with those obtained for other groups, as the threshold can be different according to taxonomic entities (*i.e.* Collins and Cruickshank 2013). Furthermore, CytB mtDNA and 12S rRNA markers have been rarely used for species diagnosis within other mite groups. A recent study on ticks using the 12S rRNA markers proposes a minimal interspecific distance of 13.2% and an average intraspecific distance of 1.8%; no data is provided on maximal intraspecific distance (Lv *et al.* 2014).

These simple comparisons need to be completed with statistical analyses to determine the validity (and associated error) of a barcoding decision depending on the distance obtained between two sequences and to their proximity with the lower limit of intraspecific variation. Furthermore, when comparing with literature, these rules seem to be different depending on the genus as minimal genetic dis-

tance of 4 % for the 12S rRNA is observed between two close species (*P. persimilis* and *P. macropilis*). However, in this latter case, it is worthwhile to test if: (i) this low intraspecific distance is due to particular biological features of species of the atypical genus *Phytoseiulus* within Phytoseiidae, or (ii) *P. macropilis* and *P. persimilis* are synonyms and a 12S rRNA distance of 4 % would correspond to an intraspecific value, as for all the Phytoseiidae species tested until now.

Implications for biological control?

Finally, for biological control matters, further experiments should be planned to determine whether the present mitochondrial clades show different behaviour and biological features. Tixier *et al.* (2010a) observed that mitochondrial clades within the species *Phytoseiulus longipes* Evans were associated with different feeding abilities (prey preferences). The closest populations with molecular markers correspond to specimens collected in cultivated areas (vine-Italy and -Corsica and kiwi-Corsica) but in geographically distinct areas. The well-differentiated population was collected from uncultivated plants (*V. lantana*) nearby the vine-Italy plot. It is interesting to note that morphological analyses do not show the same similarities, as morphological similarity seems more associated with geographical distances than with plants and cultivated situation. Further investigations would be to determine how selection pressures associated with agricultural practices are linked to such a differentiation for assessing the consequences on colonisation of specimens of *P. finitimus* dispersing from uncultivated vegetation towards crops.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the three anonymous reviewers and their valuable comments that allow article improvement. We also thank Andrea Baldassar an Italian Master student that worked on this project.

REFERENCES

- Ahmad S., Pozzebon A., Duso, C. 2015 — Predation on heterospecific larvae by adult females of *Kampimodromus aberrans*, *Amblyseius andersoni*, *Typhlodromus pyri* and *Phytoseius finitimus* (Acari: Phytoseiidae) — *Exp. Appl. Acarol.*, 67: 1–20.
- Bickford D., Lohman D.J., Sohdi N.S., Ng P.K., Meier R., Winker K., Ingram K.K., Das I. 2007 — Cryptic species as a window on diversity and conservation — *Trend. Ecol. Evol.* 22(3): 148–155.
- Bowman H.M., Hoy M.A. 2012 — Molecular discrimination of phytoseiids associated with the red palm mite *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) from Mauritius and South Florida — *Exp. Appl. Acarol.* 57(3–4): 395–407. doi:10.1007/s10493-012-9549-6
- Chant D.A., McMurtry J.A. 2007 — Illustrated keys and diagnoses for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world (Acari: Mesostigmata) — West Bloomfield, MI: Indira Publishing House, 220 pp.
- Chao Y., YuanXi L., XianMing Y., JingTao S., XueNong X., XiaoYue H. 2012 — Genetic variation among natural populations of *Euseius nicholsi* (Acari: Phytoseiidae) from China detected using mitochondrial *cox1* and nuclear rDNA ITS sequences — *Syst. Appl. Acarol.* 17(2): 171–181.
- Collins R.A., Cruickshank R.H. 2013 — The seven deadly sins of DNA barcoding — *Mol. Ecol. Resources* 13 (6): 969–975.
- Cunningham C.W. 1997 — Can three incongruence tests predict when data should be combined? — *Mol. Biol. Evol.* 14: 733–740. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a025813
- Dayrat B. 2005 — Towards integrative taxonomy — *Biol. J. Linn. Soc.* 85: 407–415. doi:10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x
- Demite P.R., Moraes G.J. de, McMurtry J.A., Denmark H.A., Castilho R. C. 2016 — Phytoseiidae Database — Available from: www.lea.esalq.usp.br/phytoseiidae (accessed 04/11/2016)
- DeSalle R., Egan M.G., Siddall M. 2005 — The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding — *Philos. Trans. R. Soc. B-Biol. Sci.* 360: 1905–1916.
- Do-a J., Diaz-Real J., Mironov S., Bazaga P., Serrano D., Jovani R. 2015 — DNA barcoding and minibarcoding as a powerful tool for feather mite studies — *Mol. Ecol. Res.* 15(5): 1216–25. doi:10.1111/1755-0998.12384
- Duso C., Vettorazzo E. 1999 — Mite population dynamics on different grape varieties with or without phytoseiids released (Acari: Phytoseiidae) — *Exp. Appl. Acarol.* 23: 741–763. doi:10.1023/A:1006297225577
- Duso C., Fontana P. 2002 — On the identity of *Phytoseius plumifer* (Canestrini & Fanzago, 1876) (Acari: Phytoseiidae) — *Acarologia* 42: 127–136.
- Drummond A.J., Ashton B., Cheung M., Heled J., Kearse M., Moir R., Stones-Havas S., Thierer T., Wilson A. 2007 — Geneious v3.5. Available from <http://www.geneious.com/>. Accessed July 2016.

- Farris J.S. 1969 — A successive approximations approach to character weighting — *Syst. Zool.* 18: 374-385. doi:10.2307/2412182
- Farris J.S. 1989 — The retention index and the rescaled consistency index — *Cladistics* 5: 417-419.
- Farris J.S., Källersjö M., Kluge A.G., Bult C. 1994 — Testing significance of incongruence — *Cladistics* 10: 315-319.
- Footitt R.G., Maw H.E.L., Havill N.P., Ahern R.G., Montgomery M.E. 2009 — DNA barcodes to identify species and explore diversity in the Adelgidae (Insecta: Hemiptera: Aphidoidea) — *Mol. Ecol. Resources* 9: 188-195. doi:10.1111/j.1755-0998.2009.02644.x
- Gerson U., Smiley R.L., Ochoa T. 2003 — Mites (Acari) for pest control — Blackwell Science, Oxford, United Kingdom. 539 pp.
- Goldstein P.Z., DeSalle R. 2011 — Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: determination, discovery, and description — *Bioessays* 33: 135-147.
- Guarnizo C.E., Paz A., Muñoz-Ortiz A., Flechas S.V., Mendez-Narvaez J., Crawford A.J. 2015 — Barcoding survey of Anurans across the Eastern Cordillera of Colombia and the impact of the Andes on cryptic diversity — *PLoS One* 10(5): e0127312. doi:10.1371/journal.pone.0127312
- Han T., Lee W., Lee S., Park G., Park H. 2016 — Reassessment of species diversity of the subfamily Denticollinae (Coleoptera: Elateridae) through DNA Barcoding — *PLoS One* 11(2): e0148602. doi:10.1371/journal.pone.0148602
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., DeWaard J.R. 2003a — Biological identifications through DNA barcodes — *Proc. R. Soc. London Ser. B-Biol. Sci.* 270: 313-321.
- Hebert P.D.N., Ratnasingham S., deWaard J.R. 2003b — Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species — *Proc. R. Soc. London Ser. B-Biol. Sci.* 270: S96-S99.
- Hebert P.D.N., Penton E.H., Burns J.M., Janzen D.H., Hallwachs W. 2004a — Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator* — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101: 14812-14817. doi:10.1073/pnas.0406166101
- Hebert P.D.N., Stoeckle M.Y., Zemlak T.S., Francis C.M. 2004b — Identification of birds through DNA barcodes — *Plos Biology* 2: 1657-1663. doi:10.1371/journal.pbio.0020312
- Holder M., Lewis P.O. 2003 — Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches — *Nature reviews genetics* 4: 275-284.
- Jeyapragash A., Hoy M.A. 2002 — Mitochondrial 12S rRNA sequences used to design a molecular ladder assay to identify six commercially available phytoseiids (Acari: Phytoseiidae) — *Biol. Contr.* 25: 136-142. doi:10.1016/S1049-9644(02)00056-7
- Jørgen K.M., Norenburg J.L., Wilson N.G., Schrödl M. 2012 — Barcoding against a paradox? Combined molecular species delineations reveal multiple cryptic lineages in elusive meiofaunal sea slugs — *BMC Evolution. Biol.* 12: 245.
- Kanouh M., Tixier M.-S., Guichou S., Cheval B., Kreiter S. 2010a — Two synonymy cases within the genus *Neoseiudella* (Acari: Phytoseiidae): is the molecular evidence so evident? *Biol. J. Linn. Soc.* 101: 323-344.
- Kanouh M., Tixier M.-S., Okassa M., Kreiter S. 2010b — Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae) — *Zool. Scr.* 39: 450-461.
- Kekkonen M., Hebert P.D.N. 2014 — DNA barcode-based delineation of putative species: Efficient start for taxonomic workflows — *Mol. Ecol. Resources* 14: 706-715. doi:10.1111/1755-0998.12233
- Kekkonen M., Mutanen M., Kaila L., Nieminen M., Hebert P.D.N. 2015 — Delineating species with DNA Barcodes: A case of taxon dependent method performance in moths — *PLoS One* 10(4): e0122481. doi:10.1371/journal.pone.0122481
- Kreipe V., Corral-Hernandez E., Scheu S., Schaefer I., Maraun M. 2015 — Phylogeny and species delineation in European species of the genus *Steganacarus* (Acari, Oribatida) using mitochondrial and nuclear markers — *Exp. Appl. Acarol.* 66(2): 173-86.
- Kreiter S., Tixier M.-S., Auger P., Muckenstrum N., Sentenac G., Doublet B., Weber M. 2000 — Phytoseiid mites of vineyards in France — *Acarologia* 41: 75-94.
- Leo S. S., Pybus M.J., Sperling F.A.H. 2010 — Deep mitochondrial DNA lineage divergences within Alberta populations of *Dermacentor albipictus* (Acari: Ixodidae) do not indicate distinct species — *J Med. Entomol.* 47: 565-574. doi:10.1093/jmedent/47.4.565
- Lindquist E.E., Evans G.W. 1965 — Taxonomic concepts in the Ascidae, with a modified setal nomenclature for the idiosoma of the Gamasina (Acarina: Mesostigmata) — *Mem. Entomol. Soc. Canada* 47: 1-64. doi:10.4039/entm9747fv
- Lohse K. 2009 — Can mtDNA barcodes be used to delimit species? A response to Pons et al. (2006) — *Syst. Biol.* 58: 439-442. doi:10.1093/sysbio/syp039
- Lohse K., Ross L. 2015 — What haplodiploids can teach us about hybridization and speciation — *Mol. Ecol.* 24: 5075-5077. doi:10.1111/mec.13393
- McMurtry J.A., Croft B.A. 1997 — Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control — *Ann. Rev. Entomol.* 42: 291-321.
- McMurtry J.A., Moraes G.J. de, Sourasso N.F. 2013 — Revision of the life styles of phytoseiid mites (Acari:

- Phytoseiidae) and implications for biological control strategies — *Syst. Appl. Acarol.* 18: 297–320.
- Meyer, C.P. & Paulay, G. (2005). DNA Barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology* 3(12): e422. doi:10.1371/journal.pbio.0030422
- Mickevich M.F., Farris F.J. 1981 — The implications of congruence in *Menidia* — *Syst. Zool.* 30: 351–369. doi:10.2307/2413255
- Mi-arro M., Kreiter S. 2012 — Fitoseidos em los vi-edos de la denominación Vino de Calidad de Cangas (Asturias) — *Bol. San. Veg. Plagas* 38: 73–82.
- Moritz C., Cicero C. 2004 — DNA barcoding: promise and pitfalls — *PLoS Biology*, 2 (10): e354–10.1371.
- Navajas M., Boursot P. 2003 — Nuclear ribosomal DNA monophyly versus mitochondrial DNA polyphyly in two closely related mite species: the influence of life history and molecular drive — *Proc. Royal Soc. London B: Biol. Sci.*, 270 (Suppl 1) : S124–S127. doi:10.1098/rsbl.2003.0034
- Navia D., Domingos C.A., Mendonça R.S., Ferragut F., Rodrigues M.A.N., de Moraes E.G.F., Tixier M.-S., Gondim Jr. M.G.C. 2014 — Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean islands and the Americas — *Biol. Contr.* 72: 17–29.
- Noronha A.C.S., Mota A., Moraes G.J., Coutinho L.L. 2003 — Molecular characterization of mite populations of *Euseius citrifolius* Denmark & Muma and *Euseius concordis* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) using sequences of the ITS1 and ITS2 regions — *Neotrop. Entomol.* 32: 591–596.
- Okassa M., Kreiter S., Guichou S., Tixier M.-S. 2011 — Molecular and morphological boundaries of the predator *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) — *Biol. J. Linn. Soc.* 104: 393–406.
- Okassa M., Kreiter S., Tixier M.-S. 2012 — Molecular identification of all life stages of a mite species (Mesostigmata: Phytoseiidae): *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) *exhilaratus* — *Exp. Appl. Acarol.* 57: 105–116.
- Okassa M., Tixier M.-S., Cheval B., Kreiter S. 2009 — Molecular and morphological evidence for new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae) — *Can. J. Zool.* 87: 689–698.
- Okassa M., Tixier M.-S., Kreiter S. 2010 — Morphological and molecular diagnostics of *Phytoseiulus persimilis* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) — *Exp. Appl. Acarol.* 52(3): 291–303.
- Pappas M.L., Xanthis C., Samaras K., Koveos D.S., Broufas G.D. 2013 — Potential of the predatory mite *Phytoseius finitimus* (Acari: Phytoseiidae) to feed and reproduce on greenhouse pests — *Exp. Appl. Acarol.* 61(4): 387–401.
- Pauls S.U., Blahnik R.J., Zhou X., Wardwell C.T., Holzenthal R.W. 2010 — DNA barcode data confirm new species and reveal cryptic diversity in Chilean Smicridea (Smicridea) (Trichoptera: Hydropsychidae) — *J. North Am. Benthol. Soc.* 29: 1058–1074. doi:10.1899/09-108.1
- Peverieri G.S., Simoni S., Goggioli D., Liguori M., Castagnoli M. 2009 — Effects of variety and management practices on mite species diversity in Italian vineyards — *Bull. Insect.* 62(1): 53–60.
- Pons J., Barraclough T.G., Gomez-Zurita J., Cardoso A., Duran D.P., Hazell S., Kamoun S., Sumlin W.D., Vogler A. 2006 — Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects — *Syst. Biol.* 55(4): 595–609.
- Puillandre N., Modica M.V., Zhang Y., Sirovich L., Boisselier M.-C., Cruaud C., Holford M., Samadi S. 2012b — Large-scale species delimitation method for hyper-diverse groups — *Mol. Ecol.* 21(11): 2671–91. doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05559.x
- Ragusa S., Ciulla A.M. 1991 — Phytoseiid mites associated with vines in Sicilian vineyards — In: The acari. Reproduction, development and life-history strategies (R. Schuster and P.W. Murphy Eds.), Chapman and Hall, pp. 417–423. doi:10.1007/978-94-011-3102-5_42
- Rezende D., Navia D., Mendonça R.S., Melo J.W.S., Gondim M.G.C. 2015 — The predatory mite *Neoseiulus paspalivorus* (Phytoseiidae) in Brazil: taxonomic status, reproductive compatibility and morphological and molecular variability — *Exp. Appl. Acarol.* 67: 547–564.
- Robinson E.A., Blagoev G.A., Hebert P.D.N., Adamowicz S.J. 2009 — Prospects for using DNA barcoding to identify spiders in species-rich genera — *ZooKeys* 16: 27–46.
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. 2003 — MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models — *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Ros V.I.D., V J.A.J., Menken S.B.J. 2008 — Origins of asexuality in Bryobia mites (Acari: Tetranychidae) — *BMC Evolutionary Biology* 8: 153. doi:10.1186/1471-2148-8-153
- Rosenberger M., Maraun M., Scheu S., Schaefer I. 2013 — Pre- and post-glacial diversifications shape genetic complexity of soil-living microarthropod species — *Pedobiologia Int. J. Soil Biol.* 56: 79–87.
- Rowell H.J., Chant D.A., Hansell R.L.C. 1978 — The determination of setal homologies and setal patterns on the dorsal shield in the family Phytoseiidae (Acarina: Mesostigmata) — *Can. Entomol.* 110: 859–876.
- Roy L., Dowling A.P.G., Chauve C.-M., Buronfosse T. 2010 — Diversity of phylogenetic information according to the locus and the taxonomic level: An example

- from a parasitic mesostigmatid mite genus — *Int. J. Mol. Sci.* 11 : 1704-1734. doi:10.3390/ijms11041704
- Schwarzfeld M.D., Sperling F.A. 2015 — Comparison of five methods for delimitating species in *Ophion* Fabricius, a diverse genus of parasitoid wasps (Hymenoptera, Ichneumonidae) — *Mol. Phylogenet. Evol.* 93: 234-248. doi:10.1016/j.ympev.2015.08.003
- Skoracka, A., Dabert M. 2010 — The cereal rust mite *Abacarus hystrix* (Acari: Eriophyoidea) is a complex of species: evidence from mitochondrial and nuclear DNA sequences — *Bull. Entomol. Res.* 100: 263-272. doi:10.1017/S0007485309990216
- Stalstedt J., Bergsten J., Ronquist F. 2013 — « Forms » of water mites (Acari: Hydrachnidia): intraspecific variation or valid species? — *Ecol. Evol.* 10: 3415-3435. doi:10.1002/ece3.704
- StatSoft France 2010 — STATISTICA (logiciel d'analyse des données), version 9.1. <http://www.statsoft.fr>.
- Sullivan J. 1996 — Combining data with different distributions of among-site variation — *Syst. Biol.* 45: 375-380. doi:10.1093/sysbio/45.3.375
- Swofford D.L. 2002 — PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony and other methods. Ver. 4.0b.10. — Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. 2013 — MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods — *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- Tixier M.-S. 2012 — Approaches to assess intraspecific variations of morphological continuous characters: the case study of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) — *Cladistics* 28(5): 489-502.
- Tixier M.-S. 2013 — Statistical approaches to assess interspecific differences for morphological continuous characters: the case study of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Zool. Scr.* 42(3): 327-334.
- Tixier M.-S., Ferrero M., Okassa M., Guichou S., Kreiter S. 2010a — Morphological and molecular analyses of four populations of *Phytoseiulus longipes* (Mesostigmata: Phytoseiidae) in accordance with their feeding behaviour — *Bull. Entomol. Res.* 100(5): 569-579. doi:10.1017/S0007485309990617
- Tixier M.-S., Kreiter S., Barbar Z., Ragusa S., Cheval B. 2006 — The status of two cryptic species: *Typhlodromus exilaratus* Ragusa and *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae): consequences for taxonomy — *Zool. Scr.* 35: 115-122. doi:10.1111/j.1463-6409.2006.00222.x
- Tixier M.-S., Kreiter S., Croft B.A., Cheval B. 2008a — *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) from USA: morphological and molecular assessment of its identity — *Bull. Entomol. Res.* 98: 125-134.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Moraes G.J. 2008b — Biogeographic distribution of the mites of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) — *Biol. J. Linn. Soc.* 93: 845-856.
- Tixier M.-S., Okassa M., Liguori M., Poinso A., Salerno B., Kreiter S. 2010b — Voucher specimens for DNA sequences of Phytoseiid mites (Acari: Mesostigmata) — *Acarologia* 50(4): 487-494. doi:10.1051/acarologia/20101984
- Tixier M.-S., Okassa M., Kreiter S. 2012 — An integrative morphological and molecular diagnostics for *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) — *Zool. Scr.* 41: 68-78.
- Tixier M.-S., Otto J., Kreiter S., Vicente V., Beard J. 2014 — Is *Neoseiulus wearnei* the *Neoseiulus californicus* of Australia? — *Exp. Appl. Acarol.* 62: 267-277.
- Tixier M.-S., Hernandez-Akashi E., Guichou S., Kreiter S. (2011a) — The puzzle of DNA sequences of Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) in the public Genbank database — *Inv. Syst.* 25: 389-406.
- Tixier M.-S., Tsolakis H., Ragusa S., Poinso A., Ferrero M., Okassa M., Kreiter S. 2011b — An integrative taxonomical approach demonstrates the synonymy between *Cydnodromus idaeus* and *C. picanus* (Acari: Phytoseiidae) — *Inv. Syst.* 25: 273-281.
- Tsolakis H., Tixier M.-S., Kreiter S., Ragusa S. 2012 — The genus concept within the family Phytoseiidae (Acari: Parasitiformes). Historical review and phylogenetic analyses of the genus *Neoseiulus* Hughes — *Zool. J. Linn. Soc.* 165: 253-273.
- Valentini A., Pompanon F., Taberlet P. 2009 — DNA barcoding for ecologists — *Trend. Ecol. Evol.* 24: 110-117. doi:10.1016/j.tree.2008.09.011
- Wiemers M., Fiedler K. 2007 — Does the DNA barcoding gap exist? A case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae) — *Front. Zool.* 4: 1-16.
- Wiens J.J. 1998a — Combining data sets with different phylogenetic histories — *Syst. Biol.* 47: 568-581. doi:10.1080/106351598260581
- Wiens J.J. 1998b — Does adding characters with missing data increase or decrease phylogenetic accuracy? — *Syst. Biol.* 47: 625-640. doi:10.1080/106351598260635
- Wiens J.J., Fetzner J.W., Parkinson C.L., Reeder T.W. 2005 — Hyliid frog phylogeny and sampling strategies for speciose clades — *Syst. Biol.* 54: 719-748. doi:10.1080/10635150500234625
- Witt J.D.S., Threlloff D.L., Hebert P.D.N. 2006 — DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: implications for desert spring conservation — *Mol. Ecol.* 15: 3073-3082. doi:10.1111/j.1365-294X.2006.02999.x

COPYRIGHT

Yang Z., Rannala B. 2012 — Molecular phylogenetics: principles and practice — *Nature reviews genetics* 13: 303–314.

Zheng Y., Wiens J.J. 2016 — Combining phylogenomic and supermatrix approaches, and a time-calibrated phylogeny for squamate reptiles (lizards and snakes) based on 52 genes and 4,162 species — *Mol. Phylogenet. Evol.* 94 : 537–547.
[doi:10.1016/j.ympev.2015.10.009](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.10.009)

 Tixier M.-S. *et al.* Acarologia is under free license. This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

CHAPITRE IV : SYSTÉMATIQUE DES PHYTOSEIIDAE : ÉTUDE DES RELATIONS PHYLOGÉNÉTIQUES ET IDENTIFICATION DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES PERTINENTS

4.1. Problématique

Utiliser les marqueurs moléculaires correspondant à un bon niveau de discrimination des entités taxonomiques étudiées est essentiel (Cruickshank, 2002 ; Dabert, 2006). Les marqueurs essentiellement utilisés jusqu'alors pour la famille des Phytoseiidae sont trois marqueurs mitochondriaux (COI ADN mt, CytB ADN mt, 12S ARNr) et un marqueur nucléaire (ITSS). Les séquences de ces marqueurs ont des taux de substitution nucléotidique assez élevés qui justifient leur utilisation pour étudier les niveaux taxonomiques inférieurs : espèces d'un même genre ou genres proches (Kanouh *et al.*, 2010a, b ; Okassa *et al.*, 2010 ; Tsolakis *et al.*, 2012). Pour l'étude de rangs taxonomiques supérieurs, les valeurs de bootstrap obtenus sont faibles et les clades observés non soutenus. La mise au point d'autres marqueurs moléculaires est donc nécessaire afin de caractériser les nœuds taxonomiques plus profonds et répondre aux interrogations quant à la validité de la classification des Phytoseiidae tant au niveau des genres, des tribus et des sous-familles actuellement définis sur la base de comparaisons morphologiques non cladistiques.

4.2. Les défis à relever

- *Des défis méthodologiques :*

Comme de tels marqueurs moléculaires n'ont jamais été étudiés pour les Phytoseiidae, la première étape est de déterminer quels sont les marqueurs moléculaires utilisés pour caractériser les relations supra-spécifiques pour d'autres groupes d'acariens, et si de tels marqueurs moléculaires sont pertinents ou non pour l'étude des Phytoseiidae. La raison pour laquelle il est préférable de porter cette première prospection vers des familles d'acariens est d'ordre méthodologique. En effet on peut espérer pouvoir utiliser les mêmes fragments d'ADN mais surtout les

mêmes amorces et conditions d'amplifications. Il s'agira alors de tester les amorces et protocoles relevés de la littérature pour amplifier les marqueurs recherchés. Il s'agira de plus de mettre au point des protocoles d'amplification généralisables à tous les genres de Phytoseiidae et suffisamment répétables pour qu'ils puissent être utilisés de façon routinière.

- *Des défis analytiques :*

Les marqueurs sélectionnés doivent permettre de regrouper de façon soutenue (hautes valeurs de bootstrap ou de probabilité postérieure) les espèces d'un même genre, les genres d'une même tribu et enfin les tribus d'une même sous-famille. Cependant, un même marqueur n'a certainement pas toutes ses vertus eu égard à son taux d'évolution. Il conviendra donc de déterminer quel marqueur est le plus approprié pour étudier un niveau taxonomique donné et pour ceci développer des méthodes analytiques permettant d'appréhender cette propriété.

De plus, une fois ces marqueurs déterminés, il est également intéressant de déterminer par soucis d'économie quels marqueurs apportent une information redondante ou au contraire complémentaire et de proposer ainsi les marqueurs moléculaires à combiner selon les objectifs visés.

4.3. Les difficultés et les freins

- La première difficulté est liée au petit nombre d'études moléculaires portant sur les acariens notamment pour des niveaux taxonomiques supra-spécifiques. De plus, les principales études portent sur des Ixodes (ordre Ixodida) ou des Oribates (ordre Oribatida), appartenant à des ordres différents de celui de la famille des Phytoseiidae (ordre Mesostigmata). Ceci demande donc des adaptations méthodologiques plus longues et délicates.

- Le deuxième frein concerne le niveau taxonomique étudié. En effet, même si l'hypothèse de départ est d'étudier la pertinence des marqueurs pour des rangs taxonomiques bien déterminés (espèce, genre, tribu, et sous-famille), les taxa étudiés ont été définis par une classification morphologique non établie à partir de méthodes cladistiques. Ainsi, il n'est pas du tout certain que les genres soient bien des genres, les tribus bien des tribus et les sous-familles bien des sous-familles.

- La troisième difficulté est d'ordre analytique. Il s'agit en effet de déterminer quelles méthodes analytiques permettent de comparer la robustesse des nœuds obtenus (bootstrap ou probabilité postérieure) pour chaque rang taxonomique (cluster d'espèces dans un même genre, puis dans une même tribu et de tribus dans une même sous-famille) pour chaque marqueur testé et leurs combinaisons.

4.4. L'étude réalisée et ses principales conclusions

Cette étude a pour objectif le développement méthodologique pour proposer des marqueurs moléculaires adaptés aux études phylogénétiques supra-spécifiques dans la famille des Phytoseiidae. Dix-sept espèces, appartenant à dix genres et aux trois sous-familles, ont été considérées. Le groupe externe choisi est l'espèce *Stratiolaelaps scimitus* Berlese antérieurement nommée *Hypoaspis miles* Berlese, appartenant à la famille des Laelapidae (ordre des Mesostigmata).

Des nouveaux protocoles d'amplification ont été adaptés pour les marqueurs moléculaires nucléaires (18S ARNr, 28S ARNr, Elongation facteur-1 alpha (Elf-1 α), Heat Shock Protein 90 (HSP90)) et mitochondriaux (16S ARNr). Les analyses ont également inclus les marqueurs les plus utilisés chez les Phytoseiidae : 12S ARNr, CytB ADN mt, COI ADN mt et ITSS. Pour déterminer la performance de chaque marqueur moléculaire, les succès d'amplification ont été comparés. Les marqueurs 18S ARNr et 16S ARNr ont présenté de faibles efficacités d'amplification malgré de nombreuses tentatives d'amélioration des protocoles (concentration d'ADN, températures d'amplification, différentes amorces). Les amorces utilisées pour le marqueur Elf-1 α ont abouti à l'amplification de deux copies paralogues de façon très fréquente. Ces trois marqueurs n'ont donc pas été retenus dans la suite des analyses. Néanmoins, des développements méthodologiques supplémentaires pourraient être intéressants pour permettre une utilisation de ces marqueurs routinière et facile chez les Phytoseiidae.

Des analyses ont été réalisées pour vérifier la pertinence de chacun des six marqueurs moléculaires sélectionnés, ainsi que de leur combinaison pour résoudre les nœuds à différents niveaux taxonomiques (espèces, genres, tribus et sous-familles). Pour comparer les signaux apportés par chacun de ces marqueurs et leurs combinaisons, nous avons proposé un nouvel indice : TEPSI (Tree Ecology Topology

Similarity Index). Cet indice, inspiré de l'indice de Jaccard, considère l'arbre comme une communauté de nœuds et compare pour chaque niveau taxonomique investigué le nombre de nœuds communs (bien soutenus) entre deux arbres obtenus avec des marqueurs différents.

Les valeurs de bootstrap (parcimonie) et de probabilité postérieure (analyse bayésienne) obtenues pour la combinaison des marqueurs ont été supérieures à celles obtenues pour les arbres basés sur un seul marqueur, notamment pour les nœuds les plus profonds. Les marqueurs mitochondriaux ont montré des valeurs élevées de bootstrap et probabilité postérieure au niveau spécifique et pour certains genres. Ainsi, pour la définition d'espèces et de certains genres, l'utilisation des marqueurs concaténés ne serait pas nécessaire. Concernant les tribus et les sous-familles, l'utilisation des marqueurs nucléaires 28S ARNr, HSP90 et ITSS donnent des arbres aux topologies similaires de celle des arbres obtenus à partir de plusieurs marqueurs. Cependant, les valeurs de bootstrap (parcimonie) et de probabilité postérieure (analyse bayésienne) étaient inférieures. Pour la résolution des nœuds à des niveaux taxonomiques profonds (les tribus et les sous-familles), la concaténation des marqueurs moléculaires est donc fortement conseillée.

Cette étude a permis d'établir les bases méthodologiques pour la caractérisation moléculaire des relations évolutives entre les taxa supra-spécifiques de la Phytoseiidae. Les marqueurs mis au point peuvent désormais servir pour tester les différentes hypothèses concernant la monophylie des différents taxa supra-spécifiques établis sur la base de « ressentis morphologiques ».

4.5. Article: Which molecular markers for assessing which taxonomic level?

The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata)



Cladistics (2016) 1–17

Cladistics

10.1111/cla.12166

Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata)

Victor Vicente dos Santos* and Marie-Stephane Tixier*

Montpellier SupAgro, Unité Mixte de Recherche Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (INRA/IRD/CIRAD/Montpellier SupAgro), Campus International de Baillarguet, CS 30016, Montpellier-sur-Lez Cedex 34988, France

Accepted 6 April 2016

Abstract

The use of molecular markers for resolving systematics issues has improved our knowledge of life history. However, for the taxa studied herein—the predatory mite family Phytoseiidae—molecular phylogeny is impeded by a lack of suitable markers for deeper taxonomic levels. This study aims (i) to establish DNA amplification protocols for molecular markers known to resolve supraspecific nodes in other taxa, (ii) to determine their individual performance in assessing the clustering of species, genera, tribes and subfamilies, and (iii) to characterize the additional information provided when markers are concatenated. A new phylogenetic index is proposed based on ecological concepts, considering trees as a community of nodes. New and efficient protocols for DNA amplification of six molecular markers are provided. The concatenated tree globally provides more robust and reliable information, especially for deeper nodes. However, for assessing species identification and within-genera phylogenies, the combined use of six markers does not seem necessary, underlining the need to resize experiments depending on their taxonomic objectives. Finally, this study lays the methodological foundations with which to test the present Phytoseiidae classification as the first phylogeny obtained shows incongruence with the present morphological classification.

© The Willi Hennig Society 2016.

Introduction

Molecular approaches have been developed widely over the last three decades for resolving diverse biological issues, including systematics (Tautz et al., 2003; Mauro and Agoretta, 2010; Pylon, 2015). These investigations aim to estimate the “real” evolutionary history for different taxonomic levels and for some groups have resulted in deep modifications to the current classifications (e.g. Caterino et al., 2000; Dabert et al., 2010; Giribet and Edgecombe, 2012; Pylon, 2015). The expanding development of molecular data use essentially is due (i) to a higher number of characters compared to morphological features, especially for small-sized taxa and (ii) to information objectification (four character states for the same nucleotide site).

However, increasing the number of characters does not necessarily suppress homoplasy. Homoplasy in DNA characters can be caused by multiple independent events leading to the same phenotype—the same nucleotide base. For instance, in a transformation series G-C-G*, the two guanine G and G* correspond to the same phenotype whereas their history is obviously different (Philippe et al., 1996; Phillips, 2006). Thus, recognizing how the same phenotype can have different origins (ancestors) at different space and time scales constitutes a major challenge for evolutionary history based on DNA information (Phillips, 2006). The nature of DNA information depends on DNA fragment evolution rates (and mutation) and thus not only on the kind of DNA fragments considered (encoding or not, mitochondrial or nuclear), but also on organism life traits that might facilitate mutation fixation to cope with development in new or changing environments (Moore, 1995; Hoelzer, 1997; Cruickshank, 2002; Kumar and Filipinski, 2008; Patwardhan

*Corresponding author.
E-mail addresses: victor.vicente@supagro.fr (V.V.D.S); marie-stephane.tixier@supagro.fr (M.-S.T.).

et al., 2014). Typically, on the one hand, genes that are evolving too fast are usually unsuitable for assessing deep nodes because of multiple substitutions, but may be suitable for assessing recent relationships, especially at the species level. On the other hand, highly conserved genes are not adequate for studying relationships between recently diverged taxa, but are useful for assessing deeper nodes of the Tree of Life (Hillis and Dixon, 1991; Cruickshank, 2002; Dabert, 2006; Patwardhan et al., 2014). Thus, in order to characterize the entire evolutionary history of a taxonomic group, different genes providing different information levels should be required. The present paper focuses on the predatory mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) that contains more than 2200 species distributed worldwide, included in three subfamilies and 91 genera (Chant and McMurtry, 2007; Demite et al., 2014). Phytoseiidae species are well-known natural enemies of various pests and used in agriculture for biological control issues (McMurtry et al., 2013). The current classification is based on morphological approaches and no cladistic analysis has been applied upon which to base the presently proposed theories (Chant and McMurtry, 2007). Phytoseiidae mites are very small (less than 500 µm in body length) and thus the number of morphological characters potentially visible and available for comparison is low. In addition, fossils are rare and usually in poor condition, making distinction between analogies and homologies difficult (Selden, 1993; Walter and Proctor, 1999; Dunlop, 2010; Schäffer et al., 2010). Furthermore, biogeographical analyses coupled with character endemism studies have suggested evolutionary theories different from those accepted currently (Tixier et al., 2008b; Tixier and Kreiter, 2014). Thus, the evolutionary history of this mite family is poorly known yet understanding its life trait evolution (i.e. prey, host plants, climatic tolerances) is vital given its great potential for biological control applications. A prerequisite for this further understanding, is to search for appropriate methods and, especially, adequate characters for resolving the taxonomic level investigated. As first attempts based on morphological data sets clearly showed unresolved trees (Tixier, unpub. data), scientific developments will be aided by molecular markers. Molecular approaches have been used recently in mite phylogeny (Navajas and Fenton, 2000; De Rojas et al., 2001; Cruickshank, 2002; Lekveishvili and Klompen, 2004; Dabert, 2006; Domes et al., 2007; Klompen et al., 2007; Klimov and O'Connor, 2008; Dabert et al., 2010; Dowling and O'Connor, 2010; Kanouh et al., 2010b; Roy et al., 2010; Schäffer et al., 2010; Tsolakis et al., 2012) but the panel of DNA fragments for assessing phylogenetic relationships at the supraspecific level is quite low compared to that for assessing species diagnosis (Navajas and Fenton, 2000; Cruickshank, 2002;

Dabert, 2006). Barcoding approaches have been successfully developed for the family Phytoseiidae for species diagnostic purposes using 12S rDNA, CytB mtDNA, COI mtDNA and ITSS markers (Jeyaprakash and Hoy, 2002, 2009; Tixier et al., 2006a,b, 2008a, 2010a, 2012, 2014; Okassa et al., 2009, 2010, 2012; Kanouh et al., 2010a; Bowman and Hoy, 2012; Navia et al., 2014). Only two molecular studies of Phytoseiidae supraspecific levels have been carried out, both at the genus level (*Neoseiulus* and *Phytoseiulus*) (Kanouh et al., 2010b; Tsolakis et al., 2012); they showed (i) incongruence between morphological theories and (ii) limits for the markers used (CytB mtDNA, 12S rDNA and ITSS) in assessing deeper phylogenetic relationships. Thus, the present paper aims to test the suitability of nine molecular markers for assessing Phytoseiidae phylogenetic relationships between genera, tribes and subfamilies. The first step consists of a methodological phase aiming to adapt DNA amplification protocols to the mite family studied herein. The second step consists in an analytic phase, quantifying and comparing phylogenetically informative signals (homoplasy data set, clade reliability and repeatability) of the markers considered with regards to the taxonomic level investigated.

Material and methods

Taxa considered

The seventeen Phytoseiidae species considered belong to ten genera distributed in the three Phytoseiidae subfamilies (Amblyseinae, Typhlodrominae and Phytoseiinae) as follows: seven genera of subfamily Amblyseinae (*Amblydromalus*, *Amblyseius*, *Euseius*, *Kampimodromus*, *Neoseiulus*, *Phytoseiulus* and *Typhlodromalus*); two genera of the subfamily Typhlodrominae (*Galendromus* and *Typhlodromus* (*Typhlodromus*)); and one genus of the subfamily Phytoseiinae (*Phytoseius*). This genus selection reflects the diversity of each subfamily, as Amblyseinae is the most diverse at species and genus levels, followed by Typhlodrominae and then Phytoseiinae. Furthermore, species and genera were selected in this manner to determine the suitability of molecular markers for assessing the phylogenetic relationships between species of the same genus, between several genera within a tribe and between the three subfamilies. Sequences of two specimens of the same species for each molecular marker were obtained (as often as possible) to determine the adequacy of molecular markers for diagnosis. The out-group species, *Hypoaspis miles* Berlese, belongs to the Laelapidae family (same order as Phytoseiidae). Table 1 presents the locations where the species studied were collected and the sequence accession numbers

Table 1
Locations, countries and host plants where the Phytoseiidae species studied were collected and their sequence accession numbers in GenBank. The bold and italic accession numbers correspond to the sequences retrieved from GenBank and usually obtained by the present authors

Accession numbers in Genbank												
Sub-family	Species	Locality/ Origin	Country	Host plant	12S rRNA	COI mtDNA	Cytb mtDNA	16S rRNA	EF-1 alpha	28S rRNA	HSP 90	ITS
Amblyseinae	<i>Amblydromalus limonicus</i>	Koppert	–	Commercial rearings	KU318126	KU318190	KU318219	KU318134	KU318246	KU318159	KU318280	KU318308
	<i>Amblyseius andersoni</i>	Mazières	France	<i>Maltus domestica</i>	KU318127	KU318191	KU318220	KU318135	KU318247	KU318160	KU318281	KU318309
	<i>Amblyseius herbicolus</i>	Garraria	New Caledonia	Unknown host plant	KU318115	KU318177	KU318208	KU318230	KU318231	KU318144	KU318265	KU318297
	<i>Amblyseius laroensis</i>	Nouméa	New Caledonia	Unknown host plant	KU318122	KU318186	KU318215	KU318242	KU318243	KU318155	KU318276	KU318304
	<i>Euseius gallicus</i>	Montpellier	France	<i>Prunus avium</i>	KU318123	KU318187	KU318216	KU318243	KU318244	KU318156	KU318277	KU318305
	<i>Euseius ovalis</i>	Syngenta-Bioline	–	Commercial rearings	KU318124	KU318188	KU318217	KU318245	KU318246	KU318157	KU318278	KU318306
	<i>Euseius scutalis</i>	Meknes	Morocco	<i>Vitis vinifera</i>	KU318125	KU318189	KU318218	KU318245	KU318248	KU318158	KU318279	KU318307
	<i>Kampimodromus aberrans</i>	Montpellier	France	<i>Quercus pubescens</i>	KU318120	KU318184	KU318213	KU318133	KU318240	KU318153	KU318274	KU318302
	<i>Phytoseiulus longipes</i>	Uruguaiana	Brazil	<i>Solanum americanum</i>	KU318121	KU318185	KU318214	KU318136	KU318241	KU318154	KU318275	KU318303
	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Syngenta-Bioline	–	Commercial rearings	<i>HQ04835</i>	KU318197	KU318224	KU318137	KU318252	KU318164	KU318285	<i>HQ04801</i>
	<i>Neoseiulus californicus</i>	Midi Pyrénées	France	<i>Maltus domestica</i>	KU318128	KU318198	KU318225	KU318131	KU318260	KU318165	KU318286	KU318312
	<i>Typhlodromus uripio</i>	Nairobi	Kenya	<i>Manihot esculenta</i>	KU318130	KU318204	KU318227	KU318132	KU318261	KU318173	KU318293	KU318314
Phytoseiinae	<i>Phytoseius juitatus</i>	Corsica	France	<i>Actinidia deliciosa</i>	KU318112	KU318174	KU318205	KU318205	KU318228	KU318141	KU318262	KU318294
	<i>Galeodromus occidentalis</i>	California	USA	<i>Vitis vinifera</i>	KU318113	KU318175	KU318206	KU318229	KU318229	KU318142	KU318263	KU318295
	<i>Typhlodromus exilistratus</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>FJ952516</i>	KU318192	<i>GU591685</i>	KU318248	KU318249	KU318161	KU318282	<i>GU591674</i>
	<i>Typhlodromus phidatus</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>FJ952517</i>	KU318193	<i>GU591686</i>	KU318249	KU318254	KU318162	KU318283	<i>GU591675</i>
Typhlodrominae	<i>Hypoaspis miles</i>	Koppert	–	Commercial rearings	<i>FJ985114</i>	KU318199	<i>FJ985081</i>	KU318137	KU318254	KU318166	KU318287	<i>GU591672</i>
	<i>Phytoseius juitatus</i>	California	USA	<i>Vitis vinifera</i>	<i>FJ985115</i>	KU318200	<i>FJ985082</i>	KU318138	KU318254	KU318167	KU318288	<i>GU591673</i>
	<i>Galeodromus occidentalis</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>KC810041</i>	KU318180	<i>FJ279225</i>	KU318234	KU318234	KU318147	KU318268	<i>FJ279106</i>
	<i>Typhlodromus phidatus</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>KC810045</i>	KU318181	<i>FJ279226</i>	KU318235	KU318232	KU318148	KU318269	<i>FJ279107</i>
Laelapidae	<i>Hypoaspis miles</i>	Koppert	–	Commercial rearings	KU318116	KU318178	KU318209	KU318210	KU318232	KU318145	KU318266	KU318298
	<i>Phytoseius juitatus</i>	California	USA	<i>Vitis vinifera</i>	KU318117	KU318179	KU318210	KU318233	KU318238	KU318146	KU318267	KU318299
	<i>Galeodromus occidentalis</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	KU318118	KU318182	KU318211	KU318238	KU318238	KU318151	KU318272	KU318300
	<i>Typhlodromus phidatus</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	KU318119	KU318183	KU318212	KU318239	KU318239	KU318152	KU318273	KU318301
Laelapidae	<i>Hypoaspis miles</i>	Koppert	–	Commercial rearings	<i>AY099363</i>	KU318195	KU318222	<i>EF221760</i>	<i>XM003740386</i>	KU318152	<i>XM003741928</i>	<i>Y18272</i>
	<i>Phytoseius juitatus</i>	California	USA	<i>Vitis vinifera</i>	<i>EF221760</i>	KU318196	KU318223	KU318236	KU318236	KU318149	KU318270	<i>Y18272</i>
	<i>Galeodromus occidentalis</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>HQ04831</i>	<i>FJ279182</i>	<i>FJ279287</i>	KU318237	KU318237	KU318150	KU318271	<i>FJ279155</i>
	<i>Typhlodromus phidatus</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>FJ279063</i>	<i>FJ279183</i>	<i>HM635299</i>	KU318238	KU318238	KU318168	KU318289	<i>HQ0404830</i>
Laelapidae	<i>Hypoaspis miles</i>	Koppert	–	Commercial rearings	<i>HM635273</i>	KU318201	<i>HM635300</i>	KU318239	KU318239	KU318169	KU318290	<i>JN793515</i>
	<i>Phytoseius juitatus</i>	California	USA	<i>Vitis vinifera</i>	<i>HM635274</i>	KU318202	<i>HM635300</i>	KU318240	KU318240	KU318170	KU318291	<i>GU565315</i>
	<i>Galeodromus occidentalis</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>FJ279049</i>	<i>FJ279162</i>	<i>FJ279266</i>	KU318241	KU318241	KU318171	KU318292	<i>FJ279145</i>
	<i>Typhlodromus phidatus</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	<i>FJ279050</i>	<i>FJ279163</i>	<i>FJ279267</i>	KU318242	KU318242	KU318172	KU318293	<i>FJ279146</i>
Laelapidae	<i>Hypoaspis miles</i>	Koppert	–	Commercial rearings	KU318126	KU318190	KU318219	KU318134	KU318246	KU318159	KU318280	KU318308
	<i>Phytoseius juitatus</i>	California	USA	<i>Vitis vinifera</i>	KU318127	KU318191	KU318220	KU318135	KU318247	KU318160	KU318281	KU318309
	<i>Galeodromus occidentalis</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	KU318128	KU318192	KU318221	KU318136	KU318248	KU318161	KU318282	KU318294
	<i>Typhlodromus phidatus</i>	Restinelières	France	<i>Vitis vinifera</i>	KU318129	KU318193	KU318222	KU318137	KU318249	KU318162	KU318283	KU318312

in GenBank both for the DNA fragments obtained herein and those already published and mainly deposited by the present authors.

Molecular markers studied

The nine DNA markers considered (four mitochondrial and five nuclear DNA fragments) were selected because they had already been used for assessing the phylogenetic relationships within Acari (Table 2). The mitochondrial DNA markers, COI mtDNA, CytB mtDNA, 12S rRNA and the nuclear fragment ITSS (ITS1-5.8S-ITS2) have been used successfully for molecular discrimination between Phytoseiidae species (Navajas et al., 1999; Yli-Mattila et al., 2000; Jeyaprakash and Hoy, 2002; Tixier et al., 2006a,b, 2012; Bowman and Hoy, 2012) and for assessing the phylogenetic relationships within two Phytoseiidae genera (Kanouh et al., 2010b; Tsolakis et al., 2012). The mitochondrial marker 16S rRNA has been used in phylogenetic studies of ticks, at the species level (Norris et al., 1996, 1997; Black and Rochrdanz, 1998), genus level (Crosbie et al., 1998; Mangold et al., 1998) and subfamily level (Black and Piesman, 1994; Black et al., 1997; Norris et al., 1999). The ribosomal nuclear gene coding for the large subunit (28S rRNA, D1-D3) was used for inferring deep phylogenetic relationships at family levels for Ixodida, Oribatida and Mesostigmata (Dowling and O'Connor, 2010; Klompen, 2010; Schäffer et al., 2010) and species level for Phytoseiidae (Sonoda et al., 2012). Primers reported in these publications were different, but preliminary tests on Phytoseiidae showed that those used by Dowling and O'Connor (2010) provide the most regular amplification results. The 18S rRNA nuclear gene is reported to be adequate for investigating mite phylogeny at intermediate (genera) and deeper (subfamily) taxonomic levels, especially for Oribatida, Mesostigmata and Ixodida (Mangold et al., 1998; Dobson and Barker, 1999; Lekveishvili and Klompen, 2004; Domes et al., 2007; Klompen et al., 2007; Laumann et al., 2007; Dabert et al., 2010; Klompen, 2010; Schaefer et al., 2010). Because the primers used in these latter studies were different, preliminary experiments were carried out to determine those performing the best for Phytoseiidae amplification: 18SF and Rev18S (Laumann et al., 2007); 18SF (Laumann et al., 2007) and 18SR (Domes et al., 2007); and 18SFw and Rev18S (Dabert et al., 2010). The Elongation Factor 1- α (EF-1 α) was used for assessing Phytoseiidae species differentiation (Jeyaprakash and Hoy, 2009; Bowman and Hoy, 2012), and deep phylogeny between different orders and infraorders in Mesostigmata (Klompen, 2000) and Oribatida (Laumann et al., 2007; Schäffer et al., 2010). After preliminary tests, the primers chosen were those proposed by Klompen (2000). Finally, the nuclear gene

coding for Heat Shock Protein (HSP90) was used to investigate genus and family relationships within Oribatida (Laumann et al., 2007; Schaefer et al., 2010).

DNA extraction, amplification and sequencing

DNA was extracted individually using a Qiagen DNA Blood Tissue kit as specified in Kanouh et al. (2010a). After DNA extraction, specimens were retrieved and mounted on slides according to the method developed by Tixier et al. (2010b). For the fragments currently used for Phytoseiidae (COI mtDNA, CytB mtDNA, 12S rRNA, ITSS), conditions were similar to those described in Tixier et al. (2012). For the other markers, modifications of the protocols retrieved from literature were performed, concerning the number of polymerase chain reaction (PCR) cycles, dNTP, MgCl₂, DNA and BSA concentrations. The PCR reactions were performed in a 25- μ L volume containing: 4 μ L of mite DNA for all of the markers except ITSS and 18S rRNA (2 μ L); 2.5 μ L (1 mM) of buffer 10 $\times$; 0.5 μ L (2 mM) of MgCl₂; 0.5 μ L (0.05 mM for each dNTPs) for all of the markers except HSP90 and EF-1 α ; 0.8 μ L (0.08 mM for each dNTPs); 0.5 μ L (0.2 mg/mL) of BSA for all of the markers except COI mtDNA for which no BSA was added; 0.7 μ M (1.75 μ L) of primers except for COI mtDNA; 0.15 μ M (0.375 μ L); 0.125 μ L (0.625 U) of Qiagen Taq and a corresponding volume of water. The amplification thermal conditions and the primer sequences are presented in Table 3. Electrophoresis was carried out on a 1.5% agarose gel in 0.5 $\times$ TBE buffer for 20 min at 100 volts. The PCR products were sequenced along both strands using a Dynamic ET Terminator Cycle Sequencing kit and purified using ExoSAP-IT (Amersham). The sequencer used was the Megabase 1000 apparatus. Sequences were aligned and analysed with Geneious v.3.5.4 (Drummond et al., 2007).

Phylogenetic analyses

The sequences obtained were compared with those included in the GenBank database to determine the presence of potential contaminations. Then, they were aligned using ClustalW in Mega 5.2 (Tamura et al., 2011). The distance matrices were elaborated using the Kimura 2-parameter model. Data were analysed using both parsimony and Bayesian approaches because they provide complementary information (Holder and Lewis, 2003; Soltis and Soltis, 2003; Kumar and Filipski, 2008). Furthermore, clades are considered more confident in cases where clusterings obtained using these two methods are congruent (Suzuki et al., 2002; Alfaro et al., 2003; Douady et al., 2003; Simmons et al., 2004; Taylor and Piel, 2004; Kumar and

Table 2
 Characteristics of the nine molecular markers considered (length of the amplified fragment, primer's names and sequences), bibliographic references and taxa groups for which the primers have been used

Marker acronym	Marker full name	Fragment length (bp)	Primer Name	Primer sequence	Author	Taxon investigated
12S rRNA	12S Ribosomal RNA	450	12SF	5'-3' TACTATGTTACGACTTAT	Tixier et al., 2012;	Phytoseiidae
COI mtDNA	Cytochrome Oxidase Subunit I	694	12FR	3'-5' AAACATAGGATTAGATACCC	Tixier et al., 2012;	Phytoseiidae
CytB mtDNA	Cytochrome Oxidase B	370	LCOHCOF	5'-3' TTCAACWAATCATAAAGATATGG	Tixier et al., 2012;	Phytoseiidae
16S rRNA	16S Ribosomal RNA	560	LCOHCOF	3'-5' TAAACTTCGGRGTGWCACAAARAATCA	Black and Piesman, 1994;	Phytoseiidae
18S rRNA	Small Subunit 18S Ribosomal RNA	600	CytF	5'-3' TAWRAARTATCAATCTDGGTTKATATG	Black et al., 1997;	Phytoseiidae
			CytR	3'-5' CCWGTGAGGACAAATAWSWTTTGTGAGG	Laumann et al., 2007;	Phytoseiidae
			16SLRN12887	5'-3' CCGGTCTGAACCTCAGATCAAGT	Domes et al., 2007;	Phytoseiidae
			16SLRN13398	3'-5' CGCTGTTTAAAAACAT	Dabert et al., 2010;	Phytoseiidae
			Ns3	5'-3' GCAAGTCTGGTCCAGCAGCC	Sonoda et al., 2012;	Phytoseiidae
			Ns8	3'-5' TCCGACAGGTTACCTACGGA	Dowling and O'Connor, 2010;	Phytoseiidae
			18S-F	5'-3' TACCTGGTTGACCTGCCAG	Klumpen, 2000;	Phytoseiidae
			rev18SR	3'-5' TGATCTCTCCGACGGTTACCT	Jeyaprakash and Hoy, 2009;	Phytoseiidae
			18SR	5'-3' CTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGCA	Roy et al., 2010;	Phytoseiidae
			18SFw	3'-5' TAATGATCCTCCGACGGTTAC	Tixier et al., 2012;	Phytoseiidae
28S rRNA	28S Ribosomal RNA [D1-3]	728	28SF-rD43	5'-3' GACCCGCTGAACTTAAGCAT		
			28SR-rD13dp	3'-5' CGTGTTCAGACGGGTCAAATAAAT		
			43F	5'-3' GCTGCGAGTGAACCTGGATCAAGCCT		
			929R	3'-5' AGGTCAACATCTTTCGGGTC		
EF1 α	Elongation factor 1- α	575	40.71F	5'-3' TCNTTYAARTAYGCNTGGGT		
			52.RC	3'-5' CCDAATYRTANACRTCTGT		
			DegEF1-F2	5'-3' GAYTYATHAARAAYATGAT		
			DegEF1-R1	3'-5' GCYTCRTGRTGCATYTC		
			AcEF1-F	5'-3' CTGGAAGTTCGAGACGCC		
			AcEF1-R	3'-5' CTCGTGGTGCATTCGACCCGACTTC		
ITSS	Internal Transcribed Spacer I and Internal Transcribed Spacer II	624	ITSSF	5'-3' AGAGGAAAGTAAAGTCGTAAACAAG		
			ITSR	3'-5' ATATGCTTAAATTCAGGGGG		
HSP90	Heat Shock Protein 90	503	hsp8.X	5'-3' ACGTTCTAGARTGTCYTCCTCARTCTTNGT	Schäffer et al., 2010	Oribatida
			hsp1.2	3'-5' TGCTCTAGACACARTTYGGTGTNGGTTTATA		

Table 3
Polymerase chain reaction (PCR) thermal cycling conditions for the nine DNA fragments considered. For the 18S rRNA fragment, three PCR conditions tested are reported

	12S rRNA	CytB mtDNA	COI mtDNA	16S rRNA	18S rRNA/1	18S rRNA/2	18S rRNA/3	28S rDNA	ITS
Initial denaturation	95 °C 1'	94 °C 3'	95 °C 3'	95 °C 3'	95 °C 1'	95 °C 3'	95 °C 1'	94 °C 2'	92 °C 2'
Denaturation 35 cycles	94 °C 30"	92 °C 20"	94 °C 1'	94 °C 1'	94 °C 30"	94 °C 45"	95 °C 10"	94 °C 25"	92 °C 15"
Annealing	40 °C 30"	53 °C 1'	48 °C 1'	48 °C 1'	54 °C 45"	57 °C 1'	50 °C 15"	53 °C 20"	45" 45"
Elongation	72 °C 1'	72 °C 1'	72 °C 1'	72 °C 1'	72 °C 1'	72 °C 1'	72 °C 1'	72 °C 1'	72 °C 1'
Final Elongation	72 °C 5'	72 °C 5'	72 °C 5'	72 °C 5'	72 °C 10'	72 °C 10'	72 °C 5'	72 °C 7'	72 °C 7'
EF-1a									
Initial denaturation			95 °C				HSP90		
Denaturation 10 cycles			95 °C				95 °C		3'
Annealing			62 °C				95 °C		50"
Elongation			72 °C				60 °C		50"
Final Elongation			73 °C				72 °C		2'
Denaturation 35 cycles			95 °C				72 °C		10'
Annealing			52 °C				95 °C		50"
Elongation			72 °C				80 °C		50"
Final Elongation			73 °C				72 °C		2'
									10'

Filipski, 2008). Parsimony analyses were carried out for each DNA fragment and the combined data set using an heuristic search procedure repeated 1000 times, with randomized taxon additions and a branch-swapping algorithm (TBR). Because, for some species and DNA fragments, it was impossible to obtain PCR products despite a high number of attempts and protocol modifications [12S rRNA for *H. miles*, HSP90 and 28S rRNA for *Galendromus occidentalis* (Nesbitt)], we analysed the combined data set following Wiens (1998a,b), Wiens et al. (2005) and Zheng and Wiens (2016), who demonstrated that missing data do not decrease the phylogenetic accuracy. Incongruence Length Difference (ILD) was calculated to test for conflicting signals among the components of the concatenated data set (Mickey and Farris, 1981; Farris et al., 1994; Sullivan, 1996; Cunningham, 1997). The ILD *P*-value (0.06) suggested no conflicting signals. To reduce misleading effects of homoplasious characters, an *a posteriori* re-weighting was applied using the rescaled consistency index (RC) after each tree search, until the number of trees stabilized (Farris, 1969, 1989). The tree topologies obtained with and without re-weighted characters were similar; only the bootstrap values and thus the relevant phylogenetic support of the nodes changed. Node support was determined using 1000 bootstrap replicates (PAUP*, v.4.0b.10; Swofford, 2002). Bayesian analysis was carried out for each DNA fragment and for concatenated data (applying partition procedure) using MrBayes 3.1 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003). The best-fit-substitution models were determined by Modeltest 3.06 (Posada and Crandall, 1998) in (PAUP*, v.4.0b.10; Swofford, 2002) through hierarchical likelihood-ratio tests (Table 4). The number of categories used to approximate the gamma distribution was set at four and four Markov chains were run for 100 000 generations. Stabilization of model parameters (burn-in) occurred around 250 generations.

Data interpretation

In order to develop the use of molecular markers in phylogenetic studies, first, these markers should be easy to amplify and second they should bring adequate information with regard to the taxonomic levels being investigated. To determine how easily the molecular markers tested herein are to amplify, an efficiency index was calculated by dividing the number of PCRs resulting in amplification by the total number of PCRs carried out. Furthermore, to assess the generalisation of amplification success among the species considered, we calculated an index termed "PCR success frequency" by dividing the number of species for which PCR products were obtained by the total number of species tested. To compare the information provided

Table 4

Polymerase chain reaction (PCR) efficiency indices, phylogenetic information provided by the six DNA fragments considered, Data Decisiveness (DD) index and Best-fit substitution models

	12S rRNA	COI mtDNA	CytB mtDNA	28S rRNA	HSP 90	ITSS
PCR efficiency (%)	68	63	63	62	27	72
Success Frequency (%)	94	100	100	94	92	100
Aligned length (bp)	461	790	428	902	594	699
Tree Length	502	788	595	335	376	511
%G	9	17	19	27	25	23
%A	39	27	40	26	16	27
%C	12	16	10	18	29	20
%T	39	40	32	29	31	30
R=ts/tv	0.7	1.1	0.79	2.91	2.15	1.14
Proportion invariant	0.33	0.40	0.35	0.76	0.60	0.48
Proportion parsimony informative sites	0.62	0.53	0.60	0.17	0.35	0.43
Proportion of singletons	0.02	0.03	0.04	0.07	0.04	0.09
Average K2P distance	0.31	0.28	0.41	0.04	0.13	0.19
Consistency index (CI)	0.61	0.53	0.52	0.86	0.67	0.76
Retention index (RI)	0.81	0.72	0.68	0.88	0.79	0.90
Decision index (DD)	0.85	0.75	0.82	0.89	0.89	0.84
Best-fit substitution model	HKY+G	TVM+I+G	K81uf+I+G	TrN+I+G	GTR+G	TrN+I+G

by each marker and concatenated data set for the taxonomic levels investigated, several indices were calculated. Average genetic distance, saturation index estimated by the ratio between Transition and Transversion (Xia et al., 2003) and Consistency Index (for parsimony analysis) (Kluge and Farris, 1969; Farris, 1989) were calculated to estimate global homoplasy in DNA data set. The robustness of trees obtained with individual DNA fragments and the concatenated data set was compared using the proportion of well-supported nodes amongst the total of number of nodes. Well-supported nodes were considered when bootstrap or posterior probability values were higher than 90% and 0.90 for parsimony and Bayesian analyses, respectively (Felsenstein, 1985; Hillis and Bull, 1993; Huelsenbeck et al., 2002; Mallatt et al., 2004; Patwardhan et al., 2014). To compare more accurately how individual markers and a concatenated data set could resolve various taxonomic levels, trees were compared to a morphological classification (last family revision: Chant and McMurtry, 2007). Bootstrap and posterior probability values were used to assess the robustness of the clustering between (i) specimens of the same species, (ii) species of the same genus, (iii) genera of the same tribe and (iv) genera of the same subfamily. For (i) 17 species were studied. For (ii), four genera were considered: *Euseius* (three species), *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) (three species), *Phytoseiulus* (two species) and *Amblyseius* (three species). However, this last genus appeared to be clearly polyphyletic because one species (*Amblyseius andersoni* Chant) among the three considered always clustered with a species of the genus *Neoseiulus*. Such a result is not in accordance with the traditional morphological classification, but had already been observed and discussed in Tsolakis et al. (2012). Thus, for the genus

Amblyseius only two species were considered to determine the robustness of the clade obtained. For (iii), one tribe was considered (Euseiini with three genera: *Euseius*, *Typhlodromalus* and *Amblydromalus*). Finally, for (iv), three subfamilies were considered (Amblyseini with seven genera and eleven species, Typhlodrominae with two genera and four species, and Phytoseiinae with one genus and one species). For assessing the contribution of each DNA fragment to the combined analysis, the Data Decisiveness (DD) index proposed by Goloboff (1991a,b) was calculated. The higher this index, the more the DNA fragment contributes to the overall phylogenetic information (Laet and Smets, 1998).

Finally, like many authors (e.g. Goldman et al., 2000; Chen et al., 2003; Li and Lecointre, 2009; Marcet-Houben and Gabaldon, 2011; Zheng and Wiens, 2016), we considered how to compare tree topologies obtained with various data sets. The objectives were to easily assess the repeatability and robustness (reliability) of nodes corresponding to targeted taxonomic levels. The metrics to compare trees proposed in the literature were not adapted totally to these objectives. Some combine a total evidence approach (phylogenetic supports) and taxonomic congruence (Li and Lecointre, 2009). Some indices compare clade repeatability without considering node supports, others compare clade reliability without considering node repeatability and most of them do not consider a specific taxonomic level inferred from systematic assumptions (Chen et al., 2003; Marcet-Houben and Gabaldon, 2011). We thus propose a new index, TEPSI (Tree Ecology Topology Similarity Index). This reflects node reliability by considering as similar only those nodes between two trees with bootstrap or posterior probability values $\geq 90\%$ and 0.90 for parsimony and Bayesian analyses, respectively, and node

repeatability by considering as similar nodes between two trees including the same taxa. Finally, it considers taxonomic congruence as this can be computed for each taxon level targeted (species, genus, tribe and subfamily clustering). Its elaboration is based on (i) the approach proposed in Li and Lecointre (2009) and (ii) the Jaccard index widely used in ecological studies for comparing communities. We consider that phylogenetic trees are a community of nodes and use a Jaccard index to compare two communities, but only taking into account well-supported nodes (bootstrap or posterior probability values of 90% and 0.90 for parsimony and Bayesian analyses, respectively). The TEPSI between two trees i and j was calculated as follows:

$$\text{TEPSI}(\text{tree}_i/\text{tree}_j) = C / (N_i + N_j - C),$$

where C is the number of well-supported clades common to two trees i and j , and N_i and N_j are the numbers of well-supported nodes for the trees i and j , respectively. This index was calculated considering (i) all of the nodes of the trees obtained and (ii) nodes for each taxonomic level investigated: species, genus, tribe and subfamily. As an example, to calculate the TEPSI at the species level between two trees i and j , C is the common number of well-supported nodes clustering two specimens of a same species, N_i is the number of nodes clustering specimens of the same species in the tree i and N_j is the number of nodes clustering specimens of the same species in the tree j . TEPSI ranges between 0 and 1; the higher it is, the more similar and robust is the phylogenetic information brought by the two trees compared.

Results and discussion

Markers easy to amplify?

For the 16S rRNA marker, out of 188 PCRs performed, only 11 amplification products were obtained, corresponding to less than half of the species considered (success frequency of 44%). For the 18S rRNA marker, despite the three primer combinations tested and changes in initial PCR protocols (147 PCRs for twelve species), no amplification product was obtained. Because of the difficulties encountered in amplifying these two latter DNA fragments, they were not considered interesting for further molecular analyses. As 18S seems to be a good marker for assessing deep phylogenetic relationships, it would be valuable to continue testing other protocols, especially those developed by Dowling and O'Connor (2010) that reported full 18S sequences for two phytoseiid species using the Black et al. (1997) primers.

For the four DNA fragments currently used for molecular studies on Phytoseiidae (12S rRNA, COI

mtDNA, CytB mtDNA and ITSS), the PCR efficiency and success frequencies were very high (more than 63% and 94%, respectively) even if some difficulties were encountered for some species (i.e. *G. occidentalis* and *H. miles*, for which there was no amplification of the 12S rRNA marker despite many attempts) (Table 4). The amplification of the 28S rRNA marker gave PCR and success efficiencies of 94% and 62%, respectively. For HSP90 and EF1 α , many PCRs were performed to determine the best conditions for amplification. PCR efficiency initially was low (as stated in Table 4 for HSP90), but after many protocol modifications (presented in Table 3), the PCR efficiency and frequency reached 100% for both markers. PCR results obtained for EF1 α are not included in Table 3 and phylogenetic indices were not calculated because of paralogue copy amplification (see below).

Informative markers for the taxonomic level investigated

The DNA sequence analyses show that two paralogue copies of EF1 α were randomly amplified; two well-supported clades were obtained, each containing specimens of the species. Such a result is in accordance with observations of various authors (Cruickshank, 2002; Dabert, 2006; Bowman and Hoy, 2012). Thus, as it has been impossible to target one of these copies for amplification, this marker was not considered for further analyses.

Table 4 shows the phylogenetic information for the six remaining DNA fragments. The longest fragments were 28S rRNA, COI mtDNA and ITSS (902, 790 and 699 bp, respectively), the shortest were 12S rRNA and CytB mtDNA (461 and 428 bp, respectively), whereas HSP90 (594 bp) showed intermediate length. The consistency index values (CI) were quite high for 28S rRNA (0.86) and ITSS (0.76), much lower for the mitochondrial markers (0.61 for 12S rRNA, 0.52 for CytB mtDNA, 0.53 for COI mtDNA) and intermediate for HSP90 (0.67). The index R(Ts/Tv) was low for mitochondrial markers and to a lesser extent for the ITSS fragment, whereas it was higher for HSP90 and 28S rRNA. Homoplasy rates vary depending on the marker considered, higher homoplasy being observed for mitochondrial markers than for nuclear ones. This observation is coherent as the taxonomic sampling considered is large, ranging from species to subfamilies. Furthermore, such results are in accordance with what is known about the low resolution of deep nodes using mitochondrial markers and, contrariwise, the greater resolution of deeper nodes using nuclear markers (Moritz et al., 1987; Moore, 1995; Hoelzer, 1997; Patwardhan et al., 2014). It is thus assumed that each of the six markers will provide specific information depending on the taxonomic level investigated (Figs 1–3).

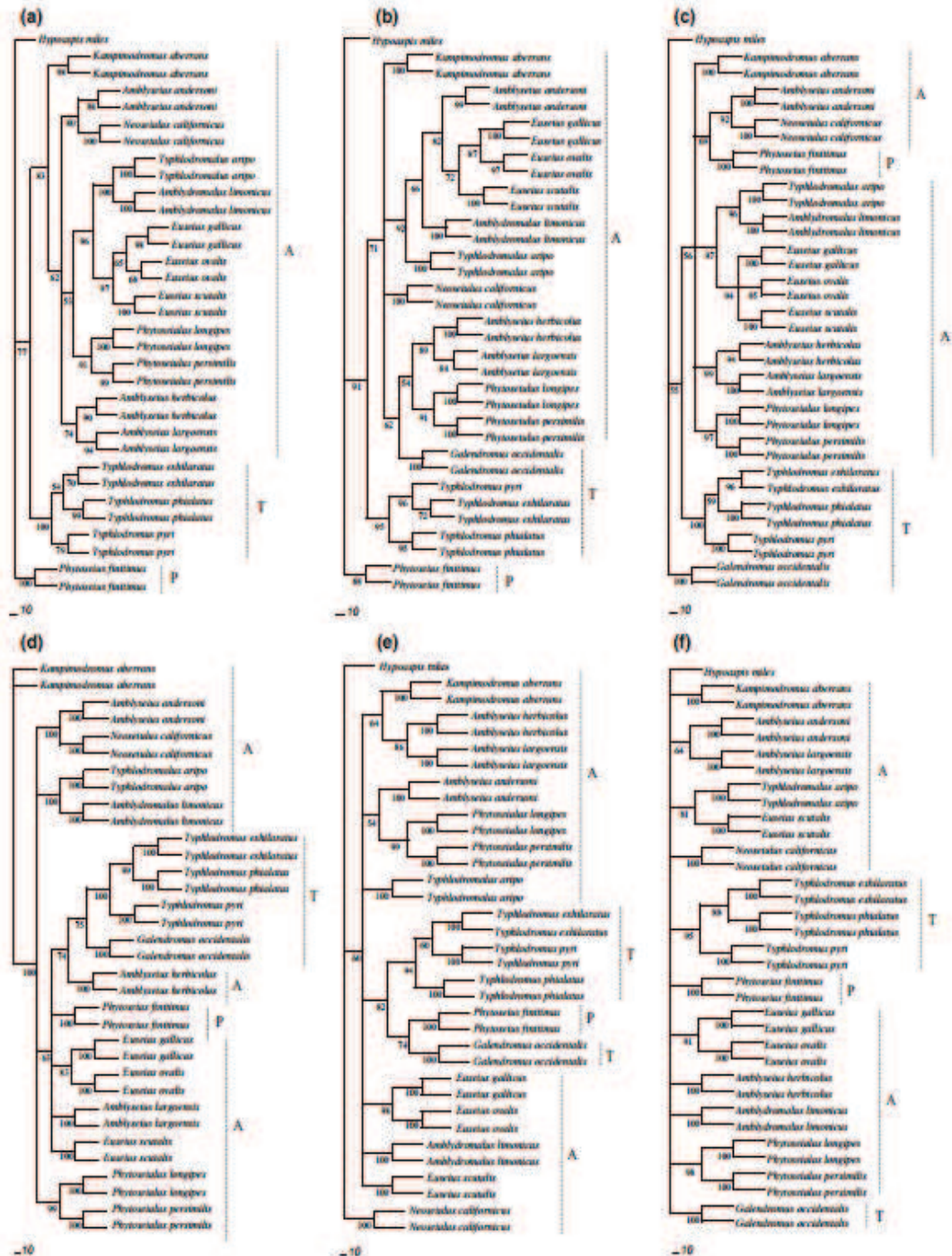


Fig. 1. Strict consensus trees obtained after parsimony analysis: (a) 28S rRNA, (b) HSP90, (c) ITSS, (d) 12S rRNA, (e) COI mtDNA and (f) CytB mtDNA. Values below branches indicate bootstrap support. The letters A, P and T refer to the subfamilies Amblyseini, Phytoseiini and Typhlodromini, respectively.

Table 5 shows the bootstrap and posterior probability values for the individual and concatenated data set for each taxonomic rank considered. All of the individual trees as well as the total evidence tree show highly robust clustering at the species level. The nuclear DNA fragments (28S rRNA, HSP90 and ITSS) show high robustness in clustering species of the

same genus, whereas the mitochondrial markers globally do not perform well in resolving this taxonomic level (the worst marker being 12S rRNA). However, differences exist between the taxa considered because all of the markers (including mitochondrial) allow resolution of phylogenetic relationships within the genera *Phytoseiulus* and *Typhlodromus*. This may be due to

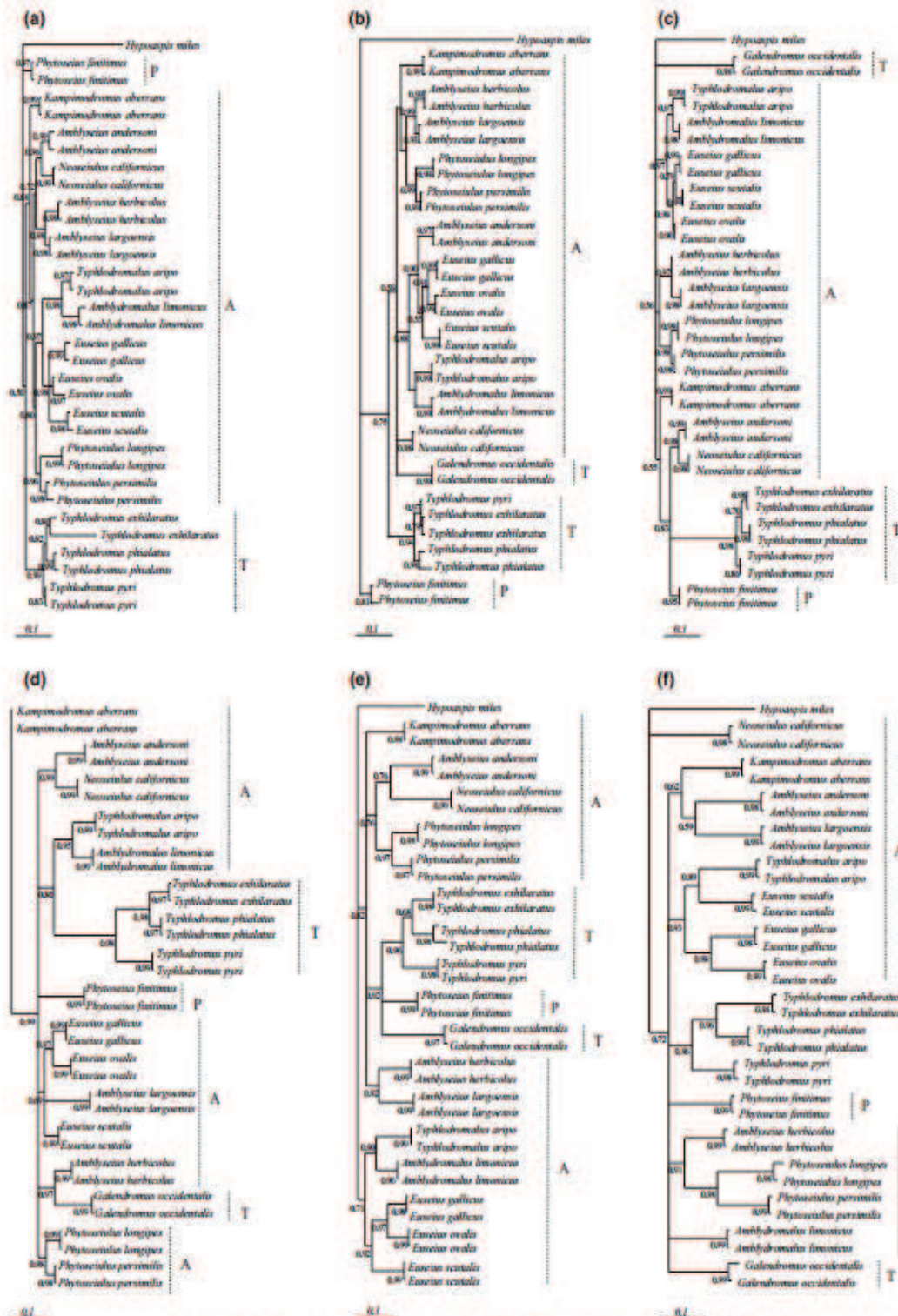


Fig. 2. Strict consensus trees obtained after Bayesian analysis: (a) 28S rRNA, (b) HSP 90, (c) ITSS, (d) 12S rRNA, (e) COI mtDNA and (f) CytB mtDNA. Values below branches indicate posterior Bayesian probabilities. The letters A, P and T refer to the subfamilies Amblyseinae, Phytoseiinae and Typhlodrominae, respectively.

the *Typhlodromus* and *Phytoseiulus* species considered herein (which are close to each other) and to the life traits of these species allowing a higher evolution rate,

especially for the species of the genus *Phytoseiulus* (high fecundity, low generation time) (McMurtry et al., 2013). Considering the clustering of genera from

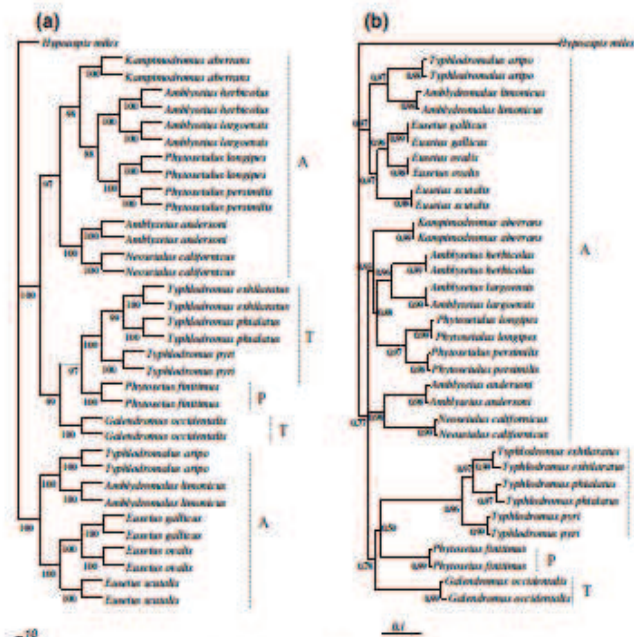


Fig. 3. Strict consensus trees obtained after parsimony analysis (a) and Bayesian analysis (b) carried out on combined molecular data sets (28S rRNA, HSP90, ITSS, 12S rRNA, COI mtDNA and Cytb mtDNA). Values below branches indicate bootstrap support (for (a)), and posterior Bayesian probabilities (for (b)). The letters A, P and T refer to the subfamilies Amblyseinae, Phytoseiinae and Typhlodrominae, respectively.

the same tribe (Euseiini), only the three nuclear genes show high robustness. Finally, only HSP90 and, to a lesser extent, 28S rRNA show quite high bootstrap and posterior probability values for inferring relationships between the three subfamilies, which is in accordance with the low evolution rates of these two genes (Moritz et al., 1987; Moore, 1995; Hoelzer, 1997; Patwardhan et al., 2014). However, the clades obtained seem to globally show that the three subfamilies are not monophyletic (see below).

The TEPSI values are presented in Table 6. TEPSI values are usually higher for Bayesian than for parsimony trees. The global indices range between 0.71 and 1 and between 0.73 and 1, for parsimony and Bayesian trees, respectively. Low values were observed between trees obtained with the three mitochondrial markers and those obtained with 28S rRNA and HSP90 fragments. High indices were observed between the three mitochondrial trees, as well as between these latter trees and that obtained with ITSS. The information provided by the three nuclear markers does not seem to be globally redundant because the TEPSI values were not high; the largest values were observed between ITSS and 28S rRNA trees especially for the Bayesian analysis. Analysing these indices for each taxonomic level investigated, TEPSI values were very high (near 1) when comparing nodes clustering specimens of a same species; the six markers provided similar and reliable information for clustering specimens from the same species with total redundant information between 12S rRNA, COI

mtDNA, CYTB mtDNA and ITSS trees. At the genus level, TEPSI values were equal to 1 between the six markers for the genera *Phytoseiulus* and *Typhlodromus*, showing that the six markers provided similar and robust information to cluster species of these two genera. The trees obtained with 28S rRNA, ITSS, HSP90, COI mtDNA and CYTB mtDNA for the genus *Amblyseius* and with 28S, ITSS, COI mtDNA and CYTB mtDNA for *Euseius* provided well-supported clustering. At the tribe level, only the three nuclear markers (28S rRNA, ITSS and HSP90) showed congruent and reliable information for clustering genera of the tribe Euseiini. Finally, at the subfamily level, none of the six trees showed congruent clustering because, whatever the marker used, the trees obtained did not match with the most recent morphological classification (see below).

The combined data set and phylogenetic information reliability

The consistency index (0.65) and retention index (0.80) of the total evidence parsimony tree had intermediate values relative to those obtained for each individual analysis. The DD values were quite high for each marker (more than 0.75), the highest values being observed for the nuclear markers (28S rRNA, HSP90 and ITSS) (Table 4).

The bootstrap and posterior probability values obtained for the concatenated tree were globally higher than those obtained for each individual tree for all the

Table 5.
Mean bootstrap (BP) and posterior probability (PP) values after individual and concatenated data set analysis for each taxonomic rank considered. For the species level, the standard error is provided in parentheses.

Markers	Species level				Genus level				Tribe level				Sub-family level				Family level			
	BP		PP		Amblyseiinae		Phytoseiinae		Euseiinae		Typhlodrominae		Amblyseiinae		Phytoseiinae		Euseiinae		Typhlodrominae	
	mean	SE	mean	SE	mean	SE	mean	SE	mean	SE	mean	SE	mean	SE	mean	SE	mean	SE	mean	SE
28S rDNA	93 (11)	0.96 (0.06)	74	0.98	97	0.98	94	0.96	96	0.97	100	0.99	83	0.87	77	0.90	100	0.99	100	0.99
ITSS	99 (2)	0.97 (0.04)	99	0.98	94	0.98	97	0.98	97	0.97	100	0.98	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster
HSP 90	96 (3)	0.97 (0.03)	89	0.99	72	0.93	94	0.99	93	0.94	95	0.94	71	0.59	69	0.73	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster
12S rDNA	100 (0)	0.99 (0.01)	No	No	No	0.69	99	0.98	100	0.98	100	0.98	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster
COI mtDNA	100 (0)	0.98 (0.01)	86	0.97	No	0.92	99	0.97	98	0.96	98	0.96	No cluster	No cluster	Within	Within	Within	Within	Within	Within
CytB mtDNA	100 (0)	0.98 (0.01)	64	0.92	No	0.92	98	0.97	93	0.96	93	0.96	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster	No cluster
Global tree	100 (0)	0.99 (0.01)	100	0.96	100	0.97	100	0.97	100	0.96	100	0.96	No cluster	0.77	Within	Within	Within	Within	Within	Within

taxonomic levels investigated (Table 5). This is in accordance with previous observations that increasing the number of markers results in more well-resolved clades (e.g. Rokas and Carroll, 2005; Zheng and Wiens, 2016). At the species level, the mean bootstrap and posterior probability values were 100% and 0.99, respectively. These values were similar to those observed for the mitochondrial markers COI mtDNA, CytB mtDNA and 12S rRNA. Bootstrap values clustering species of the same genus (*Typhlodromus*, *Euseius*, *Amblyseius* and *Phytoseiulus*) and within a tribe (Euseiini) were also 100, this value being globally higher than those obtained for the individual analyses. Posterior probabilities for this taxa level were also high, ranging from 0.96 to 0.97 and globally higher than those obtained for most of the individual analyses. Considering relationships between taxa within the same subfamily or between subfamilies, bootstrap and posterior probabilities were not calculated, because the total evidence tree does not support the current morphological hypothesis. The genus *Phytoseius* (subfamily Phytoseiinae) was included within the Typhlodrominae subfamily. The subfamily Amblyseiinae seems to be polyphyletic and thus no bootstrap value supported this clade. Further analyses including more taxa would be necessary to fully attest the polyphyly of Amblyseiinae, the paraphyly of Typhlodrominae and the position of Phytoseiinae.

The global TEPSI values between individual and concatenated trees ranged from 0.73 (HSP90) to 1 (ITSS) for the parsimony analysis and from 0.74 (HSP90) to 1 (ITSS) for the Bayesian analysis. At the species level, the concatenated and the individual trees provided similar clusters. Total similarity was observed with the COI mtDNA, CytB mtDNA, 12S rRNA and ITSS trees. This suggests that for diagnostic purposes one of two of these markers will be sufficient. The combination of one mitochondrial and one nuclear marker can be recommended to benefit from information provided by both and limit their respective drawbacks for diagnostic inference (Avisé et al., 1987; Dayrat, 2005; Galtier et al., 2009).

At the genus level, the concatenated tree provided the same reliability of information as the six individual trees for the genera *Typhlodromus* and *Phytoseiulus*. For the genera *Amblyseius* and *Euseius*, the global tree provided similarly robust and reliable nodes as trees obtained with all of the markers except 12S rRNA and with ITSS, 28S rRNA, COI mtDNA and CYTB mtDNA, respectively. We can thus assume that if the purpose of a study is to characterize relationships of species within the same genus, then the use of the markers 28S rRNA, ITSS and COI mtDNA (or CYTB mtDNA) would be sufficient.

At the tribe level, the global tree provided similar information as that obtained with 28S rRNA, HSP90

Table 6
TEPSI (Tree Ecology Topology Similarity Index) values obtained after comparing the nodes of parsimony (PA) and Bayesian (BA) trees for the overall nodes and for the nodes clustering the taxonomic rank considered: species, genera and tribe

TEPSI values	Total tree			Species level			Genera levels						Tribe level			
	PA		BA	PA		BA	Amblyseius		Euseius		Phytoseiulus		Typhlodromus		Euseini	
	PA	BA		PA	BA		PA	BA	PA	BA	PA	BA	PA	BA	PA	BA
28S/HSP90	0.74	0.85		0.73	0.76	0.76	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1
28S/ITS	0.77	0.95		0.76	0.94	0.94	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28S/12S	0.71	0.73		0.81	0.88	0.88	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
28S/COI	0.71	0.82		0.81	0.88	0.88	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
28S/CYTB	0.71	0.82		0.81	0.88	0.88	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
ITS/HSP90	0.73	0.82		0.76	0.82	0.82	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1
ITS/12S	0.86	0.86		1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
ITS/COI	1	0.83		1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
ITS/CYTB	0.86	0.95		1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
HSP90/12S	0.75	0.76		0.81	0.88	0.88	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
HSP90/COI	0.75	0.77		0.81	0.88	0.88	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0
HSP90/CYTB	0.75	0.77		0.81	0.88	0.88	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0
COI/12S	1	0.90		1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
COI/CYTB	1	1		1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
CYTB/12S	1	0.90		1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
Global tree/28S	0.77	0.78		0.81	0.76	0.76	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
Global tree/HSP90	0.73	0.74		0.81	0.76	0.76	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1
Global tree/ITS	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Global tree/12S	0.86	0.86		1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
Global tree/COI	0.86	0.95		1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
Global tree/CYTB	0.86	0.95		1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0

and ITSS. It seems that the use of these three markers would be sufficient to provide robust information at this taxonomic level. However, as (i) only one tribe has been studied at present and (ii) the assumed divergence within the other Phytoseiidae tribes (as presently defined) is not known, it is thus better to be cautious and not substitute an overall analysis with an analysis taking into account only three markers.

Finally, for the subfamily level, none of the individual trees provided redundant information with the global tree. This clearly shows the suitability of concatenated data analyses for deeper nodes, even if the number of taxa should be increased to elucidate the present incongruence observed between molecular phylogeny and the accepted morphological classification.

Conclusion

First, this study provides new and efficient protocols for DNA amplification. This may seem an obvious result, but using older, less efficient protocols can be a blocking step in answering phylogenetic questions at various taxonomic levels. These methodological improvements are thus expected to help the scientific community working on Phytoseiidae systematics. Second, this study provides a comparison of information brought individually by each marker tested and globally by concatenated analysis at different taxonomic levels. The concatenated tree globally provides more robust and reliable information, especially for the deeper nodes. The present study thus lays the methodological foundations with which to test the present Phytoseiidae classification at various taxonomic levels. Clearly for species identification and for characterizing relationships within some of the genera tested, the combined use of six markers does not seem necessary. Such information is important for resizing studies (including cost considerations) depending on the objectives. Even though this paper provides consistent advances on molecular marker suitability, studies should continue to gather additional markers for assessing the backbone of Phytoseiidae evolution and more broadly its position within the Tree of Life. In addition to 18S amplification, attention could be paid to other markers used for inferring insect phylogeny, such as the wingless gene, the mitotic checkpoint control protein Bub3, the ribosomal protein L27a, RpL27a and the ribosomal protein S4, RpS4 (Al Khatib et al., 2016). Furthermore, with the development of Next Generation Sequencing technologies, full genomes will become more easily accessible, potentially leading to greater insights for phylogenetic studies (i.e. mitogenomic, phylogenomic and transcriptomic analyses) (e.g. Giribet and Edgecombe, 2012; McCormack et al., 2012; Simon et al., 2012; Pons et al., 2014).

Finally, comparing the phylogenetic signal and the ways to analyse it, we herein propose a new index based on ecological concepts, considering trees as a community of nodes. This index aims to compare trees obtained with different data sets, considering node reliability, repeatability and congruent taxonomic signals for different taxa levels. It furthermore indirectly determines redundant signal provided by several DNA markers. Further developments of this metric beyond calculating values by hand, as here, to automatic computation should make easier its implementation and comparison with other indices, and allow development of new, improved indices.

Acknowledgements

We thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Setor Bancário Norte (SBN), Quadra 2, Bloco L, Lote 06, Edifício Capes – CEP: 70.040-020 – Brasília, DF – Brazil for the PhD grant to Victor Dos Santos. We are very grateful to the two referees for their comments that improved the paper.

References

- Al Khatib, F., Cruaud, A., Fusu, L., Genson, G., Rasplus, J.-Y., Ris, N., Delvare, G., 2016. Multilocus phylogeny and ecological differentiation of “*Eupelmus urozonus* species group” (Hymenoptera: Eupelmidae) in the West-Palearctic. *BMC Evol. Biol.* 16, 13.
- Alfaro, M.E., Zoller, S., Lutzoni, F., 2003. Bayes or bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov Chain Monte Carlo sampling and bootstrapping in assessing phylogenetic confidence. *Mol. Biol. Evol.* 20, 255–266.
- Avisé, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lambt, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A., Saunders, N.C., 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18, 489–522.
- Black, W.C., IV, Piesman, J., 1994. Phylogeny of hard and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S ribosomal DNA sequences. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 91, 10034–10038.
- Black, W.C., IV, Roehrdanz, R.L., 1998. Mitochondrial gene order is not conserved in arthropods: Prostrialate and metastriate tick mitochondrial genomes. *Mol. Biol. Evol.* 15, 1772–1785.
- Black, W.C., IV, Klompen, J.S.H., Keirans, J.E., 1997. Phylogenetic relationships among tick subfamilies (Ixodida: Ixodidae: Argasidae) based on the 18S nuclear rDNA gene. *Mol. Phylogenet. Evol.* 7, 129–144.
- Bowman, H.M., Hoy, M.A., 2012. Molecular discrimination of phytoseiids associated with the red palm mite *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) from Mauritius and South Florida. *Exp. Appl. Acarol.* 57, 395–407.
- Caterino, M.S., Cho, S., Sperling, F.A.H., 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 1–54.
- Chant, D.A., McMurtry, J.A., 2007. Illustrated keys and diagnoses for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world (Acari: Mesostigmata). Indira Publishing House, West Bloomfield, MI, pp. 220.

- Chen, W.-J., Bonillo, C., Lecointre, G., 2003. Repeatability of clades as a criterion of reliability: a case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa. *Mol. Phylogenet. Evol.* 26, 262–288.
- Crosbie, P.R., Boyce, W.M., Rodwell, T.C., 1998. DNA sequence variation in *Dermacentor hunteri* and estimated phylogenies of *Dermacentor* spp. (Acari: Ixodidae) in the New World. *J. Med. Entomol.* 35, 277–288.
- Cruikshank, R.H., 2002. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Syst. Appl. Acarol.* 7, 3–14.
- Cunningham, C.W., 1997. Can three incongruence tests predict when data should be combined? *Mol. Biol. Evol.* 14, 733–740.
- Dabert, M., 2006. DNA markers in the phylogenetics of the Acari. *Biol. Lett.* 432, 97–107.
- Dabert, M., Witalinski, W., Kazmierski, A., Olszanowski, Z., Dabert, J., 2010. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56, 222–241.
- Dayrat, B., 2005. Towards integrative taxonomy. *Biol. J. Linn. Soc.* 85, 407–415.
- De Rojas, M., Mora, M.D., Ubeda, J.M., Cutillas, C., Navajas, M., Gevara, C., 2001. Phylogenetic relationships in rhinonyssid mites (Acari: Rhinonyssidae) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Exp. Appl. Acarol.* 25, 957–967.
- Demite, P.R., McMurtry, J.A., de Moraes, G.J., 2014. Phytoseiidae Database: a website for taxonomic and distributional information on phytoseiid mites (Acari). *Zootaxa* 3795, 571–577.
- Dobson, S.J., Barker, S.C., 1999. Phylogeny of the hard ticks (Ixodidae) inferred from 18S rDNA indicates that the genus *Aponomma* is paraphyletic. *Mol. Phylogenet. Evol.* 11, 288–295.
- Domes, K., Althammer, M., Norton, R.A., Scheu, S., Maraun, M., 2007. The phylogenetic relationship between Astigmata and Oribatida (Acari) as indicated by molecular markers. *Exp. Appl. Acarol.* 42, 159–171.
- Douady, C.J., Delsuc, F., Boucher, Y., Doolittle, W.F., Douzery, E.J.P., 2003. Comparison of Bayesian and maximum likelihood bootstrap measures of phylogenetic reliability. *Mol. Biol. Evol.* 20, 248–254.
- Dowling, A.P.G., O'Connor, B.M., 2010. Phylogenetic relationships within the suborder Dermansysina (Acari: Parasitiformes) and a test of dermansysoid monophyly. *Int. J. Acarol.* 36, 299–312.
- Drummond, A.J., Ashton, B., Cheung, M., Heled, J., Kearse, M., Moir, R., Stones-Havas, S., Thierer, T., Wilson, A., 2007. Geneious v3.5. Available from <http://www.geneious.com/>. Accessed July 2015.
- Dunlop, J.A., 2010. Geological history and phylogeny of Chelicerata. *Arthropod. Struct. Dev.* 39, 124–142.
- Farris, J.S., 1969. A successive approximations approach to character weighting. *Syst. Zool.* 18, 374–385.
- Farris, J.S., 1989. The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics* 5, 417–419.
- Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G., Bult, C., 1994. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10, 315–319.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783–791.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glemin, S., Hurst, G.D.D., 2009. Mitochondrial DNA as marker of molecular diversity: a reappraisal. *Mol. Ecol.* 18, 4541–4550.
- Giribet, G., Edgecombe, G.D., 2012. Reevaluating the arthropod tree of life. *Ann. Rev. Entomol.* 57, 167–186.
- Goldman, N., Anderson, J.P., Rodrigo, A.G., 2000. Likelihood-based tests of topologies in phylogenetics. *Syst. Biol.* 49, 652–670.
- Goloboff, P.A., 1991a. Random data, homoplasy and information. *Cladistics* 7, 395–406.
- Goloboff, P.A., 1991b. Homoplasy and the choice among cladograms. *Cladistics* 7, 215–232.
- Hillis, D.M., Bull, J.J., 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Syst. Biol.* 42, 182–192.
- Hillis, D.M., Dixon, M.T., 1991. Ribosomal DNA molecular evolution and phylogenetic inference. *Q. Rev. Biol.* 66, 410–453.
- Hoelzer, G.A., 1997. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial gene trees versus nuclear gene trees revisited. *Evolution* 51, 622–626.
- Holder, M., Lewis, P.O., 2003. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. *Nat. Rev.* 4, 275–284.
- Huelsenbeck, J.P., Larget, B., Miller, R.E., Ronquist, R., 2002. Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. *Syst. Biol.* 51, 673–688.
- Jeyaprakash, A., Hoy, M.A., 2002. Mitochondrial 12S rRNA sequences used to design a molecular ladder assay to identify six commercially available phytoseiids (Acari: Phytoseiidae). *Biol. Contr.* 25, 136–142.
- Jeyaprakash, A., Hoy, M.A., 2009. The nuclear genome of the phytoseiid *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae) is among the smallest known in arthropods? *Exp. Appl. Acarol.* 47, 263–273.
- Kanouh, M., Tixier, M.-S., Guichou, S., Cheval, B., Kreiter, S., 2010a. Two synonymy cases within the genus *Neoseiulella* Acari: Phytoseiidae: is the molecular evidence so evident? *Biol. J. Linn. Soc.* 101, 323–344.
- Kanouh, M., Tixier, M.-S., Okassa, M., Kreiter, S., 2010b. Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* Acari: Phytoseiidae. *Zool. Scr.* 39, 450–461.
- Klimov, P.B., O'Connor, B.M., 2008. Origin and higher-level relationships of psoroptidian mites (Acari: Astigmata: Psoroptidia): Evidence from three nuclear genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 47, 1135–1156.
- Klomp, H., 2000. A preliminary assessment of the utility of elongation factor-1 in elucidating relationships among basal Mesostigmata. *Exp. Appl. Acarol.* 24, 805–820.
- Klomp, H., 2010. Holothyrids and ticks: new insights from larval morphology and DNA sequencing, with the description of a new species of *Diplothyridus* (Parasitiformes: Neothyridae). *Acarologia* 50, 269–285.
- Klomp, H., Lekveishvili, M., Black, W.C., IV, 2007. Phylogeny of parasitiform mites (Acari) based on rRNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 43, 936–951.
- Kluge, A.G., Farris, J.S., 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Syst. Zool.* 18, 1–2.
- Kumar, S., Filipski, A., 2008. Molecular phylogeny reconstruction. In: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester.
- Laumann, M., Norton, A.R., Weigmann, G., Scheu, S., Maraun, M., Heethoff, M., 2007. Speciation in the parthenogenetic oribatid mite genus *Tectocepheus* (Acari, Oribatida) as indicated by molecular phylogeny. *Pedobiologia* 51, 111–122.
- Lekveishvili, M., Klomp, H., 2004. Phylogeny of infraorder Sejina (Acari: Mesostigmata). *Zootaxa* 629, 1–19.
- Li, B., Lecointre, G., 2009. Formalizing reliability in the taxonomic congruence approach. *Zool. Scr.* 38, 101–112.
- Mallatt, J.M., Garey, J.R., Shultz, J.W., 2004. Ecdysozoan phylogeny and Bayesian inference: Worst use of nearly complete 28S and 18S rRNA gene sequences to classify the arthropods and their kin. *Mol. Phylogenet. Evol.* 31, 178–191.
- Mangold, A.J., Bargues, M.D., Mas-Coma, S., 1998. 18S rRNA gene sequences and phylogenetic relationships of European hard-tick species (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 84, 31–37.
- Marcel-Houben, M., Gabaldon, T., 2011. TreeKO: a duplication-aware algorithm for the comparison of phylogenetic trees. *Nucleic Acids Res.* 39, krr087.
- Mauro, S.D., Agoretta, A., 2010. Molecular systematics: a synthesis of the common methods and the state of knowledge. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 15, 311–341.
- McCormack, J.E., Hird, S.M., Zellmer, A.J., Carstens, B.C., Brumfield, R.T., 2012. Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Mol. Phylogenet. Evol.* 66, 526–538.
- McMurtry, J.A., De Moraes, G.J., Sourasso, N.F., 2013. Revision of the life styles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and

- implications for biological control strategies. *Syst. Appl. Acarol.* 18, 297–320.
- Mickevich, M.F., Farris, F.J., 1981. The implications of congruence in *Menidia*. *Syst. Zool.* 30, 351–369.
- Moore, W.S., 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial gene trees versus nuclear gene trees. *Evolution* 49, 718–726.
- Moritz, C., Dowling, T.E., Brown, W.M., 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18, 269–292.
- Navajas, M., Fenton, B., 2000. The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: A review. *Exp. Appl. Acarol.* 24, 751–774.
- Navajas, M., Lagnel, J., Fauvel, G., Moraes, G.J., 1999. Sequence variation of Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Exp. Appl. Acarol.* 23, 851–859.
- Navia, D., Domingos, C.A., Mendonça, R.S., Ferragut, F., Rodrigues, M.A.N., de Moraes, E.G.F., Tixier, M.-S., Gondim, M.G.C., Jr., 2014. Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean islands and the Americas. *Biol. Contr.* 72, 17–29.
- Norris, D.E., Klompen, J.S.H., Keirans, J.E., Black, W.C., IV, 1996. Population genetics of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 16S and 12S genes. *J. Med. Entomol.* 33, 78–89.
- Norris, D.E., Klompen, J.S., Keirans, J.E., Lane, R.S., Piesman, J., Black, W.C., IV, 1997. Taxonomic status of *Ixodes neotomae* and *I. spinipalpis* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial DNA evidence. *J. Med. Entomol.* 34, 696–703.
- Norris, D.E., Klompen, J.S.H., Black, W.C., IV, 1999. Comparison of the mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA gene in resolving phylogenetic relationships among hard ticks (Acari: Ixodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90, 117–129.
- Okassa, M., Tixier, M.-S., Cheval, B., Kreiter, S., 2009. Molecular and morphological evidence for new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.* 87, 689–698.
- Okassa, M., Tixier, M.-S., Kreiter, S., 2010. Morphological and molecular diagnostic of *Phytoseiulus persimilis* and *Phytoseiulus macropilis* Acari: Phytoseiidae. *Exp. Appl. Acarol.* 53, 291–303.
- Okassa, M., Kreiter, S., Tixier, M.-S., 2012. Molecular identification of all life stages of a mite species (Mesostigmata: Phytoseiidae): *Typhlodromus (Typhlodromus) exilaratus*. *Exp. Appl. Acarol.* 57, 105–116.
- Patwardhan, A., Ray, S., Roy, A., 2014. Molecular markers in phylogenetic studies: A Review. *J. Phylogenetics Evol. Biol.* 2, 131–140.
- Philippe, H., Lecointre, G., Le Guyader, H.L., 1996. A critical study of homoplasy in molecular data with the use of a morphologically based cladogram, and its consequences for character weighting. *Mol. Biol. Ecol.* 13, 1174–1186.
- Phillips, A.J., 2006. Homology assessment and molecular sequence alignment. *J. Biomed. Inform.* 39, 18–33.
- Pons, J., Bauzá-Ribot, M.M., Jaume, D., Juan, C., 2014. Next-generation sequencing, phylogenetic signal and comparative mitogenomic analyses in Metacrangonyctidae (Amphipoda: Crustacea). *BMC Genom.* 15, 566.
- Posada, D., Crandall, K.A., 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Pyron, R.A., 2015. Post-molecular systematics and the future of phylogenetics. *Trends Ecol. Evol.* 30, 384–389.
- Rokas, A., Carroll, S.B., 2005. More genes or more taxa? The relative contribution of gene number and taxon number to phylogenetic accuracy. *Mol. Biol. Evol.* 22, 1337–1344.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Roy, L., Dowling, A.P.G., Chauve, C.M., Buronfosse, T., 2010. Diversity of phylogenetic information according to the locus and the taxonomic level: an example from a parasitic mesostigmatid mite genus. *Int. J. Mol. Sci.* 11, 1704–1734.
- Schaefer, I., Norton, R.A., Scheu, S., Maraun, M., 2010. Arthropod colonization of land linking molecules and fossils in oribatid mites (Acari, Oribatida). *Mol. Phylogenet. Evol.* 57, 113–121.
- Schäffer, S., Köhl Müller, S., Pfingstl, T., Sturmbauer, C., Krisper, G., 2010. Ancestral state reconstruction reveals multiple independent evolution of diagnostic morphological characters in the “Higher Oribatida” (Acari), conflicting with current classification schemes. *BMC Evol. Biol.* 10, 246–263.
- Selden, P.A., 1993. Arthropoda (Aglaspida, Pycnogonida and Chelicerata). In: Benton, M.J., (Ed.), *The Fossil Record 2*. Chapman & Hall, London, pp. 297–320.
- Simmons, M.P., Pickett, K.M., Miya, M., 2004. How meaningful are Bayesian support values? *Mol. Biol. Evol.* 21, 188–199.
- Simon, S., Narechania, A., DeSalle, R., Hadrys, H., 2012. Insect phylogenomics: exploring the source of incongruence using new transcriptomic data. *Genome Biol. Evol.* 4, 1295–1309.
- Soltis, S., Soltis, D.E., 2003. Applying the bootstrap in phylogeny reconstruction. *Stat. Sci.* 18, 256–267.
- Sonoda, S., Kohara, Y., Toyoshima, S., Kishimoto, S., Hinomoto, N., 2012. Phytoseiid mite species composition in Japanese peach orchards estimated using quantitative sequencing. *Exp. Appl. Acarol.* 56, 9–22.
- Sullivan, J., 1996. Combining data with different distributions of among-site variation. *Syst. Biol.* 45, 375–380.
- Suzuki, Y., Glazko, G.V., Nei, M., 2002. Overcredibility of molecular phylogenies obtained by Bayesian phylogenetics. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99, 16138–16143.
- Swofford, D.L., 2002. PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony and other methods. Ver. 4.0b.10. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 10, 2731–2739.
- Tautz, D., Arctander, P., Minelli, A., Thomas, R.H., Vogler, A.P., 2003. A plea for DNA taxonomy. *Trends Ecol. Evol.* 18, 70–74.
- Taylor, D.J., Piel, W.H., 2004. An assessment of accuracy, error, and conflict with support values from genome-scale phylogenetic data. *Mol. Biol. Evol.* 21, 1534–1537.
- Tixier, M.-S., Kreiter, S., 2014. Idiosomal setae in the the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata): variations, geographic distribution and taxonomic considerations. *Biol. J. Linn. Soc.* 112, 606–624.
- Tixier, M.-S., Kreiter, S., Barbar, Z., Ragusa, S., Cheval, B., 2006a. The status of two cryptic species: *Typhlodromus exilaratus* and *Typhlodromus phidatus* Athias-Henriot Acari: Phytoseiidae: consequences for taxonomy. *Zool. Scr.* 35, 115–122.
- Tixier, M.-S., Kreiter, S., Ferragut, F., Cheval, B., 2006b. The suspected synonymy of *Kampimodromus hmininai* McMurtry and *K. adrianae* Acari: Phytoseiidae: morphological and molecular investigations. *Can. J. Zool.* 84, 1216–1222.
- Tixier, M.-S., Kreiter, S., Croft, B. A., Cheval, B., 2008a. *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) from USA: morphological and molecular assessment of its density. *Bull. Entomol. Res.* 98, 125–134.
- Tixier, M.-S., Kreiter, S., Moraes, G.J., 2008b. Biogeographic distribution of the mites of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Biol. J. Linn. Soc.* 93, 845–856.
- Tixier, M.-S., Ferrero, M., Okassa, M., Guichou, S., Kreiter, S., 2010a. On the specific identity of specimens of *Phytoseiulus longipes* Evans Mesostigmata: Phytoseiidae showing different feeding behaviours: morphological and molecular analyses. *Bull. Entomol. Res.* 17, 1–11.
- Tixier, M.-S., Okassa, M., Liguori, M. L., Poinso, A., Salerno, B., Kreiter, S., 2010b. Voucher specimens for DNA sequences of phytoseiid mites (Acari: Mesostigmata). *Acarologia* 22, 487–494.
- Tixier, M.-S., Okassa, M., Kreiter, S., 2012. An integrative morphological and molecular diagnostics for *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). *Zool. Scr.* 41, 68–78.

- Tixier, M.-S., Otto, J., Kreiter, S., Vicente, V., Beard, J., 2014. Is *Neoseiulus wearni* the *Neoseiulus californicus* of Australia? Exp. Appl. Acarol. 62, 267–277.
- Tsolakis, H., Tixier, M.-S., Kreiter, S., Ragusa, S., 2012. The genus concept within the family Phytoseiidae (Acar: Parasitiformes). Historical review and phylogenetic analyses of the genus *Neoseiulus* Hughes. Zool. J. Linn. Soc. 165, 253–273.
- Walter, D., Proctor, H., 1999. Mites, Ecology, evolution and behaviour. CABI publishing, Wallingford, U.K., pp. 322.
- Wiens, J.J., 1998a. Combining data sets with different phylogenetic histories. Syst. Biol. 47, 568–581.
- Wiens, J.J., 1998b. Does adding characters with missing data increase or decrease phylogenetic accuracy? Syst. Biol. 47, 625–640.
- Wiens, J.J., Fetzner, J.W., Parkinson, C.L., Reeder, T.W., 2005. Hylid frog phylogeny and sampling strategies for speciose clades. Syst. Biol. 54, 719–748.
- Xia, X., Xie, Z., Salemi, M., Chen, L., Wang, Y., 2003. An index of substitution saturation and its application. Mol. Phylogenet. Evol. 26, 1–7.
- Yli-Mattila, T., Paavananen-Huhtala, S., Fenton, B., Tuovinen, T., 2000. Species and strains identification of the predatory mite *Euseius finlandicus* by RAPD-PCR and ITS sequences. Exp. Appl. Acarol. 24, 863–880.
- Zheng, Y., Wiens, J.J., 2016. Combining phylogenomic and supermatrix approaches, and a time-calibrated phylogeny for squamate reptiles (lizards and snakes) based on 52 genes and 4,162 species. Mol. Phylogenet. Evol. 94, 537–547. Online first.

CHAPITRE V : SYSTÉMATIQUE DES PHYTOSEIIDAE : ÉTUDE DES RELATIONS PHYLOGÉNÉTIQUES DE LA TRIBU EUSEIINI CHANT & MCMURTRY

5.1. Problématique

Les définitions actuellement acceptées des taxa supra-spécifiques (genres, sous-genres, tribus, sous-tribus et sous-familles) des Phytoseiidae ont été conçues à partir des caractères morphologiques dont la nature synapomorphique a été présumée (sans analyses phylogénétiques) par Chant et McMurtry sur la base de l'expertise de ces deux grands acarologistes (Tsolakis *et al.*, 2012 ; Tsolakis & Ragusa, 2015).

L'utilisation des approches moléculaires a permis d'établir des relations phylogénétiques et d'émettre des hypothèses évolutives pour les acariens de la famille des Phytoseiidae mais uniquement pour deux genres (Kanouh *et al.*, 2010a ; Tsolakis *et al.*, 2012). L'absence de marqueurs moléculaires et de méthodologie d'analyse adaptés à l'étude phylogénétique supra-spécifique des Phytoseiidae a été la principale limite au développement d'études de phylogénie moléculaire de cette famille. Le faible nombre de caractères morphologiques utilisés pour définir les taxa supra-spécifiques et les convergences évolutives potentielles associées à la difficulté de définir des homologues constituent une autre difficulté majeure. L'utilisation des marqueurs moléculaires mis au point dans le chapitre précédent permet désormais de tester les hypothèses de classifications morphologiques et nous allons aborder dans ce chapitre le cas de la tribu Euseiini.

Il s'agira ici de vérifier la monophylie de la tribu, sous-tribus et des genres qui la constituent. La confrontation de ces résultats aux caractères morphologiques proposés par Chant & McMurtry (2007) permettra de vérifier si les hypothèses soutenant la classification sont pertinentes. L'utilisation de données biogéographiques et écologiques (plante-hôte) a pour objectif d'établir des hypothèses expliquant l'évolution spatiale et biologique de ces taxa.

5.2. Les définitions de la tribu Euseiini Chant & McMurtry

La tribu Euseiini Chant & McMurtry compte actuellement 271 espèces distribuées dans toutes les régions biogéographiques du monde (Tixier *et. al.*, 2008c ; Demite *et al.*, 2014). C'est la troisième plus grande tribu de la famille des Phytoseiidae. Chant & McMurtry (2005b) ont choisi quinze caractères morphologiques discrets et continus pour proposer une subdivision en trois sous-tribus (Ricoseiina, Typhlodromalina et Euseiina). La sous-tribu Ricoseiina est composée d'un seul genre, *Ricoseius* De Leon, lui même ne comprenant qu'une seule espèce. La sous-tribu Typhlodromalina est composée de six genres, *Typhlodromalus* Muma (24 espèces), *Tenuisternum* Fiaboe Moraes & Gondim (1 espèce), *Amblydromalus* Chant & McMurtry (21 espèces), *Quadromalus* Moraes, Denmark & Guerrero (1 espèce), *Prasadromalus* Chant & McMurtry (1 espèce) et *Ueckermannseius* Chant & McMurtry (21 espèces). Enfin, la sous-tribu Euseiina est composée de trois genres, *Euseius* Wainstein (199 espèces), *Moraeseius* Chant & McMurtry (1 espèce) et *Iphiseius* Berlese (1 espèce). Malgré le grand nombre d'espèces inclus dans le genre *Euseius*, un seul travail (Lopes *et al.*, 2015) propose une sous-division de ce groupe. Il s'agit du « *concordis group* » composé de 12 espèces : *Euseius brevifistulae* Karg, *Euseius concordis* (Chant), *Euseius emanus* (El-Banhawy), *Euseius fructicolus* (Gonzalez & Schuster), *Euseius hibisci* (Chant), *Euseius mesembrinus* (Dean), *Euseius neolokele* Moraes, Ueckermann & Oliveira, *Euseius passiflorus* Denmark & Evans, *Euseius quetzali* McMurtry, *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot), *Euseius tularensis* Congdon et *Euseius vivax* (Chant & Baker). Les relations morphologiques entre les trois sous-tribus et les dix genres de cette tribu proposées par Chant & McMurtry (2005b) sont présentées sur la **Figure 7**.

Certains genres appartenant à d'autres tribus (e.g. *Amblyseiini* Muma, *Neoseiulini* Chant & McMurtry, *Typhlodromipsini* Chant & McMurtry) partagent certaines synapomorphies proposées pour la tribu Euseiini (e.g. le ratio des soies *s4* : *Z1*, la forme du bouclier sternal et ventrianal des femelles, le bouclier génital plus large que le bouclier ventrianal, le bouclier sternal convexe ou lobé), ce qui questionne la pertinence de la tribu et celle des groupes qui la composent.

5.3. Les défis à relever et les solutions proposées

L'échantillonnage des spécimens (« complétude ») est un élément important pour établir les relations phylogénétiques, car l'absence de taxa peut entraîner des incohérences dans la formation des clades (Patwardhan *et al.*, 2014). Cependant, chez les Phytoseiidae, 39% des genres sont monotypiques, et un grand nombre d'espèces sont rares et endémiques de contrées lointaines, rendant l'activité de prospection des espèces complexe. Plus précisément, dans le cas de la tribu Euseiini, la sous-tribu Ricoseiina n'est composée que d'un seul genre monospécifique ; parmi les 9 autres genres, cinq sont monospécifiques, et d'autres genres sont également constitués d'espèces rares, présentes dans des pays éloignés, difficiles à prospecter. Ceci signifie que la phylogénie établie allait être incomplète car nous ne pouvions pas échantillonner tous les représentants de cette tribu pour obtenir du matériel frais duquel l'ADN pouvait être extrait. Les solutions proposées ont été les suivantes :

- Nous avons recherché dans la base de données mondiale Genbank si des séquences d'ADN d'espèces de la tribu Euseiini étaient disponibles ;
- Nous avons réalisé une analyse biogéographique et écologique (plantes hôtes) des espèces comprises dans les analyses moléculaires mais aussi de tous les représentants de la tribu par une compilation bibliographique de tous les signalements de ces espèces afin d'établir sur la base de ces informations des scénarios évolutifs au niveau spatial et biologique.

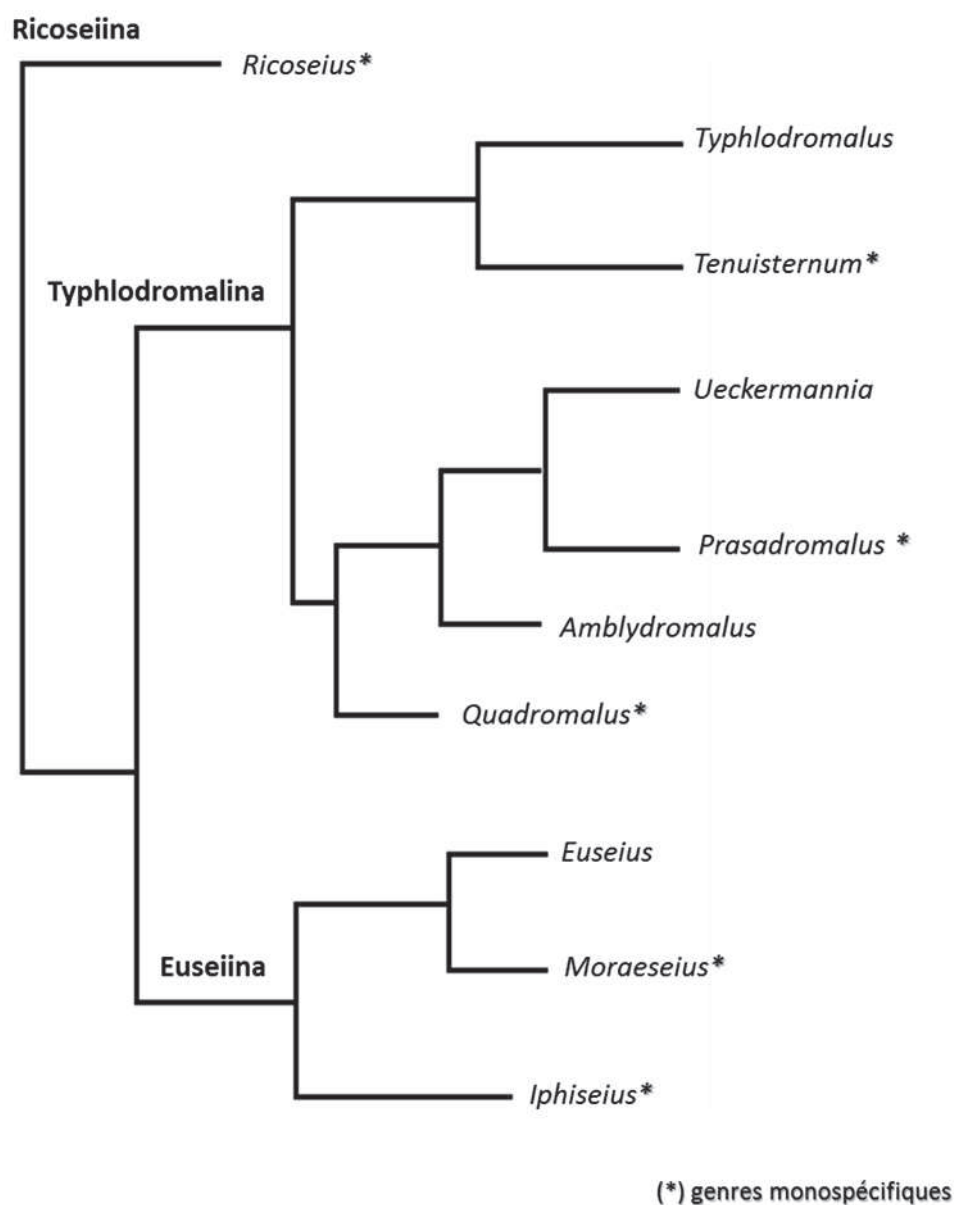


Figure 7. Représentation sous forme d'arbre de la classification proposée pour les genres de la tribu Euseiini Chant & McMurtry d'après Chant & McMurtry (2005b).

5.4. L'étude réalisée et ses principales conclusions

Malgré les efforts pour obtenir l'unique espèce de la sous-tribu Ricoseiina (*Ricoseius loxocheles*), il n'a pas été possible d'inclure ce taxon dans cette étude. Nous avons réussi à obtenir par nos propres moyens et par une recherche dans Genbank les séquences de dix-sept espèces de la tribu Euseiini. Pour la sous-tribu Typhlodromalina, deux espèces appartenant à deux genres (*Amblydromalus*

limonicus et *Typhlodromalus aripo*) ont été considérées. Pour la sous-tribu Euseiina, 14 espèces du genre *Euseius* et l'unique espèce du genre *Iphiseius* ont été étudiées. Des espèces d'autres tribus de la sous-famille Amblyseiinae à laquelle appartient la tribu Euseiini ont été incluses dans l'analyse afin de vérifier la monophylie de la tribu Euseiini. L'espèce *Typhlodromus* (T.) *exhilaratus* de la sous-famille Typhlodrominae a été choisie comme groupe externe. Les analyses moléculaires (extractions, amplifications et séquençages) et les analyses phylogénétiques (alignements des séquences, déterminations des modèles et implémentations bayésiennes) ont été identiques à celles décrites antérieurement dans le **chapitre IV (section 4.5.)**. Des caractères morphologiques continus (longueur des soies dorsales) et certains caractères morphologiques discrets (e.g. forme de la spermathèque, longueur du pérित्रème, forme du bouclier ventrianal, forme de la macrosoie sur la patte IV, sclérotisation du dorsum) ont été observés afin d'expliquer les clades obtenus sur l'arbre phylogénétique. Des analyses biogéographiques et écologiques ont été réalisées pour les 17 espèces d'Euseiini incluses dans l'analyse phylogénétique ainsi que les 271 espèces de la tribu. Dans le premier cas, les données biogéographiques et écologiques ont été analysées à partir du modèle de dispersion-extinction-cladogenèse (DEC) implémenté avec le logiciel RASP. Pour le deuxième cas, des analyses de diversité et endémisme ont été réalisées. Ce travail a confirmé les hypothèses de Chant et McMurtry (2005b) quant à la monophylie de la tribu Euseiini et des deux sous-tribus étudiées. Cependant, pour la sous-tribu Euseiina, nous avons montré que le genre *Iphiseius* ne semble pas être valide, puisqu'inclus dans le clade formé par les espèces du genre *Euseius*. Trois clades ont été observés dans ce dernier genre. Le clade formé par *E. concordis*, *E. citrifolius*, *E. tularensis*, *E. stipulatus* et *E. scutalis* a confirmé partiellement le « *concordis group* » proposé par Lopes *et al.* (2015). Un autre clade était constitué par *E. finlandicus*, *E. alangii*, *E. gallicus*, *E. ovalis*, *E. nicholsi*, *E. noumeae*, *E. ovaloides* et *E. sojaensis*. Ce clade comprenait plutôt des espèces orientales et australasiennes. Ce résultat re-soulève la question de l'identité *Euseius gallicus* (utilisée depuis peu en agriculture et commercialisée). Cette espèce a été décrite récemment de France mais lors de la description les auteurs ont noté des ressemblances avec une espèce de la région orientale *Euseius longiverticalis* (Liang & Ke) (Tixier *et al.*, 2010c). Ce travail

phylogénétique et la présence de *E. gallicus* dans le clade oriental permet d'émettre deux hypothèses : (i) *E. gallicus* et *E. longiverticilis* sont synonymes et les individus identifiés comme *E. gallicus* en Europe de l'Ouest sont des individus invasifs de *E. longiverticilis* ou (ii) *E. gallicus* et *E. longiverticilis* sont deux espèces différentes mais *E. gallicus* aurait été introduite en Europe. Ces deux hypothèses semblent d'autant plus vraisemblables que *E. gallicus* n'est pas une espèce rare, pourtant il a fallu attendre 2010 pour la décrire, alors que les espèces courantes en Europe sont décrites depuis longtemps. On voit bien ici l'utilité de ces approches pour mieux caractériser et comprendre le comportement d'espèces d'auxiliaires utilisées en lutte biologique.

Concernant les scénarios évolutifs, les analyses phylogénétiques, biogéographiques et écologiques tendent vers la même conclusion : l'origine de la tribu Euseiini tribe semble être la partie Ouest Gondwanienne (Afrique et Amérique du Sud) sur des plantes de la classe des Rosides et notamment des ordres des Malpighiales et Fabales (sous-classe Fabidae). Certaines hypothèses concernant l'évolution de l'appareil d'insémination femelle (spermathèque) sont proposées avec une forme ancestrale de type cervix filamenteux principalement observée pour des taxa présents en Afrique et en position basale dans l'arbre.

Ce travail pose les premières bases des analyses phylogénétiques de la tribu Euseiini. Il montre la pertinence des marqueurs utilisés pour résoudre des nœuds et appréhender des histoires évolutives anciennes. Il a permis par des approches intégratives d'émettre des scénarios évolutifs. Cependant, des études complémentaires doivent être poursuivies d'une part pour obtenir un échantillon d'espèces plus étoffé notamment dans la zone éthiopienne et d'autre part associer à ces phylogénies des attributs morphologiques plus fins (nécessitant des observations au microscope à balayage électronique) et des attributs biologiques permettant d'appréhender l'utilisation potentielle de certaines espèces en lutte biologique (proies, adaptations, spécificité, proies alternatives ...).

5.5. Article: Integrative taxonomy approach for analysing evolutionary history of the tribe Euseiini Chant & McMurtry (Acari: Phytoseiidae) - Soumis à Systematics and Biodiversity

Submitted to Systematics and diversity

**Integrative taxonomy approach for analysing evolutionary history of the tribe
Euseiini Chant & McMurtry (Acari: Phytoseiidae)**

Vicente dos Santos V., Tixier M.-S.*

Montpellier SupAgro, Unité Mixte de Recherche Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (INRA/ IRD/ CIRAD/ Montpellier SupAgro), Campus International de Baillarguet, CS 30016, 34988 Montferrier-sur-Lez cedex, France.

victor.vicente@supagro.fr

marie-stephane.tixier@supagro.fr

* Corresponding author

Abstract

Phylogenetic relationships within the mite family Phytoseiidae are little known. The presently accepted classification is based on opinion of specialists but not on cladistics analysis. The present paper focuses on the tribe Euseiini, containing 271 species, three subtribes and ten genera. It aims to determine phylogenetic relationships between these taxa and test their monophyly. Molecular analysis combining six markers has been carried out for taxa we succeed to collect. Morphological, biogeographic and ecological data have been analysed to determine how these factors can explain the evolutionary relationships emphasized on the phylogenetic tree. Those analyses have been carried out for the taxa available for the molecular study but also for all species of the tribe. The tribe Euseiini and the two subtribes considered are monophyletic (at least considering the available taxa), supporting the present hypothesis on Phytoseiidae classification. However the genus *Iphiseius* seems to not be valid and its unique species is included in the genus *Euseius*. The clades observed within the genus *Euseius* do not match with recent work on species groups within this genus. It seems that some morphological features, as insemination apparatus shape and seta length on dorsal shield constitute some elements explaining the clusters within the genus *Euseius*. Biogeographic and ecological data analysis allowed to hypothesize a west Gondwanian origin of the tribe Euseiini (Africa and Neotropical areas) on Rosids plants (especially of the orders Malpighiales and Fabales: subclass Fabidae). Further analyses are still required to (i) take into account more taxa (especially rare ones and species from Ethiopian part), (ii) to considerer more accurate morphological features through more powerful microscopic apparatus and (iii) to associate phylogenetic and evolutionary scenario to life traits (pollen feeders).

Keywords: *Euseius*; *Iphiseius*; molecular markers; phylogeny; biogeography; plants.

Introduction

Assessing evolutionary history of organisms is a key issue to understand biodiversity, present and future ecological interactions and to establish taxonomical classifications (Bull and Wichman, 2001; Losos *et al.*, 2013). However, evolutionary studies face difficulties, as it comes to hypothesize past events based mainly on the features of present organisms. Mite evolutionary history is for instance poorly known mainly because of (i) the small size of these organisms associated to the difficulties to observe morphological structures, to accurately identify homologies and to consider a sufficient number of characters for obtaining sustained phylogenies and (ii) the rarity of fossils and the associated difficulty to provide an evolutionary interpretation of the morphological characters observed (analogy vs homology). Recent molecular developments in Acari greatly contributed to the resolution of some taxonomic issues, mainly at species levels (within barcoding approach) and in more rare cases at supraspecific levels (i.e. for the order Metastigmata - Ixodidae and for the orders Astigmata, Cryptostigmata and Mesostigmata) (i.e. Navajas and Fenton, 2000; De Rojas *et al.*, 2001; Cruickshank, 2002; Lekveishvili and Klompen, 2004; Dabert, 2006; Klompen, Lekveishvili and Black, 2007; Domes, Althammer, Norton, Scheu and Maraun, 2007; Klimov and O'Connor, 2008; Dabert, Witalinski, Kazmierski, Olszanowski and Dabert, 2010; Roy, Dowling, Chauve and Buronfosse, 2010; Schäffer, Koblmüller, Pfingstl, Sturmbauer and Krisper, 2010; Dowling and O'Connor, 2010; Sourassou, Moraes, Delalibera and Soares Correa, 2015). However, molecular phylogeny is not either a panacea, as it has to face some methodological and taxa completion difficulties. First, DNA fragments should provide the appropriate information depending on the taxonomic level investigated (Patwardhan, Ray and Roy, 2014; Dos Santos and Tixier, 2016). Second, for carrying out molecular experiments, preserved specimens in alcohol 100% are required contrarily to morphological analyses that can be performed on museum material as well on description and re-description of taxa. Yet, retrieve live specimens especially for rare species and/or species present in foreign countries (sometimes associated to permit obtaining) constitutes a real challenge. For this, integrative studies considering a beam of different characters are usually required to increase the chance to propose correct evolutionary scenario (Padial, Miralles, De la Riva and Vences, 2010; Schlick-Steiner, Steiner, Seifert, Stauffer, Christian and Crozier, 2010).

The present study focuses on mites belonging to the family Phytoseiidae (order Mesostigmata). Phytoseiidae species are essentially studied for applied interests in biological control, as they are predators currently used in crops for controlling phytophagous mites and small insects (McMurtry and Croft, 1997; Gerson, Smiley and Ochoa, 2005; McMurtry, De Moraes and Sourassou, 2013). Assessing evolutionary history has thus a fundamental aim but also at a longer term, an applied one: associate phylogenetic relationships to life traits for predicting unknown biological features of taxa based on their phylogenetic proximity with others whose biology is known (Whitfeld, Novotny, Miller, Hrcek, Klimes and Weiblen, 2012). The presently accepted Phytoseiidae classification proposed by Chant and McMurtry (2007) is not based on phylogenetic analyses, and only reflects the opinion of these two specialists on the morphological proximity between the taxa. Such a classification is not thus scientifically proved and can be only considered as a hypothesis that should be tested. Furthermore, the two phylogenetic analyses carried out since now at genus level (*Neoseiulus* and *Phytoseiulus*) combining morphological and molecular analyses (Kanouh, Tixier, Okassa and Kreiter, 2010b; Tsolakis, Tixier, Kreiter and Ragusa, 2012) as well as biogeographical data (Tixier, Kreiter and Moraes, 2008) question the current accepted classification. These elements clearly emphasize the necessity to carry out cladistic analyses for assessing the phylogenetic relationships between taxa of this family. The present study aims to assess phylogenetic relationships between taxa of the tribe Euseiini accounting for 271 species and ten genera among 2,400 species and 91 genera contained in the family Phytoseiidae. This tribe is the third most diverse one within this family with one genus (*Euseius*) accounting for 73% of the species of the tribe. Chant and McMurtry (2005) proposed its division into three subtribes: Euseiina (including three genera *Euseius* - 199 species, *Iphiseius* - 1 species and *Moraeseius* - 1 species), Ricoseiina (including one genus *Ricoseius* - 1 species) and Typhlodromalina (including six genera *Typhlodromalus* - 24 species, *Amblydromalus* - 21 species, *Tenuisternum* - 1 species, *Prasadromus* - 1 species, *Quadromalus* - 1 species, *Ueckermannseius* - 21 species) (Chant and McMurtry, 2005, Demite, Moraes, McMurtry, Denmark and Castilho, 2017). The morphological features sustaining these taxa are not exclusive apomorphies and are also present in other genera included in other tribes questioning the monophyly of this tribe and the genera it contains. This study aims to provide some elements for contributing to resolve these latter interrogations (i) using

molecular data and performing phylogenetic analyses for the taxa we succeed to retrieve and (ii) analysing biogeographical and ecological (plants) features considering all Euseiini species. This study is an integrative taxonomic approach consisting in gathering evidences of different nature with the objective to propose hypothetical evolutionary scenarios.

Material and Methods

Molecular phylogeny

Taxa considered. Because of the rarity of some of the taxa included in the tribe Euseiini, their distribution in remote countries and difficulties to retrieve these species, it has been impossible to get all the representatives of the tribe. The molecular study considers 16 species included in two subtribes and four genera.

Within the subtribe Typhlodromalina, two species belonging to two genera were considered: *Typhlodromalus aripo* De Leon and *Amblydromalus limonicus* Garman & McGregor. It has been impossible to consider representatives of the three other Typhlodromalina genera: *Tenuisternum* (1 species reported once in Brazil), *Ueckermannseius* (21 species mainly reported from Africa and two species in South America), *Prasadromalus* (1 species reported once in Nigeria) and *Quadromalus* (1 species reported twice in South America and in West Indies). For the subtribe Euseiina, 14 species belonging to two genera (13 species in the genus *Euseius* and one in the genus *Iphiseius*) have been considered. The genus *Euseius* is the most diverse within the tribe Euseiini (with 199 valid species) and the genus *Iphiseius* only contains one species. Because of the high number of species in the genus *Euseius* and their rarity for most of them, it was impossible to retrieve all species of this genus. However to make our sample reflect most as possible this genus diversity, the thirteen *Euseius* species herein considered were collected in all the continents and present diverse morphological attributes as for instance dorsal seta length, insemination apparatus shape and dorsal reticulation. It has been impossible to get representatives of the third genus of the subtribe Euseiina: *Moraeseius* (one species reported three times in Africa: Kenya, Mozambique and South Africa).

Finally, it has been also impossible to consider species of the subtribe Ricoseiina that contains one genus and one species (*Ricoseius loxocheles* only present in South America).

For answering the monophyly of the tribe Euseiini, species of other tribes of the same subfamily (Amblyseiinae) were considered: Phytoseiulini, Amblyseiini, Typhlodromipsini, Neoseiulini and Kampimodromini (Table 1). Some species and genera were chosen because of morphological common characters with the tribe Euseiini, as aligned position of setae on the ventrianal shield and genital shield wider than ventrianal shield observed for species of *Amblyseius* (especially the *largoensis* group) and sternal shield convex or lobed observed within the genus *Knopkirie* (tribe Typhlodromipsini).

The outgroup species, *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) *exhilaratus* Ragusa, belongs to the subfamily Typhlodrominae. The Table 1 presents the locations where the species studied were collected, the sequence accession numbers in Genbank for the DNA fragments herein obtained and those already published by present or other authors.

Molecular analyses. Six DNA markers, three mitochondrial (12S rRNA; COI mt DNA, CytB mtDNA) and three nuclear (28S rRNA, HSP90: Heat Shock Protein 90, ITSS: Internal Transcribed Spacer I and Internal Transcribed Spacer II) were used, as they have recently proven to be effective when combined for solving phylogenetic relationships at supraspecific level within the family Phytoseiidae (Dos Santos and Tixier, 2016). DNA was individually extracted using Qiagen DNA Blood Tissue kit as accurately presented in Kanouh, Tixier, Guichou, Cheval and Kreiter (2010a). The voucher specimens were retrieved and mounted on slides after the extraction (Tixier *et al.* 2010b). The PCR reactions, as well as electrophoresis were performed using the same protocols, conditions and recommendations as in Dos Santos and Tixier (2016). The PCR products were purified using ExoSAP-IT (Amersham) and sequenced along both strands using Dynamic ET Terminator Cycle Sequencing kit. The sequencer used was the Megabase 1,000 apparatus. The sequences were compared to previously published sequences using BLAST; they were aligned using CodonCode Aligner (4.0.4.) (CodonCode, Inc., Centerville, MA, USA). Despite many attempts, it has been impossible to successfully amplify 28S rRNA, CytB mt DNA and HSP90 fragments for *Euseius concordis* (Chant). For the species *Euseius nicholsi* (Ehara & Li) all sequences were retrieved from Genbank, but sequences for the 28S rRNA and HSP90 were not available. Although several sequences were missing, we have analysed the combined data set following Wiens (1998, 2015), who demonstrated, by performing multiple analyses of simulated data sets, that the addition of an incomplete data set to a complete data set is more likely to increase than decrease the

phylogenetic accuracy. Bayesian analysis was carried out for concatenated data (applying partition procedure) using MrBayes 3.1 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003). The best-fit-substitution models were determined by Modeltest 3.06 (Posada and Crandall, 1998) in (PAUP*, v.4.0b.10 / Swofford, 2002) through hierarchical likelihood-ratio tests. The number of categories used to approximate the gamma distribution was set at four, and four Markov chains were run for 100000 generations. Stabilisation of model parameters (burn-in) occurred around 250 generations.

Morphological features. To determine how morphological characters can explain the clades observed on the molecular phylogenetic tree, key characters have been observed. Lengths of the dorsal seta and macrosetae on leg IV were retrieved from original description. Other characters were also recorded as the shape of the calyx of the insemination apparatus, reticulation of dorsal shield, peritrem length and chelicera dentition. Terminologies for chaetotaxy used in this paper follow those proposed by Lindquist and Evans (1965) as adapted by Rowell, Chant and Hansell (1978) for Phytoseiidae.

Biogeographical features

Data compilation. Data on Phytoseiidae geographic distribution were obtained from the update world Phytoseiidae catalogue available on line (<http://www.lea.esalq.usp.br/newphytoseiidae/web/busca/especie?query=iphiseius&p=1>) (Demite *et al.* 2017). The biogeographic regions used have been adapted to those proposed by Humphries & Parenti (1999), Cox (2001) and Tixier *et al.* (2008), separating West and East Palearctic and Ethiopian regions in two zones each. Ten areas were considered: Nearctic (North America without Florida), Neotropical (South and Central America, Caribbean islands and Florida), West Palaearctic 1 (West Europe extending to Ural), West Palaearctic 2 (North Africa and Mediterranean South of Europe), East Palaearctic 1 (from Ural to Japan, without the South of China and Hokinawa, Japan), East Palaearctic 2 (South of China and Hokinawa, Japan), Oriental (Taiwan, Malaysia, Philippines, Indonesia, India, South of China, Hong Kong, Thailand, South Korea), Australasian (Australia, New Zealand, New Caledonia, Papua New Guinea, Pacific islands), Ethiopian 1 (Africa not including Madagascar) and Ethiopian 2 (Madagascar, Mauritius, Seychelles, La Réunion).

The occurrence (presence/absence) of 271 species of the tribe Euseiini in those ten regions was registered in a matrix comprising 4,431 records. For some species especially those used in biological control, occurrence in countries where they have

been introduced were not considered, i.e. *T. aripo* originated from South America and introduced in Africa for controlling *Monychellus tanajoa* on cassava (Yaninek & Hanna, 2003) and *A. limonicus* originated from South America and accidentally introduced in Spain (Escudero-Colomar and Choraży, 2012).

Biogeographical analyses. Species and genus numbers, as well as endemism levels were considered. Two endemism rates have been calculated at species level: (i) considering the number of endemic species among the total number of species within the area considered and (ii) considering the number of endemic species among the total number of species within the taxa considered (tribe or subtribe). For the taxa used in the phylogenetic analyses, dispersal-extinction-cladogenesis model analysis (DEC) with an unconstrained model allowing for equal rates of dispersal (1.0) between areas at any time), was carried out using the RASP program v. 3.02. (Yu, Harris, Blair and He, 2015) based on the Bayesian tree inferred and the biogeographic distribution pattern (Ronquist and Sanmartín, 2011). The out-group was removed before analyses.

Plant features

Data compilation. Phytoseiidae mites even if predators are affected by the plants on which they live (i.e. McMurtry *et al.*, 2013). For this, relationships between plant and the species of the tribe Euseiini were studied. Plant species where Euseiini species have been collected were retrieved from publications reporting species of this tribe. Information contained in 669 publications (i.e. 4,431 records) was compiled. Plant families and orders were associated to plant species using the most recent classification of plant APG IV (Chase *et al.*, 2016).

Data analyses. The diversity of plant orders and families where species of the tribe Euseiini, the subtribes and genera were observed was assessed. The number of plant orders and families where these taxa were retrieved in each of the 10 biogeographical regions was also determined. In order to determine the ancestral plant orders and families of the taxa considered in the phylogenetic analyses, a RASP analysis was considered as previously described for geographical analysis. Ten plant orders and eight plant families were considered, i.e. the ones where the highest diversity was observed.

Results and Discussion

Phylogenetic tree and evolutionary relationships

A total number of 3,477 pb were considered, with 848, 632, 517, 409, 694 and 377 bp for 28S, ITSS, HSP90, 12S rRNA, COI and Cytb DNA markers, respectively. The strict Bayesian consensus tree (figure 1) leads to conclusions at different taxonomic level.

The tribe level. All species of the tribe Euseiini herein considered are included in a well-sustained clade clearly separated from other tribes, supporting thus the monophyly of the tribe Euseiini and the morphological apomorphies defined by Chant and McMurtry (2005, 2007). The genus *Knokpirie* even if sharing some morphological similarities with Euseiini species belongs to a clearly different clade. Even if the two species of the genus *Amblyseius* – *largoensis* species group share morphological similarities with the tribe Euseiini, they do not belong to the same clade as species of this tribe. They are however phylogenetically close to Euseiini. Furthermore, the phylogenetic tree clearly shows that the genus *Amblyseius* is polyphyletic as the four *Amblyseius* species considered are included in two separated clades corresponding to two species groups defined by Chant and McMurtry (2007) : *largoensis* species and *andersoni* species group. Further analyses considering more species of this genus would be required to confirm its polyphyly.

The subtribe level. The two species of the genera belonging to the subtribe Typhlodromalina (*Amblydromalus* and *Typhlodromalus*) are included in a same clade, supporting the monophyly of this subtribe even if for definitive conclusion the other four Typhlodromalina genera would have to be considered. The genera *Euseius* and *Iphiseius* belonging to the subtribe Euseiina are also included in a same well-sustained clade supporting the monophyly of this subtribe. However, final conclusion would require including the genus *Moraeseius* in the analysis.

The genus level. The thirteen *Euseius* species considered are included in a same clade, sustaining the monophyly of this genus and the validity of Chant and McMurtry (2005, 2007) hypotheses. However, the unique species of the genus *Iphiseius* (*Iphiseius degenerans*) is also included within this latter clade (close to *Euseius fustis*), suggesting that this genus is not valid. *Iphiseius degenerans* was placed in a separated genus because of the ventrianal shield division in ventral and anal shield, dorsal and integument heavy sclerotinisation and sternal shield projection forked (Chant and McMurtry, 2007). Those morphological characters despite to be well

visible and easy to observe seem to be analogies. Two species of the genus *Euseius* (*Euseius zambiaensis* Moraes, Ueckermann & Oliveira, and *Euseius neolokele* Moraes, Ueckermann & Oliveira, both described from Zambia) have as *I. degenerans* a ventral and anal shields separated, just as also two species within the genus *Amblyseius*: *Amblyseius perditus* Chant & Baker (from Neotropical region) and *A. nahatius* Schicha & Corpuz-Raros (from Philippines). On the opposite, Chant and McMurtry (2005) underlined some similarities between *I. degenerans* and *Euseius* species: form the of dentition of the chelicera, broad deutosternal groove, leg setation, forward migration of setae JV2 and ZV2 and large crescentic caudoventral pores, suggesting that those characters can be candidates to be the genus *Euseius-Iphiseius* apomorphies.

The genus *Euseius* level. Three well-sustained clades are observed within the genus *Euseius*: clade 1: *E. concordis*, *E. stipulatus*, *E. fructicolus*, *E. tularensis* and *E. scutalis*; clade 2: *E. fustis* and *I. degenerans*; and clade 3: *E. finlandicus*, *E. alangii*, *E. gallicus*, *E. ovalis*, *E. nicholsi*, *E. noumeae*, *E. ovaloides* and *E. sojaensis*. Within some clades, some divisions are also observed, especially in the clade 1 where two groups are observed (*E. stipulatus*, *E. concordis*, *E. fructicolus*, *E. tularensis* on one side and *E. scutalis* on the other side) and in the clade 3 where three sub-clades are observed: (i) *E. alangii* and *E. finlandicus*, (ii) *E. gallicus* and *E. ovalis* and (iii) *E. nicholsi*, *E. noumeae*, *E. ovaloides* and *E. sojaensis*.

Phylogenetic relationships and morphological features

Despite the high number of species contained in the genus *Euseius*, Chant and McMurtry (2005) did not propose a sub-division in several group species as they did for other genera including many species (i.e. *Neoseiulus*, *Amblyseius*, *Typhlodromalus*). Recently, Lopes, McMurtry and De Moraes (2015) proposed the “concordis species group” containing 16 species. Three of five species included in the clade 1 belong to this latter species group. Lopes *et al.* (2015) did not consider *Euseius citrifolius* within the “concordis species group” because dorsum is sclerotinized. *Euseius scutalis* was not even cited by these authors because of long setae on the dorsal shield. The results herein obtained question the “concordis species group” proposed by Lopes *et al.* (2015); however clearly additional phylogenetic analyses including the 12 species considered in this species group would be required to draw a definitive conclusion.

The Table 2 and figure 2 show the morphological characters of the 16 Euseiini species included in the phylogenetic analyses. No clear morphological features correspond totally to the three *Euseius* clades. However, some tendencies can be observed especially concerning the insemination apparatus shape. Species of the clade 1 are characterised by a long and quite straight calyx (sausage shape spermatheca) except for *E. scutalis* that in addition has long setae on the dorsal shield whereas the other four species not. Species of the clade 2 has a very long and narrow (filiform) spermatheca calyx, macrosetae of the leg IV with a knobbed bulbous termination, seta lengths on the dorsal shield are variable. Species of the clade 3 have different insemination apparatus shapes, however the sub-group *E. finlandicus* and *E. alangii* are characterised by short neck and vase-cup calyx and peritrem short; the sub-group *E. gallicus* and *E. ovalis* by a long calyx, a convex input at the atrium level. For the sub-groups *E. ovaloides*, *E. nicholsi*, *E. noumeae* and *E. sojaensis* no clear morphological characters allow to explain their clustering.

Athias-Henriot (1968) stated the importance of spermatheca features for discriminating between genera and recently molecular phylogenetic analyses on the genus *Neoseiulus* also emphasized the importance of such a morphological feature for distinguishing between genera (Tsolakis *et al.* 2012).

Phylogenetic relationships and biogeographical features

The number of records of the Euseiini species included in the phylogenetic analyses is presented in the table 3. The two species of the subtribe Typhlodromina (*T. aripo*, *A. limonicus*) are mainly observed from the Neotropical region. Concerning the genus *Euseius-Iphiseius*, on the five species contained in the clade 1, two are only reported from the Neotropical region (*E. fructicolus*, *E. concordis*), one is endemic from the Nearctic region (*E. tularensis*, California) and two (*E. stipulatus* and *E. scutalis*) are mainly reported from the West Palearctic 2 region. The clade 2 contains *Euseius fustis* that is endemic from the Ethiopian region 1 and *I. degenerans* for which nearly 40% of the records are reported in this latter region. *Iphiseius degenerans* is then mainly reported from the West Palearctic 2 region. The clade 3 contains mainly species from Oriental and Australasian regions. However, some differences exist between the three subclades. The subclade 1 contains a species endemic from the Oriental region (*E. alangii*) and a cosmopolitan species (*E. finlandicus*) reported essentially from West Palearctic regions under cold weathers. The subclade 2 contains one species mainly recorded from the Oriental region (*E. ovalis*) and a species recently described from

West Palearctic region (*E. gallicus*). The species *E. gallicus* was described in 2010 from specimens collected in France. However, when describing this species, the authors informed about the morphological proximity of this new species with *Euseius longiverticilis* (Liang & Ke), and questioned synonymy. However, because of impossibility to loan the type material and the bad description of *E. longiverticilis*, they preferred to describe the specimens frequently observed in France as a new species. Based on the present phylogenetic analyses, and biogeographic distribution associated to the clade where *E. gallicus* is included, one can wonder about the synonymy of *E. gallicus* with *E. longiverticilis*, that would be an invasive species that widespread all over the West palearctic region. The subclade 3 mainly contains species recorded from East part of the world: *Euseius ovalis*, *E. nicholsi* mainly reported from the Oriental region; *E. sojaensis* mainly reported from East Palearctic region 2, *E. noumeae* endemic from the Australasian region. Only *E. ovaloides* has a quite different distribution. This species is mainly reported from Neotropical and Ethiopian region 2. Within this latter region, it is mainly recorded from Indian Ocean islands difficult to relate to Ethiopian or Oriental regions. Furthermore, to explain its occurrence in the Neotropical region, introduction can be hypothesized.

The DEC analysis (figure 3) shows that the tribe Euseiini certainly originates from Neotropical and Ethiopian 1 regions. It also indicates that the Neotropical region is the ancestral area of the two species (and two genera) of the subtribe Typhlodromina as well as of the taxa herein considered within the subtribe Euseiina. Within the genus *Euseius*, the clade 2 (*E. fustis* and *I. degenerans*) originates from Ethiopian region. As *I. degenerans* is also observed in the West Palearctic 2 region, we can hypothesise dispersion from Ethiopian region 1 to this latter region. The clade 1 (*E. citrifolius*, *E. concordis*, *E. tularensis*, *E. stipulatus* and *E. scutalis*) is originated from the Neotropical region. The occurrence of *E. tularensis* in the Nearctic region can be explained by dispersion. However, explanation of the occurrence of *E. stipulatus* and *E. scutalis* mainly in the West Palearctic 2 is not trivial. Two hypotheses can be proposed (i) an holartic origin of the clade; but it seems unlikely as this clade has a Neotropical origin in DEC analysis and the West Palearctic region 2 as well as the Nearctic region do not have high diversity and endemism rates or (ii) a Netropical origin of the clade, with ancestors of *E. stipulatus* and *E. scutalis* going through the Ethiopian region when South America and Africa were fused to reach then West Palearctic region 2 through Saharo-Arabian region considered as a transition zone

(Morrone, 2015). As a evidence track, *E. scutalis* has been reported in Ghana in 2001 (Moraes Ueckermann, Oliveira and Yaninek, 2001). Including more *Euseius* species from Ethiopian and Neotropical regions will certainly help to confirm this hypothesis. The clade 3 had an Oriental origin. The diversity in the East Palearctic 2 region is certainly due to dispersion as well as for species found in the Australasian region. The clade 3 is related to clade 2 and the DEC analysis shows that their ancestor was Neotropical. The terrestrial bridge between Neotropical and Oriental regions is Africa. Again, taking into account more species from this latter region is absolutely required to dress further and deeper conclusions on biogeographic scenarios.

Phylogenetic relationships and plant features

The Euseiini species considered in the phylogenetic analysis have been recorded on 43 plant orders and 121 plant families. However, most records were observed on ten plant orders (Fabales, Malpighiales, Sapindales, Asterales, Malvales, Solanales, Cornales, Fagales, Rosales and Myrtales) and four plant families (Euphorbiaceae, Fagaceae, Rosaceae and Rutaceae) (Tables 4 and 5). The two species corresponding to the Typhlodromalina clade are essentially found on the plant orders: Fabales, Malpighiales, Sapindales, Asterales, Solanales and Malvales and the plant families: Asteraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae and Solanaceae. The two species corresponding to the *Euseius-Iphiseius* clade 2 (*E. fustis* and *I. degenerans*) are mainly observed on the orders: Malpighiales and Sapindales and the plant families: Rutaceae and Euphorbiaceae. The species of the clade 1 are mainly recorded from Malpighiales, Rosales, Sapindales and Solanales, and the plant families: Euphorbiaceae, Rosaceae, Rutaceae and Solanaceae. Finally species of the clade 3 are mainly reported from the orders Rosales, Sapindales and Fagales and the plant families: Fabaceae, Fagaceae, Rosaceae and Sapindaceae. Among the 17 species herein considered, 15 and 8 are reported on Sapindales and Malpighiales orders, respectively. Between 13 and 15 species are recorded on Euphorbiaceae (15 species among 17), Fagaceae, Rosaceae and Rutaceae (13 species).

The DEC analysis shows that the original plants of the Euseiini tribe would be Fabales and Malpighiales (figure 4). The same orders would be also the ancestral plants of the clade 2 (*E. fustis* and *I. degenerans*) of the *Euseius-Iphiseius* group. The clade 1 (*E. concordis*, *E. citrifolius*, *E. tularensis*, *E. stipulatus* and *E. scutalis*) and the clade 3 (*E. finlandicus*, *E. alangii*, *E. gallicus*, *E. ovalis*, *E. nicholsi*, *E. ovaloides*, *E. sojaensis* and *E. noumeae*) would originate from Rosales and Sapindales.

Biogeographical features of the tribe Euseiini and subtribes

The tribe Euseiini. Among the 271 Euseiini species, the highest diversity is observed in the Ethiopian region 1 (87 species) followed by Oriental (57 species), Neotropical (56 species) and then East Palearctic 1 area (49 species) (Table 6). Only two species are reported from the East Palearctic 2 and four from the West Palearctic 1. The endemism rates reflect the species diversity with the highest endemic level in the Ethiopian region 1 (27.7 %). It is interesting to observe that in this latter region, as well as in Neotropical, Oriental and East Palearctic 1 areas, the percentage of endemic species among those reported in each of these zones accounts for more than 84 %. For the Australasian region, even if a low diversity of species is reported, 80 % of species recorded are endemic from this region. No endemic species is observed in the East Palearctic 2 region and only one in the West Palearctic 1 area.

The highest diversity at genus level is observed in the Neotropical and Ethiopian 1 regions, with seven genera among the ten included in the tribe Euseiini. These two regions are also the unique sheltering endemic genera, two for the Ethiopian 1 region and three within the Neotropical area. The four Palearctic regions only present one genus, the genus *Euseius*. Furthermore, despite a great number of Euseiini recorded in the Oriental region, nearly all belong to this latter genus; only one species of *Amblydromalus* (*A. lailae* (Schicha)) is reported once from this part of the world.

The highest species diversity of the subtribe Euseiina is recorded from the Ethiopian region 1 (59 species) and in a lesser extent in the Oriental (56 species) and East Palearctic 1 (49 species) areas. Endemism rates are also the highest in these three latter regions. It is interesting to note that high rates of endemism are also recorded in Neotropical and Australasian regions even if a low number of species is reported from these regions. However, differences exist between the distributions of genera included in this subtribe. This general pattern actually reflects that of the genus *Euseius* accounting for 99 % of Euseiina species. The genus *Moraseius* is only reported from the Ethiopian region 1 and the genus *Iphiseius* is reported from Ethiopian 1 and 2 regions and the West Palearctic 2 area. This latter region is the unique with the three genera the subtribe Euseiina present and with an endemic genus.

The subtribe Ricoseiina (and its unique taxa) is only present in the Neotropical region. Finally, the highest species diversity of the subtribe Typhlodromalina is reported in the Neotropical (31 species) and Ethiopian region 1 (28 species). The highest endemic levels are also observed from these two regions, showing that most of species found

in those regions are different. No or one species of this subtribe is recorded in the Palaearctic, Oriental and Australasian regions. Even if one species is recorded from Australasian and Oriental areas, species found there are endemic. The Neotropical and Ethiopian regions also shelter the highest number of genera, five and four, respectively. The Neotropical region is however the only one with endemic genera. Differences between the distributions of Typhlodromalina genera are observed. Species of the genus *Amblydromalus* and *Typhlodromalus* are essentially recorded from the Neotropical area (16 species on 21 *Amblydromalus* and 10 species on 24 *Typhlodromalus*); it is also in this region that the highest endemism rates are observed for these two genera. The few species of *Amblydromalus* species reported in the Australasian region and the Ethiopian region 2 are endemic from these regions. Similarly, the few species of *Typhlodromalus* species recorded from Australasian, Oriental and Ethiopian region 2 are nearly all endemic from these regions. The two monotypic genera *Quadromalus* and *Tenuisternum* are only observed in the Neotropical region. The unique species of the genus *Prasadromus* is only reported from the Ethiopian region 1. Finally, species of the genus *Ueckermannseius* are mainly recorded from the Ethiopian region 1. The 16 species reported from this region are endemic. The three *Ueckermannseius* species recorded from Neotropical and Ethiopian region 2 are also endemic from those areas.

Distribution of Euseiini tribe on plants

Diversity of Euseiini on plant orders. Species of the Euseiini tribe are reported from 44 plant orders. Nearly half of the 44 orders (21) shelter a very low number of species (between 1 and 9 species, accounting less than 5 % of species diversity) (Table 7). Species diversity is thus concentrated in some orders, especially Rosales, Malpighiales, Sapindales, Malvales and Fabales (more than 20% of Euseiini species on each) with Rosales and Malpighiales sheltering the highest species diversity (approximately 30 %). Between 10 % and 20 % of species are observed on 8 other plant orders (Asterales, Ericales, Gentianales, Lamiales, Myrtales, Poales, Solanales, Vitales). 67 % of the 271 Euseiini species have been recorded on those latter 13 orders.

The highest number of genera (7 genera among the 10) is observed on Malpighiales and then on Gentianales, Solanales and Malvales (6 genera). These four orders also shelter high species numbers. It is interesting to note that Rosales, Fabales and

Sapindales have a higher diversity at species level than at genus one; it is the opposite for Gentianales and Solanales.

Diversity of subtribe *Euseiina* on plant orders. Species of the sub-tribe *Euseiina* are reported from 44 orders but the highest species diversity is observed on Fabales, Malpighiales, Malvales, Rosales and Sapindales. The highest genus diversity is observed on Brassicales because *Moraeseius* is observed on this plant order. The plant orders where species of *Euseius* is observed are the same as those where the unique species of *Iphiseius* was reported (22 orders). It is interesting to note the ubiquity of this latter species on plants.

Diversity of subtribe *Ricoseiina* on plant orders. The unique species within this subtribe is reported from 6 orders (Boraginales, Gentianales, Malpighiales, Malvales, Myrtales and Rosales).

Diversity of subtribe *Typhlodromalina* on plant orders. Species of the subtribe *Typhlodromalina* are reported from 37 orders but the highest species diversity is observed on Fabales and Malpighiales, and in lesser extent on Lamiales, Asterales, Malvales and Solanales. The highest genus diversity (4 on 6) is observed on Malpighiales and Solanales. Species of *Amblydromalus* were observed on 25 orders, and the highest diversity was observed on Malpighiales and Fabales. The unique species of *Prasadromus* was observed on Malpighiales, whereas the unique species of *Tenuisternum* was recorded from Solanales and the species of *Quadromalus* on Caryophyllales and Vitales. Species of the *Typhlodromalus* and *Ueckermannseius* were observed on 37 and 10 orders respectively, with for both the highest species diversity observed on Malpighiales.

Diversity of *Euseiini* on plant families. Species of the *Euseiini* tribe are reported from 150 plant families. The great majority of the 150 families (121) shelter a very low number of species (between 1 and 13, accounting less than 5 % of species diversity). Species diversity is thus concentrated on some families, especially Euphorbiaceae, Rosaceae and Fabaceae (more than 20% of *Euseiini* species on each). Between 10 % and 20 % of species are observed on 10 other plant families (Anacardiaceae, Asteraceae, Malvaceae, Moraceae, Myrtaceae, Poaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Solanaceae, Vitaceae). 43 % of the records of the 271 *Euseiini* species have been done on those latter 13 families.

The highest number of genera (6 genera among the 10) is observed on Euphorbiaceae, Malvaceae, Rubiaceae and Solanaceae. The families Rosaceae and Fabaceae show a

higher diversity at species level than at genus level and it is the opposite for Arecaceae, Boraginaceae and Caricaceae.

Diversity of subtribe *Euseiina* on plant families. Species of the subtribe *Euseiina* are reported from 144 families but the highest species diversity is observed on Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Rosaceae and Rutaceae. The highest genus diversity is observed on Caricaceae because *Moraseius* is observed on this plant family. The plant families where species of *Euseius* is *observed* are the same as those where the unique species of *Iphiseius* was reported (29 families). It is interesting to note the ubiquity of this latter species on plants.

Diversity of the subtribe *Ricoseiina* on plant families. The unique species within this subtribe is reported from 6 families (Boraginaceae, Clusiaceae, Malvaceae, Moraceae, Myrtaceae and Rubiaceae).

Diversity of the subtribe *Typhlodromalina* on plant families. Species of the subtribe *Typhlodromalina* are reported from 86 families but the highest species diversity is observed on Euphorbiaceae and Fabaceae, and in lesser extent on Asteraceae, Malvaceae, Solanaceae. The highest genus diversity (4 on 6) is observed on Euphorbiaceae and Solanaceae. Species of the genus *Amblydromalus* were observed on 47 families but the highest diversity was observed on Euphorbiaceae and Fabaceae. The unique species of the genus *Prasadromus* was observed on Euphorbiaceae whereas the unique species of *Tenuisternum* was observed on Solanaceae. The species of *Qadromalus* were recorded from Talinaceae and Vitaceae. Finally, the species of *Typhlodromalus* and *Ueckermannseius* were recorded on 77 and 14 families, respectively with the highest diversity on Fabaceae, Euphorbiaceae and Asteraceae for *Typhlodromalus* and Rutaceae and Musaceae for *Ueckermannseius*.

Crossing data on biogeographical and plant habitats. The Neotropical region accounts for the highest number of plant orders and families where species of *Euseiini* were observed (39 orders and 107 families) (Table 8). In the other region, *Euseiini* species were found on a diverse number of plant orders and families, but this high number is essentially due to the species of the genus *Euseius*. The region Ethiopian 1 accounts for 27 orders and 45 families of *Euseiini*. For the subtribe *Euseiina*, the highest number of plant orders and families colonised is observed in the Neotropical region, reflecting the *Euseius* genus distribution. The diversity of plant where the species of *Iphiseius* is observed is similar in Ethiopian region1 and West Palearctic

region 2 and much lower in the Ethiopian 2 region. For the subtribe Ricoseiina, the six families and orders where the unique species of this genus has been observed were all in the Neotropical region. Finally for the subtribe Typhlodromalina, the region where the highest number of plant families and orders is observed is clearly the Neotropical region, followed by the Ethiopian region 1 and the Nearctic region. This general pattern applies for the genera *Amblydromalus* and *Typhlodromalus*, whereas for the genus *Ueckermannseius* the highest plant diversity is observed in the Ethiopian region 1.

Discussion

Geographic and plant origin of the tribe Euseiini. The DEC analysis shows that the Euseiini tribe certainly originates from Neotropical and Ethiopian 1 regions. This result is in accordance with the species diversity and high endemism rates at species level observed in those two regions. However if only these latter data were considered, one could conclude also on Oriental and East Palaearctic origin because of high species diversity and endemism levels. Yet, in these two regions, the number of genera is low (species diversity being due to the genus *Euseius*) and no endemic genus is observed. On the opposite, Neotropical and Ethiopian 1 regions score seven genera among the 10 included in the tribe Euseiini and contain endemic genera (two in the Ethiopian 1 region and 3 in the Neotropical one). Both the DEC analysis and this latter clue seem to indicate a western Gondwanian origin the tribe Euseiini, when Neotropical / Ethiopian regions were fused.

DEC analysis shows that ancestral plants of Euseiini would be the orders Malpighiales and Fabales (both included in the sub-class Fabidae of the class Rosids) and the families Fabaceae and Euphorbiaceae. This is in accordance with results on the overall diversity of the tribe as these two plant orders and these two families are among the most diverse ones. However, as for biogeographical analyses, take into account only the numbers of plants on which species are found can be misleading. Actually, the highest number of Euseiini species is observed on Rosales. Yet, Rosales does not seem to be original plants of the tribe according to DEC analysis. Furthermore, only five genera are observed on those plants whereas seven are observed on Malpighiales. On the opposite Fabales is considered within the DEC analysis as original plants whereas it represents not the highest diversity at species and genus levels. DEC results are only based on the distribution of species considered

in the phylogenetic analyses and information are obviously lacking. On the opposite, diversity analyses show the overall diversity but any evolutionary hypothesis is considered. The two kinds of information are thus complementary. According to diversity data, Solanales, Gentianales and Malvales could also be considered as original plants as they host 6 of the 10 Euseiini genera. The orders where main diversity was observed (Malpighiales, Rosales, Fabales, Malvales and Sapindales) are Rosids. Solanales and Gentianales are Eu-Asterids. Rosids (70,000 species) contains more than one-fourth of all angiosperm species. They rapidly radiated 108 to 91 million years ago, approximatively at the same time as Neotropical and Ethiopian regions splitted (100 mya) (Wang *et al.*, 2009). The diversification of Rosids also corresponds to that of several major insect groups, mainly phytophagous as beetles, Lepidoptera and hemipterans (Farrell, 1998; Wilf *et al.*, 2000). Furthermore as Euseiini, Malpighiales is reported to have a west gondwanianan origin (Ruhfel, Stevens and Davis, 2010). The present data seems thus to show that diversification of Euseiini could be linked to Rosid radiation and especially the order Malpighiales when Ethiopian and Neotropical regions splitted.

Solanales and Gentianales seem to be more recent and could have appeared in South America once the splitting of Gondwana achieved (Olmstead 2013, Struwe, 2002). High Euseiini diversity on these plants can be due to radiation within the Neotropical region.

Geographic and plant origin of the subtribe Typhlodromalina. The DEC analysis indicates that the Neotropical region is the ancestral area of the subtribe Typhlodromina. This is in accordance with the overall distribution of species of the six genera of this subtribe, also mainly recorded from this area, characterized by high endemism rates at species and genus levels (2 endemic genera). However, two genera are mainly or exclusively recorded from Ethiopian region 1 (*Prasadromus* and *Ueckermannseius*). If species of those taxa would have been taken into account in the phylogenetic analyses, one can hypothesize that DEC analysis would have shown on Ethiopian/Neotropical origin of the subtribe Typhlodromalina, as for the tribe Euseiini. The plant DEC analysis shows that clade containing the two genera of Typhlodromina originated from Malpighiales and Fabales for plant orders and Euphorbiaceae and Fabaceae for families. These results are in accordance with biodiversity data for the overall subtribe. It should be noted however that Solanales (family Solanaceae) shelter 4 genera among the 6 included in this subtribe. It seems

that as for the Euseiini tribe, the subtribe Typhlodromina originated from Rosids when Africa and South America were fused. Because Solanales have certainly a South American origin, diversification on this clade could have occurred afterwards in this continent.

Geographic and plant origin of the subtribe Ricoseina. The only species of the subtribe Ricoseina (*Ricoseius loxocheles*) is reported from the Neotropical region, suggesting that this subtribe originates from this region. This species has been reported on six 6 orders (Boraginales, Gentianales, Malpighiales, Malvales, Myrtales and Rosales) and six plant families (Boraginaceae, Clusiaceae, Malvaceae, Moraceae, Myrtaceae and Rubiaceae). Determining the ancestral plant origin of this subtribe with only this information is impossible.

Geographic and plant origin of the subtribe Euseiina. The geographical DEC analysis suggests that the ancestral area of the subtribe Euseiina is the Neotropical region whereas according to Chant and McMurtry (2005), the origin is certainly the Ethiopian region. This difference can be due to the fact that only one species of the Ethiopian region 1 has been considered in the phylogenetic analysis, whereas this latter region contains a high number of species and high endemism levels. We can thus hypothesize that as for Typhlodromalina the subtribe Euseiina originates from the Neotropical and Ethiopian regions, when those continents were fused.

The plant DEC analysis shows that Malpighiales would be the original plants of Euseiina subtribe. However, high diversity at species level is observed in Rosales and Sapindales, whereas these orders were not so predominant for the subtribe Typhlodromina and Ricoseiina. These two orders are Rosids. They explain in the plant DEC analysis some splitting between groups of the genus *Euseius*: Rosales and Sapindales would be more associated to some clades (in Neotropical, Palearctic and Oriental and Australasian regions) whereas Malpighiales and Fabales to others (especially in the Ethiopian region recorded as the original area of the genus *Euseius*). Yet, Rosalean families (except Rosaceae) more likely originated in Eurasia (Simpson, Wing and Fenster, 2016).

Conclusions and evolutionary scenario.

This study stresses several conclusions on phylogenetic evolution of the tribe Euseiini. First, the tribe Euseiini, as well as the subtribes Euseiina and Typhlodromina (at least with the taxa that it was possible to include) are monophyletic, supporting the conclusions of Chant and McMurtry (2005). The species of the genus *Euseius* herein

considered all belong to a same clade, despite morphological differences and biogeographical contrasted distribution. The genus *Euseius* seems thus also monophyletic. However, the genus *Iphiseius* does not seem valid, as its unique species is included inside the *Euseius* clade. Finally the present work does not support totally the *citrifolius* species group proposed by Lopes *et al.* (2015) and thus the morphological characteristics used to define it (especially dorsum reticulation). This first phylogenetic analyses based on molecular data thus brings some new elements but clearly other analyses should be carried out taking into account more genera of the tribe and more species of *Euseius* especially from the Ethiopian area. Other main conclusion of this work is about the identity of *Euseius gallicus*. Yet, during the description of this species, Tixier, Kreiter, Okassa and Cheval (2010a) had some doubts because of the morphological proximity between this latter species and *Euseius longiverticilis*. The phylogenetic analyses shows that *E. gallicus* is not close to Palearctic species but is included in the clade containing Oriental species. Two hypotheses can be stressed: (i) these two species are synonyms and specimens identified as *E. gallicus* in Western Europe are invasive specimens of *E. longiverticilis* from oriental region or (ii) these two species are distinct but the origin of *E. gallicus* is Oriental and some gaps exist between Western Europe and Oriental region because of misidentification and/or no reports yet. To test these hypotheses, molecular experiments comparing these two species would be required.

The origin of the Euseiini tribe seems to be the western part of Gondwana (Africa and Neotropical areas) and Rosids plants especially of the orders Malpighiales and Fabales (subclass Fabidae). After Africa and South America splitting, we can hypothesize a diversification of some genera, the most successful diversification being observed for the genus *Euseius* with great radiation assumed in Africa and then in Oriental and East Palaearctic 1 regions, after dispersal from Ethiopian area to these latter regions. Species of this genus have colonised many plant species and some what correlation is observed between biogeographical and plant patterns, as species found in Africa are essentially retrieved on Malpighiales and Sapindales, those from Neotropical essentially on Malpighiales and those from Oriental and East Palaearctic 1 regions on Rosales and Sapindales. The origin centre really seems to be Africa; then we hypothesize a colonisation on Malpighiales in Neotropical and more on Rosales and Sapindales for the Eastern zones: East Palaearctic and Oriental regions. Other

phenomena can be hypothesized in Neotropical region with diversification on orders appeared later in this part of the world as Gentianales and Solanales.

The subtribe Euseiina and Typhlodromina seems to have originated from Neotropical / Ethiopian regions with more success of colonisation for Typhlodromina in Neotropical regions and more success of colonisation of Euseiina in Africa and Oriental and Palearctic regions. Concerning the subtribe Ricoseiina, it is only found in Neotropical region suggesting a younger origin. The morphological features of this genus are really unique. It is the only species of the tribe with seta *r*5 present (on the interscutal membrane); the dorsal setae are very long and raised from tubercles. According to Chant & McMurtry (2007), Phytoseiidae evolution tends to depilation. Yet this species assumed to appear after the others have more setae than supposed ancestors. So two hypotheses can be stressed (i) *Ricoseius* is not “a young” taxa but the only surviving of old lines or (ii) the hypothesis on depilation is not totally correct as also suggested in other studies (Tixier *et al.*, 2008). Taxa of the genus *Euseius* with short setae on the dorsal shield are observed essentially from Oriental region. In Oriental region, the taxa retrieved are assumed to be younger than those found in Ethiopian and Neotropical region. Is depilation first goes through a reduction of setae before losing them? The present study cannot answer this question but underlines some tracks for future researches.

Some hypothesis can also be dressed concerning the evolution of the ancestral insemination apparatus, especially for the Euseiina subtribe. The ancestral shape seems to be a very and narrow elongated calyx (filamentous cervix), with adductor canal elongated and well visible, found in *Moraseius* species and in two basal *Euseius*-*Iphiseius* taxa. These species are reported from Ethiopian region. Species of the genus *Prasadromalus* and *Ueckermannseius* (subtribe Typhlodromina) found in Africa also show elongated calyx. Species found in the Neotropical region both for Euseiina and Typhlodromina subtribes have more homogeneous spermatheca, usually with calyx sausage-shaped. To better support such conclusion on insemination apparatus evolution, first more taxa should be taken into account and second more accurate observations of the insemination apparatus structure should be carried out using more efficient microscopic observations (electronic microscopy). The present study based on several clues, molecular phylogeny with more 3,477 bp, morphological characters and biogeographic and ecological data tends to provide some elements on evolution of the tribe Euseiini, origin, monophyly and evolutionary scenario. It provides some

conclusions and also stresses some difficulties to dress conclusions especially because of data completion but also because of lacks on plant evolution knowledge. For future analyses, we would like to include more taxa especially species of “rare” genus and more species from the Ethiopian zone. We also think interesting in addition to plant taxonomy to relate the Euseiini evolutionary data with ecology of plants as pollen shape, as some species of this tribe, especially *Euseius* species are included in a particular group of Phytoseiidae, more able to develop well on pollen than on preys (McMurtry *et al.* 2013). This characteristic has an evolution basis that can be investigated considering both plant and mite evolution.

Acknowledgements

We are very grateful to D. Matisya, F. Hakashi, S. Kreiter for helping to collect the material used for molecular experiments. We also thanks the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Setor Bancário Norte (SBN), Quadra 2, Bloco L, Lote 06, Edifício Capes – CEP: 70.040-020 – Brasília, DF– Brazil for the PhD grant of Victor Dos Santos.

References

- Athias-Henriot, C. (1968). L'appareil d'insémination Laelapoïde (acariens anactinotriches: Laelapoidea). Premières observations, possibilités d'emploi à des fins taxonomiques [title in english: Laelapoid insemination apparatus (Anactinotrichous mites: Laelapoidea). First observations, utility for taxonomy]. *Bulletin Scientique de Bourgogne*, 25, 230-274.
- Bull, J.J., & Wichman, H.A. (2001). Applied Evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 183-217.
- Chant, D.A., & McMurtry, J.A. (2005). A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae) Part VI. The tribe Euseiini N. tribe, subtribes Typhlodromalina, N. subtribe, Euseiina N. subtribe and Ricoseiina N. subtribe. *International Journal of Acarology*, 31, 187-224.
- Chant, D.A., & McMurtry, J.A. (2007). Illustrated keys and diagnoses for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world (Acari: Mesostigmata). Michigan, Indira Publishing House, 220 pp.

- Chase, M.W., Christenhusz, M.J.M., Fay, M.F., Byng, J.W., Judd, W.S., Soltis, D.E., & Stevens, P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20.
- Cox, B. (2001). The biogeographic regions reconsidered. *Journal of Biogeography* 28: 511–523.
- Cruickshank, R.H. (2002). Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Systematic and Applied Acarology*, 7, 3-14.
- Dabert, M. (2006). DNA markers in the phylogenetics of the Acari. *Biological Letters*, 432, 97-107.
- Dabert, M., Witalinski, W., Kazmierski, A., Olszanowski, Z., & Dabert, J. (2010). Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 56, 222-41.
- Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of Linnean Society*, 85, 407–415.
- De Rojas, M., Mora, M.D., Ubeda, C., Navajas, M., & Guevarea, D.C. (2001). Phylogenetic relationships in rhinonyssid mites (Acari: Rhinonyssidae) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Experimental and Applied Acarology*, 25(12), 957-67.
- Demite, P.R., Moraes, G.J. de, McMurtry, J.A., Denmark, H.A., & Castilho, R.C. (2017). Phytoseiidae Database. Available from: www.lea.esalq.usp.br/phytoseiidae (accessed 15/01/2017)
- Domes, K., Althammer, M., Norton, R.A., Scheu, S., & Maraun, M. 2007. The phylogenetic relationship between Astigmata and Oribatida (Acari) as indicated by molecular markers. *Experimental and Applied Acarology*, 42, 159-171.
- Dos Santos, V., & Tixier, M.-S. (2016). Molecular markers for analysing phylogenetic relationships within the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Cladistics*, 28(5), 1–17. DOI:10.1111/cla.12166.
- Dowling, A.P.G., & O'Connor, B.M. (2010). Phylogenetic relationships within the suborder Dermanyssina (acari: parasitiformes) and a test of Dermanyssoid monophyly. *International Journal of Acarology*, 36, 299-312.

- Escudero-Colomar, L.A., & Choraży, A. (2012). First record of *Amblydromalus limonicus* (Acari: Phytoseiidae) from Spain. *International Journal of Acarology*, 38(6), 545–546.
- Farrell, B.D. (1998). “Inordinate fondness” explained: Why are there so many beetles? *Science* 281:555.
- Gerson, U., Smiley, R.L., & Ochoa, R. (2003). *Mites (Acari) for pest control*. Oxford (UK), Blackwell Publishing: 537 pp.
- Humphries, C.J., Parenti, L.R. (1999). Cladistic biogeography. Interpreting patterns of plant and animal distribution, 2nd Ed. Oxford: Oxford University Press.
- Kanouh, M., Tixier, M.-S., Guichou, S., Cheval, B. & Kreiter, S. (2010a). Two synonymy cases within the genus *Neoseiulella* (Acari: Phytoseiidae): is the molecular evidence so evident? *Biological Journal of Linnean Society*, 101, 323–344.
- Kanouh, M., Tixier, M.-S., Okassa, M., & Kreiter, S. (2010b). Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae). *Zoologica Scripta* **39**, 450-461. doi: [10.1111/j.1463-6409.2010.00439.x](https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2010.00439.x).
- Klimov, P.B., & O'Connor, B.M. (2008). Origin and higher-level relationships of psoroptidian mites (Acari: Astigmata: Psoroptidia): Evidence from three nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47, 1135-1156.
- Klompen, H., Lekveishvili, M., & Black, W.C. IV (2007). Phylogeny of parasitiform mites (Acari) based on rRNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 936-951.
- Lekveishvili, M., & Klompen, H. (2004). Phylogeny of infraorder Sejina (Acari: Mesostigmata). *Zootaxa*, 629, 1–19.
- Lindquist, E, & Evans, G.W. (1965). Taxonomic concepts in the Ascidae, with a modified setal nomenclature for the idiosoma of the Gamasina Acarina: Mesostigmata. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 47, 1–64.
- Lopes, P.C., McMurtry, J.A., & De Moraes G.J. (2015). Definition of the concordis species group of the genus *Euseius* (Acari:Phytoseiidae), with a morphological reassessment of the species included. *Zootaxa*, 4048(2), 174–190.
- Losos, J.B., Arnold, S.J., Bejerano, G., Brodie, E.D. III, Hibbett, D., Hoekstra, H.E., Mindell, D.P., Monteiro, A., Moritz, C., Orr, A.H., Petrov, D.A., Renner, S.S., Ricklefs, R.E., Soltis, P.S., & Turner, T.L. (2013). Evolutionary biology for the 21st Century. *PLoS Biology* 11(1), e1001466. doi:10.1371/journal.pbio.1001466

- McMurtry, J.A., De Moraes, G.J., & Sourassou, N.F. (2013). Revision of the life styles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. *Systematics and Applied Acarology*, 18, 297-320.
- McMurtry J.A., & Croft, B.A. (1997). Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. *Annual Review of Entomology*, 42, 291–321.
- Moraes, G.J. de, Ueckermann, E.A., Oliveira, A.R., & Yaninek, J.S. (2001) Phytoseiidae mites of the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae) from Sub-Saharan Africa. *Zootaxa*, 3, 1–70.
- Morrone, J.J. (2015). Biogeographical regionalisation of the world: a reappraisal. *Australian Systematic Botany*, 28, 81–90
- Navajas, M., & Fenton, B. (2000). The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. *Experimental and Applied Acarology*, 24, 751-774.
- Olmstead, R.G. (2013). Phylogeny and biogeography in Solanaceae, Verbenaceae and Bignoniaceae: a comparison of continental and intercontinental diversification patterns. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171, 80–102.
- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I., & Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7, 16.
- Patwardhan, A., Ray, S., & Roy, A. (2014). Molecular Markers in Phylogenetic Studies: A Review. *Journal of Phylogenetics and Evolutionary Biology*, 2, 131-140.
- Rowell, H.J., Chant, D.A., & Hansell, R.I.C. (1978). The determination of setal homologies and setal patterns on the dorsal shield in the family Phytoseiidae (Acarina: Mesostigmata). *The Canadian Entomologist*, 110, 859–876.
- Roy, L., Dowling, A.P.G., Chauve, C.M., & Buronfosse, T. (2010). Diversity of phylogenetic information according to the locus and the taxonomic level: an example from a parasitic Mesostigmatid mite genus. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 1704-1734.
- Ronquist, F., & Sanmartin, I. (2011). Phylogenetic Methods in Biogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 42, 441-464
- Ruhfel, B.R., Stevens, P., & Davis, C.C. (2010). Ancient Gondwanan vicariance and recent long distance dispersal in the pantropical clusioid clade (Malpighiales). Botany Conference, Botanical Society of America, retrieved from <http://2010.botanyconference.org/engine/search/index.php?func=detail&aid=606>

- Schäffer, S., Koblmüller, S., Pfingstl, T., Sturmbauer, C., & Krisper, G. (2010). Ancestral state reconstruction reveals multiple independent evolution of diagnostic morphological characters in the “Higher Oribatida” (Acari), conflicting with current classification schemes. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 246-263.
- Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E., & Crozier, R.H. (2010). Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual Review of Entomology*, 55, 421-38.
- Simpson, A.G., Wing, S., & Fenster, C. (2016). Phylogeographic history of the Rosales comparing phylogenetic comparative ancestral state reconstruction against fossil-assisted phylogeographic methods. Botany Conference Savannah Georgia, USA. Retrieved from <http://2016.botanyconference.org/engine/search/index.php?func=detail&aid=773>
- Sourassou, N.F., Moraes de, G.J., Delalibera, I. Jr, & Soares Correa, A. (2015). Phylogenetic analysis of Ascidae sensu lato and related groups (Acari: Mesostigmata: Gamasina) based on nuclear ribosomal DNA partial sequences. *Systematic & Applied Acarology*, 20(3), 225–240.
- Struwe, L. (2002). Gentianales (Coffees, Dogbanes, Gentians and Milkweeds). *ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES / 2002 Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group*. Retrieved from www.els.net
<http://www.rci.rutgers.edu/~gentian/reffiles/Struwe%202002%20ELS%20Gentianales.pdf>
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 10, 2731-2739
- Tixier, M-S, Kreiter, S, & Moraes, GJ. (2008). Biogeographic distribution of the mites of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Biological Journal of Linnean Society*, 93, 845–856. doi: [10.1111/j.1095-8312.2007.00937.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2007.00937.x).
- Tixier, M.-S., Kreiter, S., Okassa, M., & Cheval, B. (2010a). A new species of the genus *Euseius* Wainstein (Acari: Phytoseiidae) from France. *Journal of Natural history*, 44, 241–254.
- Tixier, M.-S., Okassa, M., Liguori, M. L., Poinso, A., Salerno, B., & Kreiter, S. (2010b). Voucher specimens for DNA sequences of Phytoseiid mites (Acari: Mesostigmata). *Acarologia*, 22, 487-494.

- Tsolakis, H., Tixier, M.-S., Kreiter, S., & Ragusa, S. (2012). The genus concept within the family Phytoseiidae (Acari: Parasitiformes). Historical review and phylogenetic analyses of the genus *Neoseiulus* Hughes. *Zoological Journal of Linnean Society*, 165, 253-273.
- Whitfeld, T.J.S., Novotny, V., Miller, S.E., Hreck, J., Klimes, P., Weiblen, G.D. (2012). Predicting tropical insect herbivore abundance from host plant traits and phylogeny. *Ecology* 93 (8) : Supplement: Integrating ecology and phylogenetics (August 2012), pp. S211-S222.
- Wang, H., Moore, M.J., Soltis, P.S., Bell, C.D., Brockington, S.F., Alexandre, R., Davis, C.C., Latvis, M., Manchester, S.R., & Soltis, D.E. (2009). Rosid radiation and the rapid rise of angiosperm-dominated forests. *PNAS*, 106(10), 3853–3858.
- Wilf, P., Labandeira, C.C., Kress, W.J., Staines, C.L., Windsor, D.M., Allen, A.L., & Johnson, K.R. (2000). Timing the radiations of leaf beetles: Hispines on gingers from latest Cretaceous to recent. *Science*, 289 (5477), 291-294
- Yaninek, J.S., & Hanna, R. (2003). Cassava green mite in Africa: a unique example of successful classical biological control of a mite pest on a continental scale. In: Neuenschwander P, Borgemeister C, Langewald L, editors. *Biological control in IPM systems in Africa*. Wallingford: CABI Publishing; 2003. pp. 61–75.
- Yu, Y, Harris, AJ, Blair, C, & He, X. (2015). *RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): a tool for historical biogeography. Molecular and Phylogenetics Evolution*, 87, 46–49.

Captions of figures

Figure 1. Strict Bayesian consensus tree obtained with the combined molecular data sets (ITSS, CytB mt DNA, COI mtDNA, 12S rRNA, HSP90, 28S rRNA) including 16 species of the tribe Euseiini (subtribes Typhlodromalina and Euseiina) and species of five tribes of Phytoseiidae – subfamily Amblyseiinae (Amblyseiini, Neoseiulini, Kampimodromini, Typhlodromipsini, Phytoseiulini). Three clades within the genus *Euseius* are emphasized. The numbers below branches indicate the posterior probability values.

Figure 2. Pictures of morphological features of *Euseius* species included in the three clades of the phylogenetic tree.

Figure 3. Dispersal–extinction–cladogenesis (DEC) in Euseiini based on phylogram obtained with six molecular markers. DEC ancestral area reconstructions with highest likelihood are shown as colored boxes at each node.

Figure 4. Dispersal–extinction–cladogenesis (DEC) in Euseiini based on phylogram obtained with six molecular markers. DEC ancestral plant order reconstructions with highest likelihood are shown as colored boxes at each node.

Figure 1

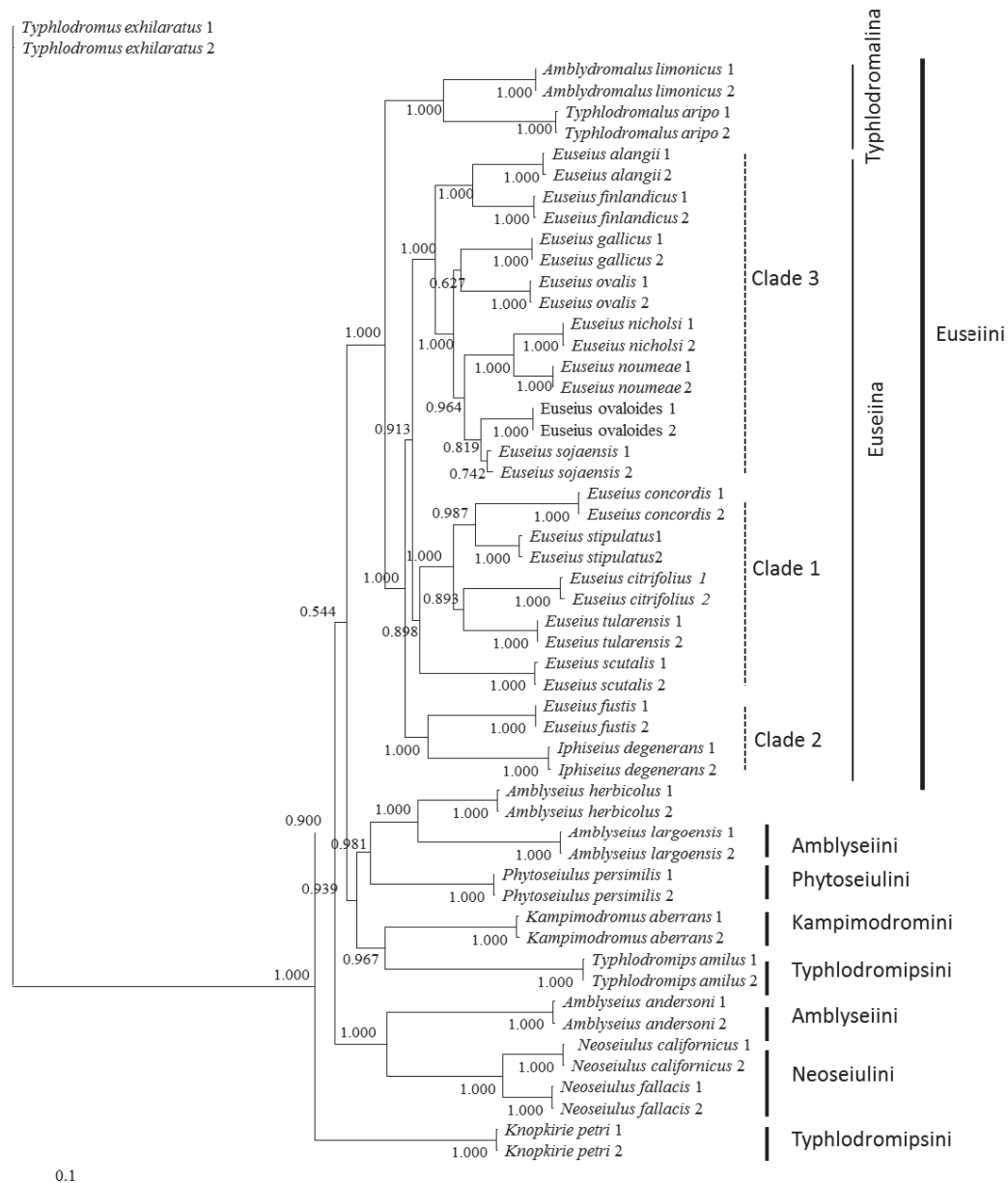


Figure 2

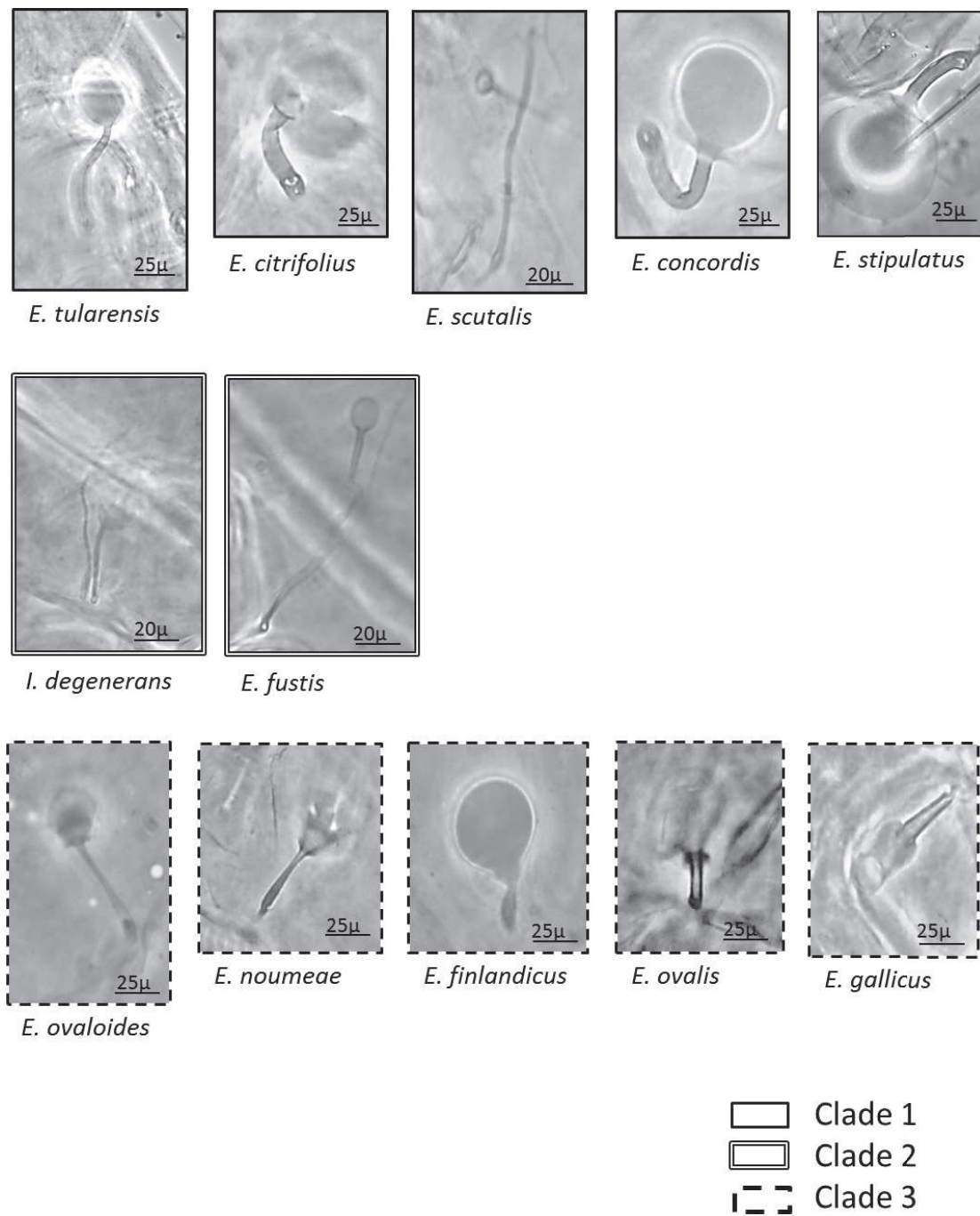


Figure 3

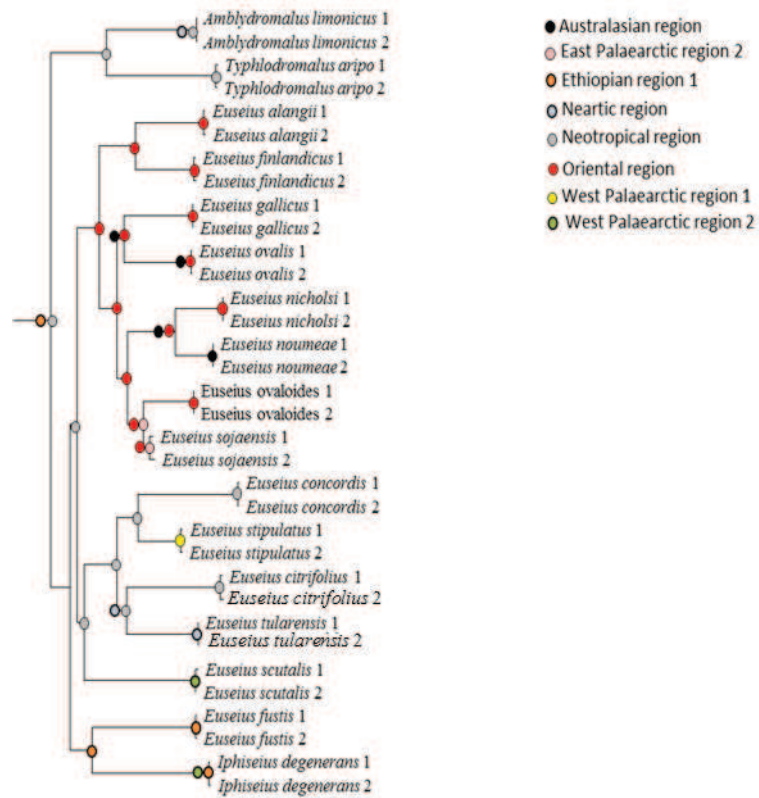


Figure 4

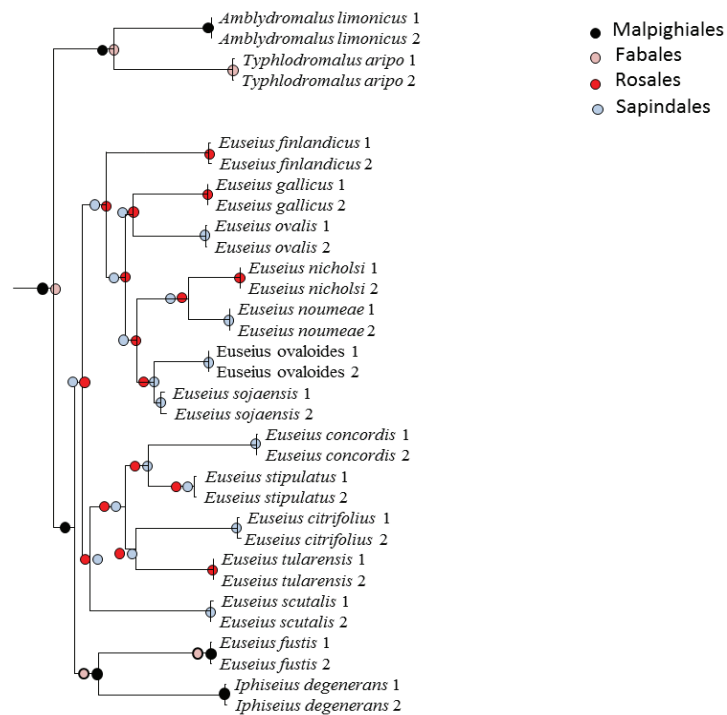


Table 1. Characteristics of the species considered in the molecular analysis and their accession numbers in Genbank (in bold the sequences directly retrieved from Genbank and not in bold those obtained by ourselves).

Tribe	Genbank sequences or own sequences			Genbank accession numbers					
	Genus and species	Country	Location	Host plants	12S	COI	CTTB	ITS	28S
Euselini	<i>Euselius concordis</i>	Brazil	Rio Claro	<i>Hibiscus</i> sp.	KY751579	KY751625	-	Y18270	KM979697
	<i>Euselius stipulatus</i>	Spain	Valencia	<i>Citrus</i> sp.	KY751589	FI404583.1	KY751649	KY751689	KY751611
	<i>Euselius tularensis</i>	USA	Florida	<i>Citrus</i> sp.	KY751591	KY751633	KY751651	KY751691	KY751613
	<i>Euselius citrifolius</i>	Brazil	-	<i>Psidium guajava</i>	KY751592	KY751634	KY751652	KY751692	KY751614
	<i>Euselius scutalis</i>	Morocco	Meknes	<i>Vitis vinifera</i>	KY751578	KY751623	KY751640	KY751680	KY751602
	<i>Euselius finlandicus</i>	France	Bourgogne	<i>Juglans regia</i>	KY751581	FI404592.1	KY751641	KY751681	KY751603
	<i>Euselius atangii</i>	China	-	Unknown host plant	KY751582	FI404593.1	KY751642	KY751682	KY751604
	<i>Euselius gallicus</i>	France	Montpellier	<i>Prunus avium</i>	-	JX080314.1	-	-	-
	<i>Euselius ovalis</i>	-	Syngenta-Bioline Commercial rearings	Unknown host plant	KU318120	KU318184	KU318213	KU318302	KU318153
	<i>Euselius nicholsi</i>	China	-	Unknown host plant	KU318121	KU318185	KU318214	KU318303	KU318154
	<i>Euselius noumeae</i>	New Caledonia	Noumea	Unknown host plant	HQ404835	KU318197	KU318224	HQ404801	KU318164
	<i>Euselius ovaloides</i>	Guadeloupe	Grande Terre	<i>Carica papaya</i>	KU318128	KU318198	KU318225	KU318312	KU318165
Amblyselini	<i>Euselius soljensis</i>	Japan	-	Unknown host plant	KF703897	JO864562.1	KM999989.1	JO864564.1	-
	<i>Euselius fustis</i>	Kenya	Nairobi	<i>Manihot esculenta</i>	KY751583	KY751627	KY751643	KY751683	KY751605
	<i>Iphiselius degenerans</i>	Italy	Sicily	<i>Citrus</i> sp.	KY751584	KY751628	KY751644	KY751684	KY751606
	<i>Typhlodromalus oripo</i>	Kenya	Nairobi	<i>Manihot esculenta</i>	KY751593	KY751635	KY751653	KY751693	KY751615
	<i>Amblydromalus limonicus</i>	-	Koppert	Commercial rearings	KY751594	KY751636	KY751654	KY751694	KY751616
	<i>Amblyselius largensis</i>	New Caledonia	Noumea	Unknown host plant	KU318116	KU318178	KU318209	KU318298	KU318145
	<i>Amblyselius andersoni</i>	France	Mazères	<i>Malus domestica</i>	KU318117	KU318179	KU318210	KU318299	KU318146
	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	-	Syngenta-Bioline Commercial rearings	Commercial rearings	KU318126	KU318190	KU318219	KU318308	KU318159
	<i>Kampimodromini aberrans</i>	France	Montpellier	<i>Quercus pubescens</i>	KU318127	KU318191	KU318220	KU318309	KU318160
	<i>Typhlodromus ornilus</i>	Guadeloupe	Basse Terre	<i>Spathodea campanulata</i>	KU318124	KU318188	KU318217	KU318306	KU318278
	<i>Knopkire petri</i>	New Caledonia	Noumea	Unknown host plant	KU318125	KU318189	KU318218	KU318307	KU318158
	<i>Neoseiulus californicus</i>	France	Mid Pyrenées	<i>Malus domestica</i>	KU318115	KU318177	KU318208	KU318296	KU318144
out-group	<i>Neoseiulus fallacis</i>	Canada	-	<i>Malus domestica</i>	FI985114	KU318199	FI985081	GU591672	KU318166
	<i>Typhlodromus exiliatatus</i>	France	Restinclières	<i>Vitis vinifera</i>	KC810045	KU318181	FI985082	GU591673	KU318167
Typhlodrominae	<i>Neoseiulus fallacis</i>	Canada	-	<i>Malus domestica</i>	KY751597	KY751637	KY751619	KY751697	KY751619
	<i>Typhlodromus exiliatatus</i>	France	Restinclières	<i>Vitis vinifera</i>	KY751598	KY751638	KY751658	KY751698	KY751620
Typhlodromiini	<i>Neoseiulus fallacis</i>	Canada	-	<i>Malus domestica</i>	HQ404831	IF279182	IF279286	IF279155	KU318149
	<i>Typhlodromus exiliatatus</i>	France	Restinclières	<i>Vitis vinifera</i>	IF279063	IF279183	IF279287	HQ404830	KU318150

Table 2. Morphological characteristics (peritrem length, dorsal seta length, number of teeth on mobile and fixed digit of the chelicera, shape of the extremity of the macrosetae STIV) for the 17 Euseiini species included in the phylogenetic analysis.

Subtribes	Species	Peritreme length	spermatheca shape	j1	j3	j4	j5	j6	j2	j5	z2	z4	z5	z1	z4	z5	s4	S2	S4	S5	r3	R1	ST IV	Sti IV	Sge IV	Number of teeth on the mobile digit	Number of teeth on the fixed digit	Shape of the extremity of the macrosetae STIV
Euseiina	<i>Euseius alangi</i>	z2-z4	short neck and short calyx	33	26	13	13	17	15	4	17	15	13	15	19	59	33	22	19	28	17	13	68	33	39	1	4	tapered
	<i>Euseius citrifolius</i>	z2-j3	tubular (straigh edges)	25	24	13	13	14	14	5	17	20	12	14	16	56	33	17	18	22	17	13	53	29	37	1	5	tapered
	<i>Euseius concordis</i>	j1-j3	tubular (straigh edges)	30	37	10	9	13	12	5	17	29	9	11	11	64	52	14	16	18	20	10	53	32	44	1	4	Knob-tipped
	<i>Euseius finlandicus</i>	z2-z4	short neck and short calyx	22	30	16	16	16	16	8	26	26	16	20	26	48	35	25	25	26	18	31	55	33	37	1	4	tapered
	<i>Euseius fustis</i>	z2	long et tapered calyx	24	15	10	9	11	14	7	11	12	10	10	12	41	18	12	11	11	14	11	41	24	39	not seen	not seen	Knob-tipped
	<i>Euseius gallicus</i>	j3-z2	trumpet shape	33	34	13	15	17	18	5	29	31	14	17	19	54	41	22	22	28	15	15	58	37	38	1	5	tapered curved
	<i>Euseius nicholsi</i>	j1-j3	short neck and short calyx	35	28	11	11	14	14	7	18	18	12	14	16	62	30	18	26	26	15	14	66	41	52	not seen	not seen	tapered (oblique)
	<i>Euseius noumeae</i>	j3	small calyx	27	6	4	4	5	5	5	6	6	4	6	6	57	9	8	7	8	6	51	35	37	1	3	tapered (oblique)	
	<i>Euseius ovalis</i>	j3	elongated	31	9	6	6	7	9	6	8	8	6	7	6	50	11	8	9	8	11	?	53	32	37	1	7	tapered curved
	<i>Euseius ovaloides</i>	j3	elongated	30	8	5	5	6	7	5	8	8	7	8	8	44	12	8	7	9	8	58	32	40	1	1	tapered	
	<i>Euseius scutalis</i>	z2-z4	short neck and short calyx	26	43	26	6	43	43	6	26	34	26	26	43	67	55	34	43	43	20	15	80	50	65	1	2	tapered
	<i>Euseius sojaensis</i>	j3	cup-shaped	27	23	10	10	12	14	6	18	17	11	13	14	51	26	18	21	20	15	14	50	33	36	1	few apical teeth	tapered
	<i>euseius stipulatus</i>	j3	tubular (straight edges)	35	38	11	11	12	14	5	19	30	11	14	18	61	42	20	25	25	17	11	57	33	39	1	4	tapered
	<i>Euseius tularensis</i>	z2	tubular (twisting)	34	40	14	14	15	16	?	21	27	14	16	18	66	43	22	24	29	20	14	72	43	58	1	3	tapered
Typhlodromalina	<i>lphiseius degenerans</i>	j1-j3	long et tapered calyx	24	5	4	4	5	6	6	5	5	4	6	7	14	9	8	9	9	12	9	37	35	42	1-2	6-8	Knob-tipped
	<i>Typhlodromalus aripo</i>	j1	tubular	26	35	14	12	16	16	6	17	34	11	20	57	75	50	31	24	12	22	17	72	20	46	3	8-9	tapered
	<i>Amblydromalus limonicus</i>	j1	tubular	34	50	8	8	8	10	8	10	10	8	10	10	62	72	14	14	11	17	8	105	62	66	2-3	8	tapered

Table 3. Number of reports (% of records) of the 16 Euseiini species included in the phylogenetic molecular analysis in the ten biogeographic regions.

Subtribes	Species	Number of reports	Australasian	East Palearctic 1	East Palearctic 2	Ethiopian 1	Ethiopian 2	Neartic	Neotropical	Oriental	Wast Palearctic 1	West Palearctic 2
Typhlodromalina	<i>Amblydromalus limonicus</i>	119						18 (15%)	101 (85%)			
	<i>Typhlodromalus aripo</i>	190							190 (100%)			
Euseiina	<i>Euseius alangi</i>	2								2 (100%)		
	<i>Euseius citrifolius</i>								144 (100%)			
	<i>Euseius concordis</i>	238							238 (100%)			
	<i>Euseius finlandicus</i>	692		8 (1.2%)	47 (6.8%)	1 (0.1%)		53 (7.7%)	4 (0.6%)	48 (6.9%)	363 (52.5%)	168 (24.3%)
	<i>Euseius fustis</i>	21				21 (100%)						
	<i>Euseius gallicus</i>	12									5 (41.7%)	7 (58.3%)
	<i>Euseius nicholsi</i>	16								16 (100%)		
	<i>Euseius noumeae</i>	20	20 (100%)									
	<i>Euseius ovalis</i>	183	32 (17.5%)				2 (1.1%)			149 (81.4%)		
	<i>Euseius ovaloides</i>	49	5 (10%)				22 (44.9%)		22 (44.9%)			
	<i>Euseius scutalis</i>	250		1 (0.4%)	5 (2%)					16 (6.4%)		228 (91.2%)
	<i>Euseius sojaensis</i>	17			14 (82.4%)					3 (17.6%)		
	<i>Euseius stipulatus</i>	199										199 (100%)
	<i>Euseius tularensis</i>	15						15 (100%)				
	<i>lphiseius degenerans</i>	133				52 (39.1%)	6 (4.5%)					75 (56.4%)

Table 4. Number of reports of the 17 Euseiini species included in the phylogenetic molecular analysis on plant families.

[illegible]

		Coniaceae	Cassuliaceae	Courbitaceae	Oyperaceae	Dilleniaceae	Dipterocarpaceae	Ebenaceae	Eriaceae	Erythroxylaceae	Euphorbiaceae	Fagaceae	Geraniaceae	Grossulariaceae	Heliconiaceae	Kernandiaceae	Hydrangeaceae	Hypericaceae	Juglandaceae	Lamiaceae	Lardizabalaceae	Lauraceae	Lecythidaceae	Liliaceae	Lythraceae	Magnoliaceae	Malpighiaceae	Malvaceae	Melastomataceae	Meliaceae	Montiaceae	Moraceae	Moringaceae	Violaceae	Myrtaceae	Nyctaginaceae	Oleaceae	Onagraceae	Oxalidaceae	Paeoniaceae			
Typhlodromalina	<i>Amblydromalus limonicus</i>									9	13																																
	<i>Typhlodromalus aripo</i>		1	1	1					20	22									5		5			1		1	19	1	1					9								
	<i>Euseius alangii</i>	1																																									
	<i>Euseius citrifolius</i>						1			19	10			1					1	2						3	2		2						11								
	<i>Euseius concordis</i>		1	1						1	32	6	1		1				2	5						1	8	1	7	1			5	12									
	<i>Euseius finlandicus</i>	7						2	4		1	20	39		4		2			24	4	1	3		1	2	7		18		1		9			2	1	29			2		
	<i>Euseius fustis</i>										4	4																															
	<i>Euseius gallicus</i>																																										
	<i>Euseius nicholsi</i>										1																2											1					
	<i>Euseius noumeae</i>										2	3			1						1	1						2				2				1							
Euseiina	<i>Euseius ovalis</i>	1	1	2		1	1			13	19					1	5							2			6		4		10	7	3	2			1	2					
	<i>Euseius ovaloides</i>									5	3												3				4				2			1									
	<i>Euseius scutalis</i>		1				2			12	18	3	1						4						5						17			17	1		5	2	2				
	<i>Euseius sojaensis</i>									1	1																																
	<i>Euseius stipulatus</i>		1	2				1		4	6	3				1				5		5		3				6			3			2	1	5							
	<i>Euseius tularensis</i>									1	1								2			1																					
	<i>Iphiseius degenerans</i>		1								12	4								2		1	1					8		1		4		1				2	3				
	Total	10	1	8	1	3	1	4	6	1	136	128	48	1	4	2	1	2	2	32	20	1	31	1	2	12	8	5	93	2	16	1	49	1	16	48	7	40	1	2			

		Pentadaceae	Passifloraceae	Phyllanthaceae	Phytolaccaceae	Piperaceae	Pittosporaceae	Plantaginaceae	Platanaceae	Plumbaginaceae	Podaceae	Polygonaceae	Primulaceae	Ranunculaceae	Rhamnaceae	Rizophoraceae	Ripogonaceae	Rosaceae	Rubiaceae	Rutaceae	Salicaceae	Salvadoraceae	Sapindaceae	Schisandraceae	Scrophulariaceae	Simslebaceae	Sinurubaceae	Sparaceae	Stilacaceae	Solanaceae	Staphylaceae	Streltziaceae	Syracaceae	Tamaricaceae	Theaceae	Thymelaeaceae	Ulmaceae	Urticaceae	Verbenaceae	Violaceae	Vinaceae	Vochysiacae		
Typhlodromalina	<i>Amblydromalus limonicus</i>	2								2	1						1	1	1	10	2		1	1	1	1	33	3				2					2	1		1				
	<i>Typhlodromalus aripo</i>	1		2			1			6								3	5	1			1			1	1	33											2	3		2		
	<i>Euseius langii</i>																																											
	<i>Euseius citrifolius</i>			1	1					9				1				2	6	6	1			1		3		16													1	3		
	<i>Euseius concordis</i>	2	2	3						10	2		2	2				6	15	16	1	2			2		33	1											1		3			
	<i>Euseius finlandicus</i>			9			1	8		2			2	3				165	11	11		49	3		3				2			2		1	1	1	2	9	2			18		
	<i>Euseius fustis</i>																	4				2						1																
	<i>Euseius gallicus</i>																						2											1										
	<i>Euseius nicholsi</i>									1				1						2			2											1										
	<i>Euseius noumeae</i>																									1																		
Euseiina	<i>Euseius ovalis</i>	1	1	2		1				9					1	1	3	4	5			3				3			1											2		1	2	
	<i>Euseius ovaloides</i>			1						3								2	4																								1	
	<i>Euseius scutalis</i>						2		1	1	5				8			21	18		1	3					1	8				1	2					1	5	1	7			
	<i>Euseius sojaensis</i>																	4	1	1								2														1		
	<i>Euseius stipulatus</i>				1		1	1		5	1	3						31	1	39	1		1	1		1	3													1	1	2	1	8
	<i>Euseius tularensis</i>																	2	2			1																				2		
	<i>Iphiseius degenerans</i>										5							1	3	28								2															48	
	Total	1	6	3	3	12	7	3	3	9	1	57	1	3	5	15	1	1	24	36	143	16	1	65	3	2	5	6	2	105	2	1	2	3	5	3	10	11	11	2		2	48	3

Table 5. Number of reports of the 17 Euseiini species included in the phylogenetic molecular analysis on plant orders.

	Alismatales	Apiales	Aquifoliales	Arcuales	Asparagales	Asterales	Austrobaileyales	Boraginiales	Brassicales	Buxales	Caryophyllales	Celastrales	Commelinales	Cornales	Grossomatales	Cucurbitales	Dilleniiales	Dipsacales	Ericales	Fabales	Fagales	Gentianales	Geraniales	Lamiales	Laurales	Liliales	Magnoliales	Malpighiales	Malvales	Myrtales	Oxalidales	Pandaniales	Piniales	Piperiales	Poales	Proteales	Ranunculales	Rosales	Sapindales	Saxifragales	Solanales	Vitales	Zingiberales	
<i>Amblydromalus limonicus</i>						8		1	1																																			
<i>Typhlodromalus aripo</i>		1				25		2	2							1	1				22		5		11	1			22	19	10			2	2			4	14		5	1	1	
<i>Euseius alangii</i>														1																														
<i>Euseius citrifolius</i>	1		10					3		1									1	10		8		8	5		2	24	2	16				1	9			3	13		16	1	1	
<i>Euseius concordis</i>	1	1	4					1	4		4					2	1		2	6	1	15		5	7		6	37	8	15				3	10			9	34		34	3	7	
<i>Euseius finlandicus</i>	1	6		1	1	9	3			1	2	4		9	2				21	9	20	96		36	4	1	7	13	20	4			9		2	8	5		194	71	8		18	
<i>Euseius fustis</i>																				4								4																
<i>Euseius gallicus</i>																		1					1						2								4	2		2				
<i>Euseius nicholsi</i>																			1									1	1					1			1	4						
<i>Euseius noumeae</i>										1			1						1	3				1	1				2	2							2	1		1				
<i>Euseius ovalis</i>	3	1	3		2		2	5	2		2		1		2	1			19		10		8		1	1	19	7	9	2	1		1	9				15	19	1	6	2	7	
<i>Euseius ovaloides</i>						2		4											3				4	3		2	6	4	2				3				4	7		1	1			
<i>Euseius scutalis</i>	2		1	10		1	5		6						1	5	4	18	7	4	1	11	5	1	1	13	18	11				5	1			47	28		13	7				
<i>Euseius sojaensis</i>																			1	1	1		1				1									5	2		2	1				
<i>Euseius stipulatus</i>	3	1	3	7		3		7	1		1		2		6	1	6	4	3		9	5	1		6	7	5			1	5		3	37	41		5	8						
<i>Euseius tularensis</i>					1															3				1			1									2	4		2					
<i>Iphiseius degenerans</i>	1		2	2	3		1	4							1				4		3		6	1	1	2	12	8	2			5			5	32		2	2	4				
Total	7	12	2	21	7	67	3	9	28	1	25	5	1	13	2	9	3	33	23	128	114	50	1	104	38	5	23	174	98	78	2	1	12	7	58	9	8	337	277	9	124	48	20	

Table 6. Number of Euseiini species (and endemic species) in the 10 biogeographic areas considered, as well as endemic rates at species and genus levels (endemism rate 1 calculated within each area and endemic rate 2 calculated for the total number of species)

Subtribe	Genus	Australasian	East Palearctic 1	East Palearctic 2	Ethiopian 1	Ethiopian 2	Nearctic	Neotropical	Oriental	West Palearctic 1	West Palearctic 2	
Euseiina	<i>Euseius</i>	Number of species (number of endemic species)	9 (7)	49 (44)	2 (0)	57 (47)	5 (0)	9 (4)	24 (18)	56 (50)	4 (1)	17 (7)
	<i>Iphiseius</i>	Number of species (number of endemic species)				1 (0)	1 (0)					1 (0)
	<i>Moraeseius</i>	Number of species (number of endemic species)				1 (1)						
		Number of species (number of endemic species)	9 (7)	49 (44)	2 (0)	59 (49)	6 (0)	9 (4)	24 (18)	56 (50)	4 (1)	18 (7)
	Total subtribe	Species endemism rate 1	78%	90%	0%	81%	0%	44%	75%	89%	25%	39%
		Species endemism rate 2	3%	22%	0%	24%	0%	2%	9%	25%	0%	3%
		Number of genera (number of endemic genera)	1 (0)	1 (0)	1 (0)	3 (1)	2 (0)	1 (0)	1 (0)	1 (0)	1 (0)	2 (0)
Ricoseiina	<i>Ricoseius</i>	Number of species (number of endemic species)						1 (1)				
	Total subtribe	Number of species (number of endemic species)						1 (1)				
		Species endemism rate 1						100%				
Typhlodromalina	<i>Amblydromalus</i>	Number of species (number of endemic species)	1 (1)			4 (4)		2 (0)	16 (14)			
	<i>Prasadoromulus</i>	Number of species (number of endemic species)				1 (1)						
	<i>Quadrormulus</i>	Number of species (number of endemic species)							1 (1)			
	<i>Tenuisternum</i>	Number of species (number of endemic species)							1 (1)			
	<i>Typhlodromulus</i>	Number of species (number of endemic species)				7 (6)	2 (1)	5 (4)	11 (10)	1 (1)		
	<i>Ueckermannia</i>	Number of species (number of endemic species)				16 (16)	3 (3)	2 (2)				
	Total subtribe	Number of species	1 (1)			28 (27)	5 (4)	7 (4)	31 (28)	1 (1)		
		Species endemism rate 1	100%			96%	80%	57%	90%	100%		
		Species endemism rate 2	1.4%			39.0%	5.8%	5.8%	41.0%	1.4%		
		Number of genera (number of endemic genera)	1 (0)			4 (0)	2 (0)	2 (0)	5 (2)	1 (0)		
Total général EUSEIINI		Number of species (number of endemic species)	10 (8)	49 (44)	2 (0)	87 (75)	11 (4)	16 (8)	56 (47)	57 (51)	4 (1)	18 (7)
		Species endemism rate 1	80%	90%	0%	86%	36%	50%	84%	89%	25%	39%
		Species endemism rate 2	3.0%	16.0%	0.0%	27.7%	1.5%	3.0%	17.3%	18.8%	0.4%	2.6%
		Number of genera (number of endemic genera)	2 (0)	1 (0)	1 (0)	7 (2)	4 (0)	3 (0)	7 (3)	2 (0)	1	1
		Number of endemic genera	0	0	0	2	0	0	3	0	0	0

Table 7. Number of reports of 271 species of the ten genera of the tribe Euseiini and the three subtribes (Euseiina, Typhlodromalina, Ricoseiina) on plant orders.

Plant orders	Euseiina				Typhlodromalina								Ricoseiina	Tribe Euseiini		
	<i>Euseius</i>	<i>Iphiseius</i>	<i>Moraeseius</i>	Number of species (%)	Number of genera	<i>Amblydromalus</i>	<i>Prasadromalus</i>	<i>Quadromalus</i>	<i>Tenuisternum</i>	<i>Typhlodromalus</i>	<i>Ueckermanseius</i>	Number of species (%)	Number of genera	<i>Ricoseius</i>	Total number of species (%)	Number of genera
Rosales	69	1		70 (34.8%)	2	5				4		9 (11.8%)	2	1	80 (29.5%)	5
Sapindales	61	1		62 (30.8%)	2	2				4	3	9 (11.8%)	3		71 (26.2%)	5
Malpighiales	57	1		58 (28.9%)	2	10	1			5	4	20 (26.3%)	4	1	79 (29.2%)	7
Fabales	47	1		48 (24%)	2	8				6	2	16 (21.1%)	3		64 (23.6%)	5
Malvales	42	1		43 (21.4%)	2	5				4	2	11 (14.5%)	3	1	55 (20.3%)	6
Lamiales	34	1		35 (17.4%)	2	6				5		11 (14.5%)	2		46 (17%)	4
Myrtales	32	1		33 (16.4%)	2	4				2		6 (8%)	2	1	40 (14.8%)	5
Gentianales	30	1		31 (15.4%)	2	3				4	2	9 (11.8%)	3	1	41 (15.1%)	6
Vitales	29	1		30 (14.9%)	2	2		1		3		6 (8%)	3		36 (13.3%)	5
Solanales	27	1		28 (13.9%)	2	3			1	4	2	10 (13.2%)	4		38 (14%)	6
Laurales	24	1		25 (12.4%)	2	1				1		2 (2.6%)	2		27 (10%)	4
Asterales	23	1		24 (11.9%)	2	6				5		11 (14.5%)	2		35 (12.9%)	4
Poales	23	1		24 (11.9%)	2	4				4	1	9 (11.8%)	3		33 (12.2%)	5
Ericales	23			23 (11.4%)	1	1				2	2	5 (6.6%)	3		28 (10.3%)	4
Brassicales	19	1	1	21 (10.4%)	3	2				2		4 (5.3%)	2		25 (9.2%)	5
Fagales	21			21 (10.4%)	1	1				2		3 (3.9%)	2		24 (8.9%)	3
Caryophyllales	19			19 (9.4%)	1			1		3		4 (5.3%)	2		23 (8.5%)	3
Magnoliales	18	1		19 (9.4%)	2	2				1		3 (3.9%)	2		22 (8.1%)	4
Arecales	13	1		14 (7%)	2	1				1	1	3 (3.9%)	3		17 (6.3%)	5
Zingiberales	13	1		14 (7%)	2	2				1	3	6 (8%)	3		20 (7.4%)	5
Cucurbitales	12	1		13 (6.5%)	2					4		4 (5.3%)	1		17 (6.3%)	3
Proteales	13			13 (6.5%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		15 (5.5%)	3
Boraginales	11	1		12 (5.6%)	2	1				2		3 (3.9%)	2	1	16 (5.9%)	5
Alismatales	10	1		11 (5.5%)	2								0		11 (4.1%)	2
Apiales	10			10 (5%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		12 (4.4%)	3
Asparagales	7	1		8 (4%)	2					1		1 (1.3%)	1		9 (3.3%)	3
Dipsacales	7			7 (3.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		8 (3%)	2
Ranunculales	7			7 (3.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		8 (3%)	2
Pinales	6			6 (3%)	1					3		3 (3.9%)	1		9 (3.3%)	2
Piperales	6			6 (3%)	1	2				1		3 (3.9%)	2		9 (3.3%)	3
Cornales	5			5 (2.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		6 (2.2%)	2
Liliales	4	1		5 (2.5%)	2								0		5 (1.8%)	2
Saxifragales	5			5 (2.5%)	1								0		5 (1.8%)	1
Dilleniales	4			4 (2%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		6 (2.2%)	3
Oxalidales	4			4 (2%)	1					1		1 (1.3%)	1		5 (1.8%)	2
Celastrales	3			3 (1.5%)	1								0		3 (1.1%)	1
Geraniales	3			3 (1.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Commelinales	2			2 (1%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		4 (1.5%)	3
Aquifoliales	1			1 (0.5%)	1					2		2 (2.6%)	1		3 (1.1%)	2
Austrobaileyales	1			1 (0.5%)	1								0		1 (0.4%)	1
Buxales	1			1 (0.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		2 (0.7%)	2
Crossosomatales	1			1 (0.5%)	1								0		1 (0.4%)	1
Pandanales	1			1 (0.5%)	1								0		1 (0.4%)	1
Escalloniales				1 (0.5%)	0					1		1 (1.3%)	1		1 (0.4%)	1

Table 8. Number of reports of 271 species of the ten genera of the tribe Euseiini and the three subtribes (Euseiina, Typhlodromalina, Ricoseiina) on plant families.

Plant families	Euseiina					Typhlodromalina								Ricoseiina	Tribe Euseiini	
	Euseius	Iphiseius	Moraeseius	Number of species (%)	Number of genera	Amblydromalus	Prasadromalus	Quadromalus	Tenuisternum	Typhlodromalus	Ueckermanseius	Number of species (%)	Number of genera	Ricoseius	Total Number of species (%)	Number of genera
Rosaceae	49	1		50 (24.9%)	2	3				4		7 (9.2%)	2		57 (21%)	4
Fabaceae	47	1		48 (23.9%)	2	8				6	2	16 (21.1%)	3		64 (23.6%)	5
Euphorbiaceae	45	1		46 (22.9%)	2	8	1			5	2	16 (21.1%)	4		62 (22.9%)	6
Malvaceae	41	1		42 (20.9%)	2	4				4	2	10 (13.2%)	3	1	53 (19.6%)	6
Rutaceae	41	1		42 (20.9%)	2	2				2	3	7 (9.2%)	3		49 (18.1%)	5
Anacardiaceae	36	1		37 (18.4%)	2	1				3		4 (5.3%)	2		41 (15.1%)	4
Moraceae	33	1		34 (16.9%)	2	4						4 (5.3%)	1	1	39 (14.4%)	4
Vitaceae	29	1		30 (14.9%)	2	2		1		3		6 (6.9%)	3		36 (13.3%)	5
Myrtaceae	27	1		28 (13.9%)	2	2				2		4 (5.3%)	2	1	33 (12.2%)	5
Lauraceae	24	1		25 (12.4%)	2	1						1 (1.3%)	1		26 (9.6%)	3
Solanaceae	24	1		25 (12.4%)	2	3			1	4	2	10 (13.2%)	4		35 (12.9%)	6
Asteraceae	22	1		23 (11.4%)	2	6				5		11 (14.5%)	2		34 (12.5%)	4
Poaceae	22	1		23 (11.4%)	2	2				4	1	7 (9.2%)	3		30 (11.1%)	5
Rubiaceae	21	1		22 (10.9%)	2	3				4	2	9 (11.8%)	3	1	32 (11.8%)	6
Bignoniaceae	19	1		20 (9.9%)	2	1				2		3 (3.9%)	2		23 (8.5%)	4
Caricaceae	18	1	1	20 (9.9%)	3	2				2		4 (5.3%)	2		24 (8.9%)	5
Sapindaceae	20			20 (9.9%)	1	1				3		4 (5.3%)	2		24 (8.9%)	3
Apocynaceae	16			16 (8%)	1					1		1 (1.3%)	1		17 (6.3%)	2
Combretaceae	16			16 (8%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		18 (6.6%)	3
Fagaceae	16			16 (8%)	1					2		2 (2.6%)	1		18 (6.6%)	2
Annonaceae	14	1		15 (7.5%)	2	2				1		3 (3.9%)	2		18 (6.6%)	4
Arecaceae	13	1		14 (7%)	2	1					1	3 (3.9%)	3		17 (6.3%)	5
Lamiaceae	13	1		14 (7%)	2	3				4		7 (9.2%)	2		21 (7.7%)	4
Boraginaceae	11	1		12 (6%)	2	1				2		3 (3.9%)	2	1	16 (5.9%)	5
Musaceae	11	1		12 (6%)	2	2					3	5 (6.6%)	2		17 (6.3%)	4
Verbenaceae	12			12 (6%)	1	4				3		7 (9.2%)	2		19 (7%)	3
Acanthaceae	11			11 (5.5%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		13 (4.8%)	3
Araceae	10	1		11 (5.5%)	2										11 (4.1%)	2
Convolvulaceae	11			11 (5.5%)	1	1				2		3 (3.9%)	2		14 (5.2%)	3
Cucurbitaceae	10	1		11 (5.5%)	2					4		4 (5.3%)	1		15 (5.5%)	3
Meliaceae	10	1		11 (5.5%)	2	1				1		2 (2.6%)	2		13 (4.8%)	4
Passifloraceae	11			11 (5.5%)	1	1				2		3 (3.9%)	2		14 (5.2%)	3
Rhamnaceae	11			11 (5.5%)	1										11 (4.1%)	1
Juglandaceae	10			10 (5%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		12 (4.4%)	3
Nyctaginaceae	10			10 (5%)	1					1		1 (1.3%)	1		11 (4.1%)	2
Oleaceae	9	1		10 (5%)	2					1		1 (1.3%)	1		11 (4.1%)	3
Platanaceae	9			9 (4.5%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		11 (4.1%)	3
Salicaceae	9			9 (4.5%)	1	2				1		3 (3.9%)	2		12 (4.4%)	3
Theaceae	9			9 (4.5%)	1	1				1	1	3 (3.9%)	3		12 (4.4%)	4
Urticaceae	9			9 (4.5%)	1	2				2		4 (5.3%)	2		13 (4.8%)	3
Lythraceae	8			8 (4%)	1										8 (3%)	1
Cannabaceae	7			7 (3.5%)	1										7 (2.6%)	1
Ebenaceae	7			7 (3.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		8 (3%)	2
Polygonaceae	7			7 (3.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		8 (3%)	2
Adoxaceae	6			6 (3%)	1					1		1 (1.3%)	1		7 (2.6%)	2
Araliaceae	6			6 (3%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		8 (3%)	3
Phyllanthaceae	6			6 (3%)	1	2					1	4 (5.3%)	3		10 (3.7%)	4
Pinaceae	6			6 (3%)	1					3		3 (3.9%)	1		9 (3.3%)	2
Piperaceae	6			6 (3%)	1	2				1		3 (3.9%)	2		9 (3.3%)	3
Amaranthaceae	5			5 (2.5%)	1					2		2 (2.6%)	1		7 (2.6%)	2
Asparagaceae	4	1		5 (2.5%)	2					1		1 (1.3%)	1		6 (2.2%)	3
Betulaceae	5			5 (2.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		6 (2.2%)	2
Ericaceae	5			5 (2.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		6 (2.2%)	2
Caprifoliaceae	4			4 (2%)	1										4 (1.5%)	1
Cornaceae	4			4 (2%)	1					1		1 (1.3%)	1		5 (1.8%)	2
Dilleniaceae	4			4 (2%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		6 (2.2%)	3
Dipterocarpaceae	4			4 (2%)	1										4 (1.5%)	1
Magnoliaceae	4			4 (2%)	1	1						1 (1.3%)	1		5 (1.8%)	2
Malpighiaceae	4			4 (2%)	1					2		2 (2.6%)	1		6 (2.2%)	2
Plantaginaceae	4			4 (2%)	1					2		2 (2.6%)	1		6 (2.2%)	2
Proteaceae	4			4 (2%)	1										4 (1.5%)	1
Ranunculaceae	4			4 (2%)	1										4 (1.5%)	1
Sapotaceae	4			4 (2%)	1					1		1 (1.3%)	1		5 (1.8%)	2
Apiaceae	3			3 (1.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Brassicaceae	3			3 (1.5%)	1					2		2 (2.6%)	1		5 (1.8%)	2
Burseraceae	3			3 (1.5%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		5 (1.8%)	3
Caryocaraceae	3			3 (1.5%)	1										3 (1.1%)	1
Celastraceae	3			3 (1.5%)	1										3 (1.1%)	1
Geraniaceae	3			3 (1.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Hypericaceae	3			3 (1.5%)	1							1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Melastomataceae	3			3 (1.5%)	1	2				2		4 (5.3%)	2		7 (2.6%)	3
Oxalidaceae	3			3 (1.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Papaveraceae	3			3 (1.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Phytolaccaceae	3			3 (1.5%)	1										3 (1.1%)	1
Pittosporaceae	3			3 (1.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Scrophulariaceae	3			3 (1.5%)	1										3 (1.1%)	1
Siparunaceae	3			3 (1.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		4 (1.5%)	2
Tamaricaceae	3			3 (1.5%)	1										3 (1.1%)	1
Ulmaceae	3			3 (1.5%)	1										3 (1.1%)	1
Amaryllidaceae	1	1		2 (1%)	2										2 (0.7%)	2
Anisophylleaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Cactaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Campanulaceae	2			2 (1%)	1					1		1 (1.3%)	1		3 (1.1%)	2
Cannaceae	1	1		2 (1%)	2										2 (0.7%)	2
Caryophyllaceae	2			2 (1%)	1					1		1 (1.3%)	1		3 (1.1%)	2
Casuarinaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Commelinaceae	2			2 (1%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		4 (1.5%)	3
Heliconiaceae	2			2 (1%)	1					1		1 (1.3%)	1		3 (1.1%)	2
Lecythidaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Liliaceae	1	1		2 (1%)	2										2 (0.7%)	2
Onagraceae	2			2 (1%)	1					1		1 (1.3%)	1		3 (1.1%)	2
Paeoniaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Rhizophoraceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Salvadoraceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Simaroubaceae	2			2 (1%)	1	1				1		2 (2.6%)	2		4 (1.5%)	3
Smilacaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Styracaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Thymelaeaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Violaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1
Vochysiaceae	2			2 (1%)	1										2 (0.7%)	1

Table 8. (Continuation).

Plant families	Euseiina					Typhlodromalina								Ricoseiina	Tribe Euseiini		
	Euseius	Iphiseius	Moroeseius	Number of species (%)	Number of genera	Amblydromalus	Prasodromalus	Quadrormalus	Tenuisternum	Typhlodromalus	Ueckermanseius	Number of species (%)	Number of genera	Ricoseius	Total Number of species (%)	Number of genera	
Achariaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Actinidiaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Altingiaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Aquifoliaceae	1			1 (0.5%)	1					2		2 (2.6%)	1		3 (1.1%)	2	
Arialeae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Asclepiadaceae	1			1 (0.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		2 (0.7%)	2	
Balsaminaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Begoniaceae	1			1 (0.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		2 (0.7%)	2	
Berberidaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Bixaceae	1			1 (0.5%)	1	2						2 (2.6%)	1		3 (1.1%)	2	
Bromeliaceae	1			1 (0.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		2 (0.7%)	2	
Buxaceae	1			1 (0.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		2 (0.7%)	2	
Calycanthaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Capparaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Cercidiphyllaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Cistaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Clusiaceae	1			1 (0.5%)	1					1		1	2 (2.6%)	2	1	4 (1.5%)	4
Crassulaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Elaeocarpaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Erythroxylaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Grossulariaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Hamamelidaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Hernandiaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Hydrangeaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Hypoxidaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Iridaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Lardizabalaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Loganiaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Monimiaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Montiaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Moringaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Myricaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Nothofagaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Pandanaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Petiveriaceae	1			1 (0.5%)	1					1		1 (1.3%)	1		2 (0.7%)	2	
Plumbaginaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Primulaceae	1			1 (0.5%)	1	1				1		1	3 (3.9%)	3	4 (1.5%)	4	
Quillajaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Resedaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Ripongaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Schisandraceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Sphaerosepalaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Staphyleaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Strelitziaceae	1			1 (0.5%)	1										1 (0.4%)	1	
Clethraceae										1		1 (1.3%)	1		1 (0.4%)	1	
Cyperaceae						1				2		3 (3.9%)	2		3 (1.1%)	2	
Escalloniaceae										1		1 (1.3%)	1		1 (0.4%)	1	
Podostermaceae						1						1 (1.3%)	1		1 (0.4%)	1	
Talinaceae								1				1 (1.3%)	1		1 (0.4%)	1	
Typhaceae						1						1 (1.3%)	1		1 (0.4%)	1	

CHAPITRE VI : SYSTÉMATIQUE DES PHYTOSEIIDAE : ÉTUDE DES RELATIONS PHYLOGÉNÉTIQUES DES TROIS SOUS-FAMILLES

6.1. Problématique

Établir la classification des acariens de la famille Phytoseiidae est un enjeu majeur pour mieux comprendre leur diversité et envisager de potentielles applications dans les programmes de lutte biologique. Cependant, comme pour la grande majorité des autres familles d'acariens, l'étude de la taxonomie des Phytoseiidae nécessite un travail complexe (Moraes *et al.*, 2004).

La systématique des Phytoseiidae a une histoire longue et controversée, principalement à cause de la petite taille de ces acariens et à la difficulté de déterminer les caractéristiques morphologiques les plus pertinentes pour le diagnostic des espèces et la définition des taxa supra-spécifiques (Tsolakis & Ragusa, 2015). Les hypothèses sur lesquelles est fondé l'actuel système de classification des Phytoseiidae ont été majoritairement conçues par Chant et McMurtry (1994, 2003a, b ; 2004a, b, 2005a, b, c, 2006a, b, 2007). Malgré les apports de entre autres Schuster & Smith (1960) et Athias-Henriot (1967, 1971), suggérant l'importance de la prise en compte de la forme des spermathèques, de la plaque ventrianale et des chélicères dans la systématique des Phytoseiidae, Chant et McMurtry se sont essentiellement basés sur la chaetotaxie dorsale et ventrale, dont la valeur taxonomique a été fixée de façon « arbitraire » par ces auteurs. En dehors de ces divergences d'opinions entre taxonomistes sur la pertinence évolutive des caractères morphologiques, l'établissement d'un système de classification plus fiable des Phytoseiidae est aussi limité par le manque de moyens méthodologiques et notamment de marqueurs moléculaires pertinents et faciles à amplifier (voir **chapitre IV**). Dans la littérature, divers auteurs (i.e. Kanouh *et al.*, 2010b ; Tixier *et al.*, 2011a ; Tsolakis *et al.*, 2012) défendent l'utilisation d'approches intégratives, notamment utilisant des données moléculaires et morphologiques pour mieux caractériser les niveaux supra-spécifiques des Phytoseiidae. Le **chapitre IV** a été consacré à tester et sélectionner des marqueurs moléculaires pertinents pour

caractériser ces relations. Sur la base de ces développements méthodologiques et après avoir montré leur utilité pour étudier la tribu des Euseiini, nous allons maintenant mettre en œuvre ces méthodologies pour caractériser les relations phylogénétiques entre les taxa de l'ensemble de la famille.

6.2. Objectifs et hypothèses testées

De façon plus précise, les objectifs de ce travail peuvent être structurés en quatre grands points :

- (i) Les trois sous-familles Amblyseiinae, Typhlodrominae et Phytoseiinae sont-elles monophylétiques ?
- (ii) Les tribus et les genres appartenant à ces sous-familles sont-ils monophylétiques ?
- (iii) Les caractères morphologiques soulignés par Athias-Henriot (école française-européenne) et par Chant & McMurtry (école américaine) supportent-ils les conclusions des analyses de phylogénie moléculaire ?
- (iv) Une dernière question que nous n'aurons pas le temps d'aborder dans ce chapitre mais qui le sera dans les futurs travaux est : comment les connaissances biogéographiques et écologiques (plantes hôtes) à notre disposition permettent de comprendre l'évolution de ces taxa et quelles conséquences la mise en relation de l'ensemble de ces données peut elle avoir en terme de lutte biologique ? Est-ce que les taxa phylogénétiquement proches partagent des origines géographiques, écologiques et des traits d'histoire de vie communs ? Quel crédit prédictif peut-on donner à ces phylogénies pour appréhender l'efficacité, la spécificité de ces prédateurs ?

6.3. Les défis à relever et les solutions proposées

Pour répondre à des questions liées aux relations évolutives entre les taxa de la famille des Phytoseiidae, l'échantillonnage est un facteur limitant, et peut entraîner un biais dans l'interprétation des données. Cependant, selon Savoie-Zajc (2006) une démarche « scientifiquement valide » ne peut être définie dans l'absolu. Ainsi,

malgré nos efforts, nous n'avons pu rassembler qu'une partie des espèces et des genres de Phytoseiidae du fait des **problèmes suivants** :

- La famille des Phytoseiidae comprend de nombreux genres monotypiques, dont la seule espèce a parfois été signalée une seule fois, il y a quelquefois très longtemps dans des habitats lointains et peut être disparus. Trente-cinq genres de Phytoseiidae sont monotypiques et 15 sont constitués de moins de cinq espèces.

- Certaines espèces (autre celles des genres monotypiques) aux caractéristiques intéressantes sont également rares et difficiles à trouver et à échantillonner.

- L'échantillonnage peut être freiné dans le cas de ces espèces difficiles à trouver par des aspects financiers (coût des missions) et des aspects législatifs relatifs aux règles en vigueur pour utiliser les ressources et importer ces espèces dans les laboratoires en France.

Nous avons cependant pu étudier 29 genres de Phytoseiidae sur les 91 inclus dans la famille. Pour obtenir les séquences de ces taxa, nous avons mis en œuvre **plusieurs solutions** :

- Une compilation de la littérature (signalement des taxa intéressants) pour déterminer les localités les plus faciles à échantillonner et celles dans lesquelles la probabilité de trouver ces espèces était la plus grande.

- Une veille bibliographique pour déterminer si parmi les publications récentes portant sur l'étude biologique des espèces de Phytoseiidae, certaines concernaient des espèces intéressantes. Auquel cas, cela signifiait pour nous, que ces auteurs pouvaient détenir des élevages de ces espèces.

- Une veille régulière sur Genbank afin de compiler les séquences de Phytoseiidae déposées.

- Une analyse de ces séquences pour déterminer si les fragments d'ADN étaient homologues à ceux constituant notre jeu de données (par exemple, plusieurs fragments correspondant à différentes parties du COI sont inclus dans Genbank).

Ce travail est réalisé en continue. Nous l'avons arrêté pour définir les relations phylogénétiques des taxa compris dans notre jeu de données, mais il est clair que la compilation des séquences de taxa de Phytoseiidae se continuera dans l'avenir.

6.4. Méthodologie mise en œuvre pour l'étude des relations phylogénétiques des trois sous-familles de Phytoseiidae

- *Les taxa considérés*

Les 85 espèces considérées sont réparties dans les trois sous-familles des Phytoseiidae, 11 tribus et 29 genres. L'espèce *Stratiolaelaps scimitus* Berlese, famille Laelapidae (ordre Mesostigmata) a été choisie pour constituer le groupe externe. Les espèces étudiées sont répertoriées dans le **Tableau IV**. Notre jeu de données était composé :

Pour la sous-famille Phytoseiinae. Les espèces de la sous-famille Phytoseiinae sont réparties en trois genres (Chant & McMurtry, 1994). Nous avons pu étudier un seul de ces genres, *Phytoseius* Ribaga, correspondant à plus de 90% des espèces de cette sous-famille.

La sous-famille Typhlodrominae. La sous-famille des Typhlodrominae comprend six tribus et 23 genres (Chant & McMurtry, 1994, 2007). Nous avons pu prendre en compte dans ce travail quatre tribus et six genres.

- La tribu des Typhlodromini Scheuten : des représentants des trois genres de cette tribu ont été inclus dans l'analyse : *Typhlodromus* Scheuten, *Typhloseiulus* Chant & McMurtry et *Neoseiulella* Muma. Le genre *Typhlodromus* est divisé en deux sous-genres : *Typhlodromus* (*Anthoseius*) et *Typhlodromus* (*Typhlodromus*), tous les deux sont inclus dans nos analyses.

- La tribu Galendromimini (Chant & McMurtry) comprend quatre genres, mais nous n'avons pu considérer qu'un de ces genres : *Cydnoseius* (Muma).

- La tribu Paraseiulini Wainstein comprend trois genres, représentés ici par plusieurs espèces du genre *Paraseiulus* (Muma).

- La tribu Metaseiulini (Chant & McMurtry) est composée de quatre genres. Nous n'avons pu prendre en compte dans notre travail qu'une espèce du genre *Galendromus* Muma (et sous-genre *Galendromus*).

La sous-famille Amblyseiinae. La sous-famille des Amblyseiinae comprend neuf tribus et 65 genres (Chant & McMurtry, 2006 ; 2007). Nous avons pu étudier ici sept tribus et 22 genres.

- La tribu des Euseiini Chant & McMurtry est représentée par deux de ces trois sous-tribus, Typhlodromalina Chant & McMurtry, qui comprend six genres (ici considérés : les genres *Amblydromalus* et *Typhlodromalus*) et la tribu Euseiina Chant & McMurtry, qui comprend trois genres (ici considérés les genres *Euseius* et *Iphiseius*).

- La tribu Kampimodromini (Kolodochka) est divisée en trois sous-tribus, toutes les trois ont été incluses dans les analyses : Typhloseiellina Chant & McMurtry, représentée par son unique genre *Typhloseiella* Muma ; Kampimodromina Chant & McMurtry, composée de huit genres et ici représentée par trois genres (*Kampimodromus* Nesbitt, *Okiseius* Ehara et *Eharius* Tuttle & Muma) ; Paraphytoseiina Chant & McMurtry, composée de trois genres représentée ici par le genre *Paraphytoseius* Chant.

- La tribu des Amblyseiini Muma est composée de trois sous-tribus ; toutes les trois ont été incluses dans l'analyse : Amblyseiina Muma, composée de huit genres, et ici représentée par les genres *Amblyseius* Berlese et *Transeius* Chant & McMurtry ; Arrenoseiina Chant & McMurtry, composée par cinq genres, ici représentée par *Arrenoseius* Wainstein (*species group urquharti*) et *Iphiseiodes* De Leon ; Proprioseiopsina Chant & McMurtry composée également de cinq genres, ici représentée par *Proprioseiopsis* Muma.

- La tribu Macroseiini Chant, Denmark & Baker représentée par son seul genre *Macroseius* Chant, Denmark & Baker.

- La tribu Phytoseiulini Chant & McMurtry, représentée par plusieurs espèces de son seul genre *Phytoseiulus* Evans.

- La tribu Typhlodromipsini Chant & McMurtry est représentée dans l'analyse par trois de ses neuf genres. Le genre *Knopkirie* Beard, le genre *Scapulaseius* Karg & Oomen-Kalsbeek et le genre *Typhlodromips* De Leon.

- La tribu Neoseiulini Chant & McMurtry représentée par trois des ses neuf genres : *Neoseiulus* Hughes, *Macrocaudus* Moraes, McMurtry & Mineiro et *Paragigagnathus* Amitai & Grinberg.

Tableau IV. Les espèces étudiées et les origines des séquences par marqueur, (*) obtenues pendant ce travail de thèse et / ou présentes dans notre base de données ; obtenues dans Genbank (accession numbers).

Sub-families	Genera	Species	Country	Localitation	Molecular marker / Accession number - Genbank					
					12S	COI	CYT	28S	HSP	ITS
Amblyseinae	<i>Amblydromalus</i>	<i>limonicus</i>	-	Koppert	*	*	*	*	*	*
		<i>andersoni</i>	France	Mazières	*	*	*	*	*	*
		<i>cinctus</i>	-	-	*		*	*	*	*
		<i>herbicolus</i>	New Caledonia	Garraria	*	*	*	*	*	*
		<i>largoensis</i>	New Caledonia	Nouméa	*	*	*	*	*	*
	<i>Amblyseius</i>	<i>rademacheri</i>	-	Genbank		JX080316.1				
		<i>segregans</i>	Guadeloupe	-	*	*	*			*
		<i>swirskii</i>	-	Koppert	*	GQ303454.1	*			*
		<i>tamatavensis</i>	Brazil	-	*	*		*	*	*
		<i>tsugawai</i>	-	Genbank		JX080325.1		AB621634.1		JX080325.1
		<i>eharai</i>	-	Genbank		JX080344.1		AB621632.1		AB618059.1
	<i>Arrenoseius</i>	<i>crassipes</i>	Guadeloupe	-	*	*	*	*		*
	<i>Eharius</i>	<i>chergui</i>	France	-	*		*			*
		<i>citrifolius</i>	Brazil	Rio Claro	*	*	*	*	*	*
		<i>concordis</i>	Brazil	Rio Claro	*	*		KM979697		Y18270
		<i>finlandicus</i>	France	Bourgogne	*	FJ404593.1	*	*	*	*
		<i>fustis</i>	Kenya	Nairobi	*	*	*	*	*	*
		<i>gallicus</i>	France	Montpellier	*	*	*	*	*	*
		<i>nicholsi</i>	China	-	GU294122.1	KF308682.1	NC_026788.1			GU244501.1
	<i>Euseius</i>	<i>noumeae</i>	New Caledonia	Nouméa	*	*	*	*	*	*
		<i>ovalis</i>	-	Syngenta	HQ404835	*	*	*	*	HQ404801
		<i>ovaloides</i>	Guadeloupe	Grande Terre	*	*	*	*	*	*
		<i>scutalis</i>	Morocco	Meknes	*	*	*	*	*	*
		<i>sojaensis</i>	Japan	Genbank				AB618064.1		AB618064.1
		<i>stipulatus</i>	Spain	Valencia	*	FJ404583.1	*	*	*	*
		<i>tularenis</i>	USA	Florida	*	*	*	*	*	*
	<i>Iphiseiodes</i>	<i>zuluagai</i>	Guadeloupe	-	*	*	*	*	*	*
	<i>Iphiseius</i>	<i>degenerans</i>	Italy	Sicily	*	*	*	*	*	*
		<i>aberrans</i>	France	Montpellier	*	*	*	*	*	*
	<i>Kampimodromus</i>	<i>corylosus</i>	France	Bourgogne	*	*	*			*
		<i>hmiminai</i>	Morocco	-	*	*	*			*
	<i>Knopkirie</i>	<i>petri</i>	New Caledonia	Nouméa	*		*	*		*
	<i>Macrocaudus</i>	<i>multisetatus</i>	-	Genbank				KM979690.1		
	<i>Macroseius</i>	<i>biscutatus</i>	-	Genbank		KU976104.1				
		<i>agrestis</i>	-	Genbank	HQ404850.2					HQ404814.1
		<i>anonymus</i>	-	Genbank				KM979713.1		
		<i>barkeri</i>	Tunisia	-	*		*	KM979698.1		KP642042.1
	<i>Neoseiulus</i>	<i>californicus</i>	France	Midi Pyrénées	KC810041	KU318180	JF279225	*	*	JF279106
		<i>cucumberis</i>	-	Syngenta			*		*	*
		<i>fallacis</i>	Canada	-	*	*	*	*	*	*
		<i>longilaterus</i>	Israel	-	*		*			*
		<i>tunus</i>	Brazil	-	HQ404848.1			KM979694.1		HQ404812.1
		<i>womersleyi</i>	Japan	Genbank			KF966634.1	AB621633.1		HQ404820.1
	<i>Okiseius</i>	<i>subtropicus</i>	Guadeloupe	-	*		*	*	*	*
	<i>Paragigagnathus</i>	<i>sp.</i>	France	Montpellier	*	*	*			
	<i>Paraphytoseius</i>	<i>cracentis</i>	New Caledonia	-	*			*		*
		<i>fragariae</i>	Argentina	-	FJ985127.1	*	FJ985090.1			GU591666.1
	<i>Phytoseiulus</i>	<i>longipes</i>	Brazil	Uruguaiana	FJ952516	*	GU591685	*	*	GU591674
		<i>macropilis</i>	Argentina	-	FJ985129.1		FJ985095.1	KM979695.1		GU591661.1
		<i>persimilis</i>	-	Syngenta	FJ98511	*	FJ98508	*	*	GU59167
		<i>asetus</i>	-	Genbank						KJ630510.1
	<i>Proprioiseiopsis</i>	<i>penai</i>	Guadeloupe	-			*	*		*
	<i>Scapulaseius</i>	<i>okinawanus</i>	Japan	Genbank		JX080324.1				AB862880.1
	<i>Transeius</i>	<i>montdorensis</i>	New Caledonia	-	*		*	*	*	*
	<i>Typhlodromalus</i>	<i>aripo</i>	Kenya	Nairobi	*	*	*	*	*	*
	<i>Typhlodromips</i>	<i>amilus</i>	Guadeloupe	Basse Terre	*	*	*	*		*
	<i>Typhloseiella</i>	<i>isotricha</i>	France	Montpellier	*	*	*			*

Tableau IV. (Continuation).

Sub-families	Genera	Species	Country	Localitation	Molecular marker / Accession number - Genbank					
					12S	COI	CYT	28S	HSP	ITS
Phytoseiinae	<i>Phytoseius</i>	<i>aleuritius</i>	-	Genbank		JX080306.1				
		<i>finitimus</i>	France	Corsica	*	*	*	*	*	*
		<i>horridus</i>	France	-			*			
		<i>minutus</i>	-	Genbank		JX080309.1				
		<i>ribagai</i>	France	-	*		*			*
Typhlodrominae	<i>Cydnoseius</i>	<i>negevi</i>	Israel	-	*					*
	<i>Galendromus</i> (<i>Galendromus</i>)	<i>occidentalis</i>	USA	California	EF221760	*	*		*	*
	<i>Neoseiulella</i>	<i>litoralis</i>	France	Villeneuve	*	*	*			*
		<i>tuberculata</i>	France	Massif central	*		*	*		*
		<i>aceri</i>	France	Montpellier	GU938121.1		GU938138.1	*		GU938184.1
		<i>tiliarum</i>	France	Massif central	*		*			*
	<i>Paraseiulus</i>	<i>soleiger</i>	France	-	*					*
	<i>Typhlodromus</i> (<i>Anthoseius</i>)	<i>cryptus</i>	Italy	-	*	*	*	*		*
		<i>athenas</i>	Greece	-	*	*	*			
		<i>commenticius</i>	France	-	*	*	*			*
		<i>foenilis</i>	France	-	*		*			
		<i>recky</i>	France	Montpellier	*					
		<i>rhenanoides</i>	France	Montpellier	*	*	*	*	*	*
		<i>vulgaris</i>	New Caledonia	-	*		*			*
		<i>athiasae</i>	Israel	-	*	*	*			*
	<i>Typhlodromus</i>	<i>exhilaratus</i>	France	Restinclières	HQ404831	JF279182	JF279286	*	*	JF279155
	<i>(Typhlodromus)</i>	<i>phialatus</i>	France	Restinclières	HM635273	*	HM635299	*	*	JN793515
		<i>pyri</i>	France	Valleraugues	JF279049	JF279162	JF279266	*	*	JF279145
	<i>Typhloseiulus</i>	<i>carmonae</i>	France	-	*	*	*			
		<i>erymanthii</i>	-	Genbank	KR018576.1	KR018523.1				
		<i>simplex</i>	Israel	-	*		*	*		*
		<i>eleonora</i>	-	Genbank	KR018567.1	KR018509.1				

- *Les analyses moléculaires*

Six marqueurs moléculaires, trois mitochondriaux (12S ARNr, COI ADN mt et CytB ADN mt) et trois nucléaires (28S ARNr, ITSS et HSP90) ont été utilisés (voir **chapitre IV, section 4.5**). Les extractions d'ADN ont été faites individuellement en utilisant le kit Qiagen DNA Blood and Tissue comme présenté dans Kanouh *et al.* (2010a). Les spécimens vouchers ont été récupérés et montés entre lames et lamelles après l'extraction (Tixier *et al.*, 2010b). Les conditions de PCR et d'électrophorèse sont celles décrites dans le **chapitre IV (section 4.5)**. Les produits PCR ont été séquencés le long des deux brins en utilisant le kit de séquençage Dynamic ET Terminator - ExoSAP-IT (Amersham). Le séquenceur utilisé est l'appareil Megabase 1000.

- *Les analyses phylogénétiques*

Les séquences nucléotidiques des marqueurs amplifiés ont été comparées à des séquences déjà publiées en utilisant les algorithmes BLAST et CodonCode Aligner (4.0.4.) (CodonCode, Inc., Centerville, MA, USA). Les modèles de substitution ont été déterminés par Modeltest 3.6 (Posada & Crandall, 1998) dans PAUP *, v.4.0b.10 / (Swofford 2002). Les données ont été concaténées et partitionnées (12S+COI+CYT+28S+HSP+ITS) (Mickey & Farris, 1981 ; Farris *et al.*, 1994 ; Sullivan, 1996 ; Cunningham, 1997). L'analyse bayésienne a été réalisée en utilisant MrBayes 3.1 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Le nombre de catégories utilisées pour approcher la distribution gamma était quatre, et quatre chaînes de Markov ont été exécutées pour 20.000.000 générations.

6.5. Résultats obtenus

Un nombre total de 3,454 paires de bases ont été analysées, avec 412, 557, 393, 837, 724 et 511 pb respectivement pour les marqueurs 12S rRNA, COI mtDNA, CytB mtDNA, 28S rRNA, ITSS et HSP90. L'arbre consensus strict obtenu par analyse bayésienne est présenté sur la **Figure 8**.

La monophylie de la famille Phytoseiidae a été constatée. Cependant, les relations observées entre chacune des trois sous-familles, pour la majorité des tribus, sous-tribus, genres et sous genres ne soutiennent pas les hypothèses morphologiques actuellement acceptées. Nous allons analyser ces données en fonction de chacun de ces niveaux taxonomiques.

- *La sous-famille Phytoseiinae*

Les espèces de Phytoseiinae considérées appartiennent toutes au genre *Phytoseius*. L'ensemble de ces espèces est inclus dans un clade monophylétique, montrant donc la monophylie de ce genre. En revanche, ce genre est inclus dans un clade comprenant des taxa de la sous-famille des Typhlodrominae, remettant en cause la définition même de ces deux sous-familles. Cependant, les valeurs des probabilités postérieures sont assez basses et clairement d'autres marqueurs relatant une histoire évolutive plus ancienne sont nécessaires pour conclure définitivement.

- *La sous-famille Typhlodrominae*

Bien que la majorité des taxa de cette sous-famille soit groupée dans un même clade, ce clade contient aussi les espèces du genre *Phytoseius* (sous-famille Phytoseiinae). De plus, les tribus proposées par Chant & McMurtry (1994, 2007) ne sont que partiellement soutenues.

La tribu Typhlodromini est polyphylétique. Tous les individus de cette tribu sont inclus dans un même clade qui comprend aussi des espèces du genre *Phytoseius* (Phytoseiinae), des espèces de la tribu Paraseiulini (Typhlodrominae) et des espèces aussi de la sous-famille des Amblyseiinae (genres *Paraphytoseius* et *Paragigagnathus*). Ces résultats interrogent quant à (i) l'homologie des caractères pris en compte pour définir la classification actuelle et (ii) à la valeur de certains caractères (comme la présence de la soie z6 portée par les Paraseiulini) pour définir des tribus.

Les espèces du genre *Typhlodromus* sont incluses dans un même clade comprenant aussi d'autres taxa d'autres genres. Aucune séparation entre les sous-genres *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) et *Typhlodromus* (*Anthoseius*) est observée, remettant en question la définition de ce genre et de ces sous-genres (basée sur la présence / absence de la soie S5 sur le dorsum). De plus, il est intéressant de noter que l'espèce de *Typhlodromus* (*Anthoseius*) *vulgaris* collectée dans la zone biogéographique Australasienne est éloignée des clades comprenant des espèces de ce genre collectées en Europe. Certaines convergences évolutives concernant les caractères pour définir actuellement les genres peuvent donc être suspectées. Les espèces du genre *Neoseiulella* et *Typhloseiulus* sont incluses dans un même clade. Les distinctions morphologiques entre ces deux genres basées sur l'épaisseur des soies sur le dorsum ne semblent pas soutenir la constitution de deux genres différents.

Les représentants des deux autres tribus de Typhlodrominae (Galendromimini et Metaseiulini) sont inclus le clade comprenant les espèces de la sous-famille des Amblyseiinae. Les valeurs de bootstrap sont cependant faibles. L'étude de davantage de données est donc nécessaire pour conclure. Les deux espèces considérées ont 5 soies sur la partie antérieure latérale du dorsum ; les autres espèces de Typhlodrominae en ont six et les espèces d'Amblyseiinae quatre. Chant & McMurtry (1994 ; 2007) ont considéré ces taxa plus proches que des Typhlodrominae que des Amblyseiinae. Ces résultats (même s'ils doivent être confirmés) tendent à montrer l'inverse.

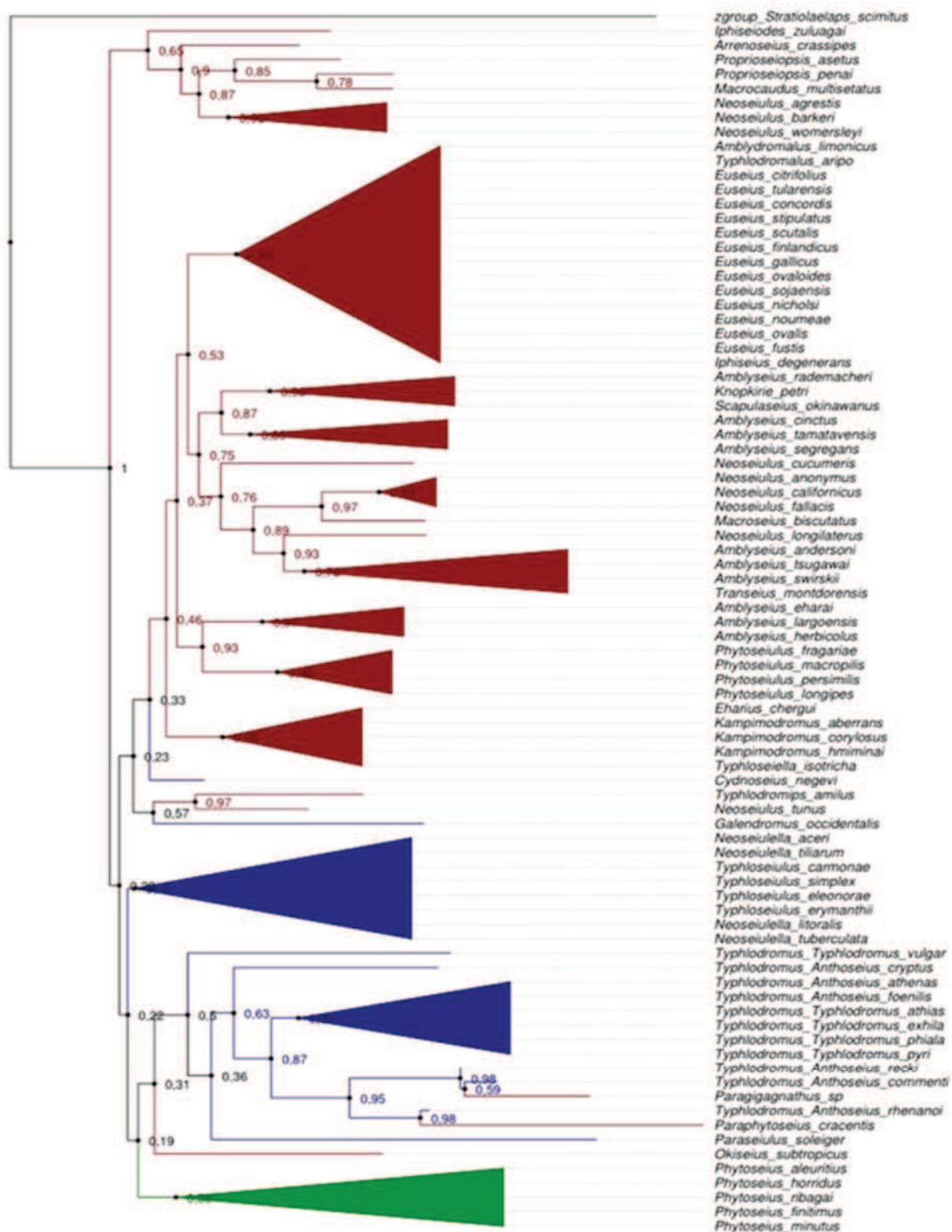


Figure 8. Arbre phylogénétique obtenu par analyse bayésienne des six marqueurs moléculaires (12S, CYTB, COI, ITSS, HSP90, 28S) comprenant 29 genres et 11 tribus des trois sous-familles de Phytoseiidae : Amblyseiniinae (rouge), Typhlodrominae (bleu) et Phytoseiinae (vert).

- *La sous-famille Amblyseiinae*

La sous-famille Amblyseiinae est un groupe polyphylétique, contrairement aux hypothèses de Chant & McMurtry (1994, 2007). Un groupe comprenant des espèces des genres *Neoseiulus*, *Proprioseiopsis*, *Macrocaudus*, *Macroseius* et *Iphiseiodes* est en position basale de l'arbre et très éloigné des autres taxa de la sous-famille et même des taxa de la sous-famille des Typhlodrominae. Le genre *Proprioseiopsis* dans ce groupe semble être polyphylétique. Il est difficile d'identifier une unité morphologique à l'ensemble des espèces de ce groupe. Il contient majoritairement des espèces aux plaques ventrianale larges. Il est intéressant de noter que les taxa inclus dans ce groupe sont connus pour être présents sur des plantes aquatiques (*Macrocaudus*) et dans le sol ou de la mousse (*Proprioseiopsis*, *Neoseiulus barkeri*, *N. agrestis*). Or, le sol est supposé être l'origine de la famille des Phytoseiidae qui aurait connu une forte radiation après l'émergence des angiospermes (Chant & McMurtry, 1994). Ce sont aussi des espèces au dorsum généralement sclérotinisé. La position basale de ce clade trouve donc une certaine cohérence biologique, cependant davantage d'études bioécologiques devraient être menées pour tester cette hypothèse.

La monophylie de certaines tribus actuellement proposées est confirmée par cette étude. C'est notamment le cas des tribus Phytoseiulini et Euseiini. Les espèces des genres *Eharius*, *Typhloseiella*, *Kampimodromus* appartenant à la tribu Kampimodromini sont incluses dans un même clade. Cependant, les genres *Okiseius* et *Paraphytoseius*, placés par Chant & McMurtry (2003b) dans cette tribu, sont inclus dans le clade comprenant les espèces de la sous-famille des Typhlodrominae. L'absence de la soie S4 (sur le dorsum) semble donc être une convergence évolutive et pas une synapomorphie de la tribu des Kampimodromini. La distribution géographique disjointe dans cette tribu avait déjà fait émerger une telle hypothèse (Tixier *et al.*, 2009). Les genres *Eharius*, *Kampimodromus* et *Typhloseiella* sont présents dans la zone européenne et notamment le pourtour méditerranéen alors que les espèces des genres *Okiseius* et *Paraphytoseius* ont plutôt une distribution orientale et australasienne (Tixier *et al.*, 2008c).

Les tribus Amblyseiini, Neoseiulini et Typhlodromipsini sont également clairement polyphylétiques. Ce résultat confirme les observations du chapitre précédent (tribu

Euseiini) et les conclusions de Tsolakis *et al.* (2012) quant à la polyphylie du genre *Neoseiulus*. Ici aussi, les espèces de ce genre sont observées dans plusieurs groupes phylogénétiquement éloignés. A noter la proximité entre les espèces de *Neoseiulus* (*N. californicus*, *N. fallacis*, *N. longilaterus*, *N. anonymus*) avec les espèces du genre *Amblyseius* (*A. andersoni*, *A. swirskii*, *A. tsugawai*) et *Transeius montdorensis*. Ces espèces ont certaines caractéristiques communes notamment la forme des solénostomes (*gv3*) sur la plaque ventrianale et de la spermathèque. A noter aussi que le genre *Transeius* est inclus dans le clade comprenant les espèces *Amblyseius andersoni*, *A. swirskii* et *A. tsugawai* remettant en question la validité du genre *Transeius* et/ou l'appartenance de l'espèce *T. montdorensis* à ce genre.

Un autre groupe comprenant des espèces d'*Amblyseius* (*A. cinctus*, *A. tamatavensis*, *A. segregans*) est observé. Il est proche d'un autre clade comprenant *Knopkirie petri*, *Scapulaseius okinawanus* et *Amblyseius rademacheri*. Ce regroupement d'espèces de trois genres dans un même clade remet en question la validité de ces genres. Les genres *Knopkirie* et *Scapulaseius* appartiennent à la tribu Typhlodromipsini. Il est intéressant de noter que *A. rademacheri* avait été également placée dans cette tribu (genre Typhlodromips) avant son transfert dans le genre *Amblyseius* en 2007. Cependant, la tribu Typhlodromipsini semble polyphylétique car l'autre espèce de cette tribu *Typhlodromips amilus* est phylogénétiquement éloignée de ce dernier groupe et proche de *Neoseiulus tunus*.

Finalement, un autre clade d'espèces du genre *Amblyseius* (*A. eharai*, *A. largoensis*, *A. herbicolus*) est observé. Ces espèces font partie du même « species group » défini par Chant & McMurtry (2007). Cependant il semble davantage un genre différent qu'un groupe à l'intérieur d'un genre. Ce groupe est proche des espèces du genre Phytoseiulini (genre *Phytoseiulus*). Les ressemblances morphologiques entre ces taxa ne sont pas évidentes sinon des spermathèques aux calyx effilés.

- Considérations finales et perspectives

Les résultats de ce travail remettent en question la classification actuelle des Phytoseiidae pour tous les rangs taxonomiques : sous-familles, tribus, genres et sous-genres. La classification actuelle repose donc clairement sur des caractères morphologiques convergents. Vu le nombre d'incohérences avec la classification

admise, le travail à développer pour mettre en adéquation la systématique de cette famille avec son histoire évolutive est considérable. Certains éléments morphologiques, bioécologiques et biogéographiques permettent dans certains cas d'expliquer certains clades obtenus ; cependant pas pour tous. Des études plus approfondies prenant en compte ces caractères sont donc nécessaires. Cette première phylogénie pourrait servir de base pour la définition de nouveaux taxa et dans ce cadre l'étude d'autres caractères morphologiques semble devoir être envisagée : (i) des caractères visibles mais peu utilisés comme la chaetotaxie des pattes et/ou (ii) des caractères peu visibles (i.e. structure de la spermathèque, des pores, des chélicères) qui nécessitent pour être observés l'utilisation de matériel optique plus puissant (microscope à balayage électronique).

Il est également important d'envisager la prise en compte de davantage de taxa pour compléter notre jeu de données, conscient que cette étude ne comprend qu'une partie de la diversité des Phytoseiidae. Il semble aussi important de rechercher davantage de marqueurs moléculaires notamment pour résoudre les nœuds profonds, i.e. les relations anciennes.

CHAPITRE VII : DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

7.1. Rappel des objectifs

Ce travail de thèse s'est intéressé à l'étude de la taxonomie (niveaux spécifiques et supra-spécifiques) des acariens prédateurs de la famille des Phytoseiidae, en mobilisant des approches intégratives (moléculaires, morphologiques, biogéographiques, écologiques). De façon plus précise, les objectifs de ce travail étaient :

- (i) de caractériser des règles de décision moléculaire pour l'identification des espèces de Phytoseiidae,
- (ii) de caractériser les marqueurs moléculaires apportant un signal informatif adapté à la caractérisation des taxa supra-spécifiques des Phytoseiidae,
- (iii) d'appliquer ces méthodes pour étudier l'histoire évolutive de la tribu des Euseiini puis de l'ensemble de la famille.

7.2. Synthèse des résultats : Taxonomie et diagnostic spécifique

Nous nous sommes intéressés à des questions liées à l'identification des Phytoseiidae, du fait de certains doutes concernant la validité des spécimens étudiés. Les deux travaux avaient des origines différentes. Dans le premier cas, il s'agissait de déterminer si une espèce trouvée dans une localité très éloignée des pays où elle est communément observée était bien l'espèce identifiée de façon morphologique, du fait de l'existence de nombreuses espèces cryptiques, du faible nombre de caractères à notre disposition et de la nature « inattendue » de cette observation. Dans le deuxième cas, il s'agissait d'élucider l'origine de variations importantes entre des séquences d'ADN mitochondrial appartenant *a priori* (bases morphologiques) à une même espèce pour des populations situées dans l'aire de distribution de l'espèce. Dans les deux cas, les espèces étudiées (*A. swirskii* et *P. finitimus*) sont des espèces importantes en lutte biologique, la première est commercialisée et lâchée dans les agrosystèmes (serres notamment) et la deuxième est une espèce commune dans les vignobles du sud de l'Europe pouvant contrôler

naturellement des acariens phytophages. Déterminer l'identité de ces deux espèces était donc primordial pour des visées appliquées. Nous avons ainsi montré que *A. swirskii* était installée à l'île de la Réunion, ce qui peut clairement faciliter par la suite son utilisation en lutte biologique (permis d'importation par exemple). Nous avons également montré dans le cas de *P. finitimus* que malgré les variations mitochondriales importantes, toutes les populations appartenaient à la même espèce. Cependant, les populations présentes dans les agrosystèmes sont plus proches entre elles qu'avec une population collectée dans les abords non cultivés. Ce travail soulève donc des interrogations quant aux échanges entre milieu cultivé et non cultivé, aux caractéristiques biologiques de ces populations présentes dans des milieux différents et en filigrane à l'impact de ces différences sur l'efficacité de la lutte biologique par conservation de la biodiversité. Outre les aspects appliqués, ce travail pose certaines bases concernant les pièges à éviter dans le cadre de l'identification moléculaire.

Tout d'abord, les approches intégratives comprenant des analyses (et connaissances) des caractères morphologiques et des analyses moléculaires sont absolument nécessaires. L'analyse comparative de caractères morphologiques et moléculaires permet d'obtenir un faisceau de preuves indispensables pour conclure (Dayrat *et al.*, 2010). En effet, il est assez évident que des règles simples phénotypiques (moléculaire et morphologique) sont nécessaires car il est la plupart du temps impossible de réaliser des croisements pour avoir la preuve biologique de l'espèce (spécimens collectés morts, difficulté de trouver ces mêmes populations sur le terrain, difficulté si des collectes de spécimens vivants qu'il est impossible d'élever, temps important pour réaliser les croisements etc. ...). Donc le concept biologique de l'espèce même si il est le seul capable d'apporter une preuve expérimentale n'est pas toujours facile à tester et il ne peut pas être implémenté dans le cadre d'identifications massives et / ou routinières. Les solutions alternatives sont donc bien la comparaison des caractères morphologiques et moléculaires.

Concernant les caractères morphologiques, Tixier (2012, 2013) a proposé des règles de décision statistiques permettent de définir où s'arrête la variation intraspécifique et où commence la variation interspécifique. Pour les données moléculaires, il n'en est pas de même. Ce travail a permis donc de poser certaines bases, d'étudier la

pertinence de différentes méthodes proposées dans la littérature (arbres et clades ; distances intra et interspécifiques ; méthodes de détection automatique de gaps). Il semble clair que le concept le plus facile à mobiliser et aussi le plus fiable soit celui des distances génétiques si tant est qu'une base de décision existe. Nous avons défini cette base avec les données disponibles jusqu'à aujourd'hui dans la littérature, ce qui permettra de faciliter les décisions : distance correspondant à de la variation intra ou interspécifique. Dans Genbank, on recense 2,135 séquences pour 72 espèces de Phytoseiidae. 90% des séquences correspondent aux fragments 12S rRNA, CytB mtDNA, COI mt DNA et ITSS (Figure 9). Les tableaux de la figure 9 montrent que même si c'est pour le COI mtDNA qu'il y a le plus de séquences c'est aussi pour ce fragment que beaucoup de séquences ne sont pas attribuées à des noms d'espèces. Il semble donc que les bases de données permettant de comparer des individus inconnus aux références les plus complètes correspondent à celles pour les fragments 12S rRNA et ITSS.

Enfin, l'approche intégrative concerne aussi les marqueurs moléculaires eux mêmes. En effet, si une séquence d'ADN d'un marqueur donné peut comprendre beaucoup de caractères (correspondant à autant de paires de bases), ce marqueur donne en lui même une information qui est liée à sa propre histoire (voie d'hérédité, taux de fixation des mutations) selon ce pour quoi il code (ou non) et sa localisation dans la cellule (mitochondrie ou noyau) (Lohse & Ross, 2015). Nous avons montré que dans le cadre d'une identification moléculaire il est préférable d'associer l'utilisation d'un marqueur mitochondrial à celle d'un marqueur nucléaire. La figure 10 montre les variations intra et interspécifique des deux marqueurs 12S et ITSS en utilisant les données actuellement disponibles et compilées de la littérature. Enfin, la figure 11 propose une procédure simple de règles de décision, incluant aussi des préoccupations budgétaires (temps et coût de la séquence).

7.3. Conclusions et perspectives : Taxonomie et diagnostic spécifique

Ce travail concernant le diagnostic, même s'il a permis de répondre à des cas concrets, soulève certaines interrogations et pour le moins ouvre des perspectives pour l'avenir.

- **Quelles règles statistiques pour l'identification moléculaire des Phytoseiidae ?**

Ce travail permet de donner des seuils et limites assez brutes. Tout comme cela a été fait pour les caractères morphologiques continus, on pourrait développer à l'avenir des règles de décision basées sur la distribution statistique des distances intra et interspécifiques pour associer à une décision, un risque d'erreur.

- **Quelles bases de données pour comparer les séquences obtenues ?**
Comment organiser le stockage de ces informations ?

Pour fiabiliser le diagnostic moléculaire, les bases de données utilisées doivent être complètes. Nous avons vu dans le paragraphe précédent, que la base de données mondiale Genbank ne comprend des séquences que pour 72 espèces de Phytoseiidae. De plus, pour une même espèce il n'est pas évident d'avoir à la fois des séquences d'ADN mitochondrial et nucléaire pour réaliser les comparaisons appropriées. Dans les autres bases de données telles que celles du GBIF, la situation n'est pas meilleure. Il existe donc un enjeu important concernant la « complétude » de ces bases de données de référence. L'autre enjeu concerne l'exactitude des données référencées dans ces bases. En effet, comme pour d'autres groupes (i.e. Bridge *et al.*, 2003 ; Valkiunas *et al.*, 2008) ; Tixier *et al.* (2011b) a soulevé les problèmes liés à certaines séquences dans Genbank (séquences de proies à la place de celle des prédateurs, noms scientifiques erronés, erreur d'identification ...). Des bases de données institutionnelles associées à un dépôt et un référencement de « vouchers spécimens » pourraient être envisagées.

- **Quels marqueurs moléculaires pour l'avenir ?**

L'utilisation des séquençages haut débit (NGS) pourrait fiabiliser les méthodes de diagnostic moléculaire en permettant d'obtenir de façon plus rapide un grand nombre de marqueurs moléculaires. De plus, l'utilisation des approches NGS ouvre de nouvelles perspectives en termes de diagnostic *via* les approches de barcoding environnemental ou metabarcoding. Ces approches permettent d'identifier de façon simultanée plusieurs espèces dans un même échantillon et même les proies

après avoir été ingérées par le prédateur (Cristescu, 2014 ; Gurr & You, 2015 ; Roslin & Majaneva, 2016)

7.4. Synthèse des résultats : Taxonomie et classifications supra-spécifiques

Pour analyser les relations entre les taxa supra-spécifiques de Phytoseiidae, la première étape est la mise au point de marqueurs adaptés à l'étude des rangs taxonomiques investigués. Les longues mises au point méthodologiques ainsi que les analyses réalisées montre que six marqueurs moléculaires (12S rRNA, CytB mtDNA, COI mtDNA, ITSS, HSP90, 28S rRNA) peuvent être utilisés : ils sont les plus faciles à amplifier et les plus pertinents pour caractériser les relations phylogénétiques entre les différents taxa supra-spécifiques de la famille des Phytoseiidae (voir **chapitre IV**). Les reconstructions phylogénétiques utilisant des marqueurs concaténés ont produit des arbres mieux soutenus que ceux obtenus avec un seul marqueur. Ce travail constitue une avancée importante car il permet de poser les bases méthodologiques qui vont permettre de répondre aux questions relatives à l'histoire évolutive des Phytoseiidae et au delà d'autres groupes d'acariens.

Sur la base de ces développements méthodologiques, nous avons mené deux études concernant les relations phylogénétiques des taxa supra-spécifiques ; la première concerne la tribu des Euseiini (**chapitre V**) et la deuxième l'ensemble de la famille (**chapitre VI**). La méthode de reconstruction phylogénétique bayésienne ainsi que les modèles d'évolution pour chaque marqueur se sont montrés pertinents et ont permis d'obtenir des arbres bien soutenus pour ces deux études. De plus, ces deux travaux ont également mis en évidence certaines incohérences avec la classification actuelle proposée par Chant & McMurtry (2007).

- Pour la tribu Euseiini (**chapitre V**), nous avons essayé de comprendre les causes des différences entre les résultats observés et les hypothèses de l'actuelle classification par des approches intégratives, avec l'implémentation de données, biogéographiques écologiques et morphologiques. L'utilisation d'approches biogéographiques a permis de dresser certaines hypothèses quant à l'histoire évolutive de cette tribu et de ses représentants (origine ouest-gondwanienne). Par ailleurs, l'implémentation de données écologiques (plantes hôtes) a permis de dresser l'hypothèse d'une origine de cette tribu avec l'apparition des plantes de la

classe des Rosides, notamment des ordres Malpighiales et Fabales. Cependant, les caractères morphologiques qui définissent les taxa dans l'actuelle classification des Phytoseiidae ne soutiennent globalement pas les clades observés. Toutefois, le caractère spermathèque semble expliquer certains clades à l'intérieur du genre *Euseius*.

- La division en trois sous-familles n'est pas soutenue par nos résultats, et nous avons également remis en question l'authenticité de certaines tribus et de certains genres. Cette première phylogénie des Phytoseiidae remet donc en question les théories de classification actuelles qui semblent être majoritairement basées sur des caractères convergents.

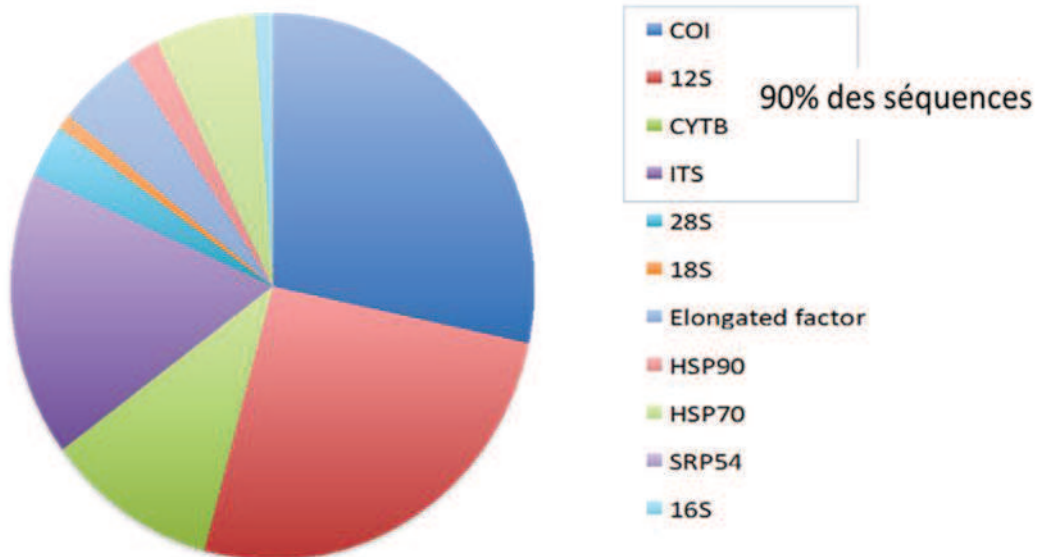
7.5. Conclusion et perspectives : Taxonomie et classifications supra-spécifiques

Tout au long de cette thèse, certains points relatifs à la complexité du système de classification des Phytoseiidae ont été abordés et illustrés. Même si ce travail a permis, à travers de deux jeux de données correspondant à plusieurs niveaux taxonomiques, d'apporter des éléments intéressants, ce travail ouvre également des perspectives et les questions suivantes.

- ***Est-ce que les six marqueurs moléculaires mis au point sont suffisants ?*** Dans la littérature, d'autres marqueurs sont utilisés pour résoudre les nœuds profonds des phylogénies des insectes et autres groupes d'acariens (i.e. Dabert *et al.*, 2010 ; Pistone *et al.*, 2016). C'est notamment le cas du gène 18S rRNA. Malgré nos tentatives, nous n'avons pas réussi à mettre au point un protocole permettant d'amplifier facilement ce marqueur pour les Phytoseiidae.

(Tixier, données personnelles)

(i) 2135 séquences dans Genbank



(ii)

	CYTB	12S	COI	ITS
Nbre de sequences totales	263 (12%)	626 (29%)	721 (34%)	345 (16%)
Nbre d'espèces	18	39+1	45+?	44

(iii)

	CYTB	12S	COI	ITS
Nbre de sequences totales	263 (15%)	625 (29%)	381 (34%)	342 (16%)
Nbre d'espèces	18	38	45	44

Figure 9. Proportion des séquences de Phytoseiidae dans Genbank (i) diversité des marqueurs, (ii) tableau présentant le nombre de séquences des marqueurs CYTB, 12S, COI et ITS et d'espèces correspondantes et (iii) tableau présentant le nombre de séquences des marqueurs CYTB, 12S, COI et ITS et nombre de séquences correspondant en ôtant les espèces non identifiées. (Tixier, données personnelles).

Cependant, vu le nombre de séquences de ce fragment dans Genbank pour des espèces de Phytoseiidae (**Figure 9**), on peut penser que des marges de progrès existent et que des approfondissements méthodologiquement nous permettront d'accéder à ce marqueur. L'intérêt serait de clarifier certaines relations « anciennes » notamment les nœuds moyennement soutenus dans ce présent travail de thèse. Les enjeux ici sont les mêmes que pour les insectes pour lesquels il est difficile aussi de caractériser les relations évolutives anciennes (i.e. Pistone *et al.*, 2016).

- **Comment inclure davantage de taxa dans les analyses phylogénétiques ?**

L'augmentation du nombre d'espèces est l'une des priorités pour la confirmation de certains résultats obtenus à partir des deux études phylogénétiques développées dans cette thèse. Cependant, comme mentionné précédemment dans ce manuscrit, collecter les espèces de Phytoseiidae dans le monde entier, parfois dans des localités isolées, n'est pas simple. Un réseau de collaborations international d'acarologistes et s'associer à des missions de collectes de collègues entomologistes seraient des voies pour augmenter notre échantillonnage.

- **Informations biologiques à inclure pour expliquer les relations phylogénétiques mises en évidence.** Une autre perspective de ce travail est d'associer aux espèces incluses dans l'arbre phylogénétique des caractéristiques biologiques, écologiques et biogéographiques afin de proposer des scénarios évolutifs. Il s'agit donc de réaliser une compilation bibliographique pour trouver ces informations, puis de réaliser les analyses identiques à celles développées pour la tribu Euseiini.

(Tixier, données personnelles)

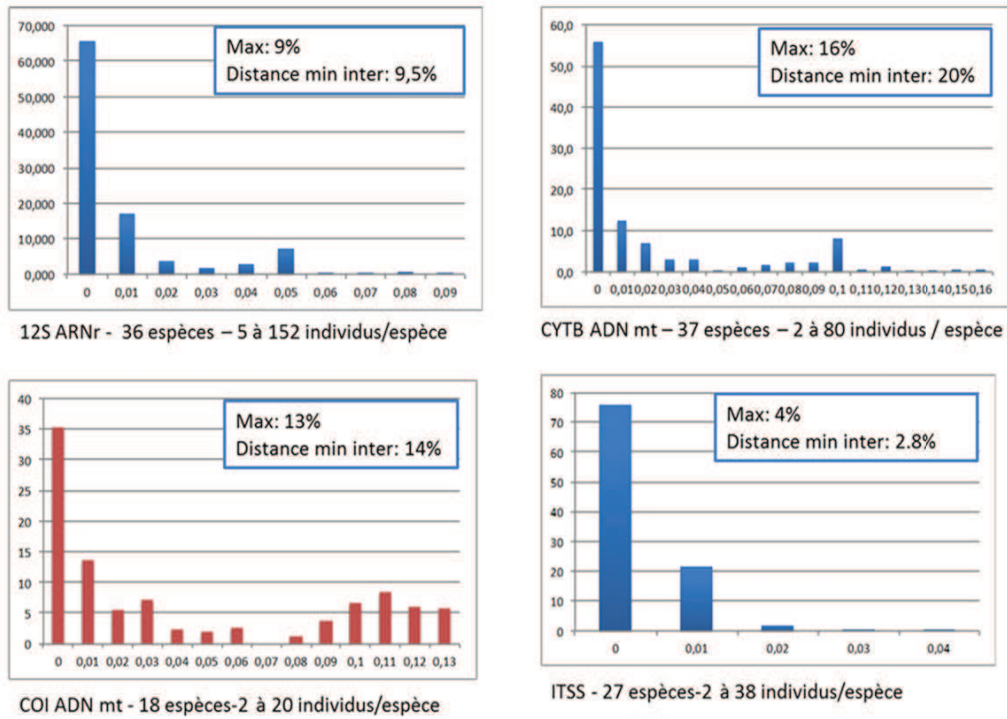


Figure 10. Distribution des variations intraspécifiques pour la famille des Phytoseiidae, calculées à partir des données issues de la littérature (distances) pour 4 marqueurs moléculaires : 12S ARNr, CYTB ADN mt, COI ADN mt et ITSS (Tixier, données personnelles).

- **Des analyses morphologiques plus fines.** Les caractères morphologiques sont observés grâce à un microscope à contraste de phase. Vu la taille des Phytoseiidae, et de certaines structures comme la dentition des chélicères et la spermathèque, des observations plus fines à l'aide de matériels optiques plus puissants pourraient permettre de mieux visualiser ces structures, mieux définir les homologues et ainsi définir les nouveaux clades obtenus avec les structures morphologiques adaptées. L'observation mais surtout la recherche de fossiles de Phytoseiidae pourrait également permettre de confirmer le sens de l'évolution de caractères morphologiques et d'appliquer le concept d'horloge moléculaire aux phylogénies obtenues.

7.6. Les implications des résultats dans le contexte de lutte biologique

Diagnostic des acariens prédateurs Phytoseiidae et contrôle biologique. Parmi les méthodes de contrôle des nuisibles, la méthode chimique est la plus commune. Cette méthode peut avoir des conséquences négatives telles que les pollutions environnementales et peut favoriser l'apparition de populations de ravageurs résistantes (Croft & Brown 1975 ; Croft, 1990).

La lutte biologique est une méthode alternative et / ou un complément utilisé pour limiter ces inconvénients (DeBach, 1974 ; DeBach & Rosen, 1991). Indépendamment de la modalité de lutte biologique choisie (augmentation, conservation et/ou acclimatation), il est toujours indispensable que les auxiliaires soient correctement identifiés (Coombs & Hall, 1998).

(Tixier, données personnelles)

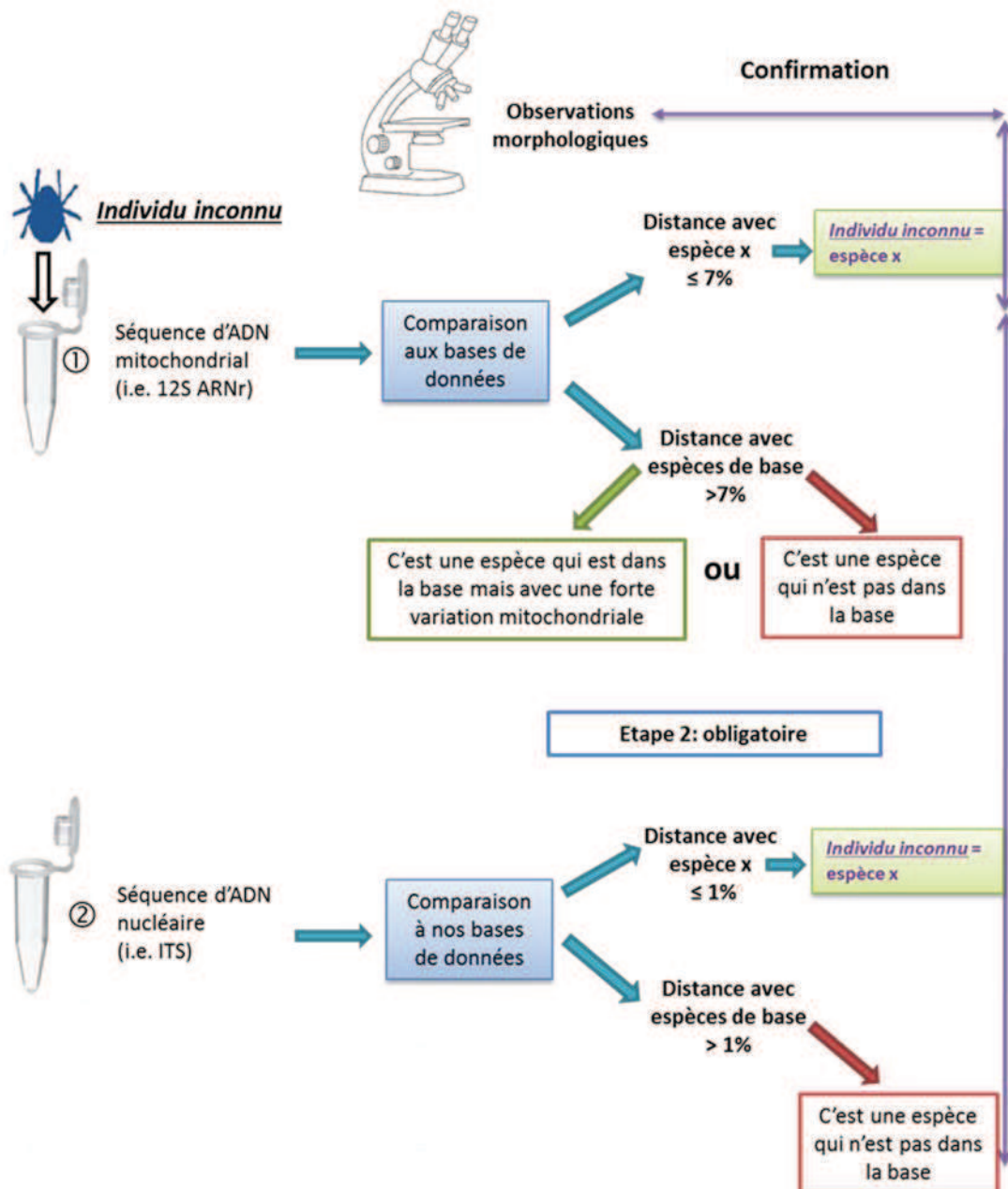


Figure 11. Schéma représentant un exemple de règle de décision pour le diagnostic moléculaire des espèces de *Phytoseiidae* faisant intervenir un fragment d'ADN mitochondrial (12S ARNr) et un fragment d'ADN nucléaire (ITS). (Tixier, données personnelles).

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés aux développements des méthodologies pour clarifier certaines ambiguïtés et aider les taxonomistes à accélérer et fiabiliser les diagnostics des acariens prédateurs de la famille des Phytoseiidae. Dans un contexte appliqué de lutte biologique, nous pouvons envisager deux types de situations :

- (i) Des situations dans lesquelles le diagnostic permet de répondre à des questionnements scientifiques sur l'identité d'espèces (i) présentant des caractéristiques biologiques différentes : voracité, niches écologiques différentes, proies différentes et / ou (ii) des caractéristiques morphologiques particulières (espèces nouvelles). Dans ces cas, des méthodologies adaptées à des cas d'études précis sont à développer et ces études sont réalisées par des systématiciens connaissant bien les groupes taxonomiques.
- (ii) Des situations d'identification routinière et massive d'espèces connues et courantes (i.e. détermination des espèces présentes dans les agrosystèmes, études pour l'importation et la commercialisation d'auxiliaires). Par le développement de méthodes d'identification moléculaire faciles à réaliser et des règles de décision claires (**Figure 11**) ce type de diagnostic pourrait être réalisé par des non-spécialistes qui travaillent en lutte biologique utilisant des acariens (i.e. entreprises privées, instituts techniques).

Ce travail de thèse permet de donner des réponses, d'apporter des éléments analytiques et méthodologiques pouvant être adaptés à ces deux situations. L'élément majeur est que seule une identification fiable des acariens Phytoseiidae permettra d'accéder aux informations biologiques de l'espèce étudiée.

Histoire évolutive des Phytoseiidae et contrôle biologique. La compréhension des interactions entre les auxiliaires, les ravageurs et les plantes-hôtes permet de faciliter et optimiser la mise en place de programmes de lutte biologique (Bellows & Fisher, 1999 ; Orr, 2009).

Les résultats de nos deux études sur la tribu Euseiini et des trois sous-familles portant sur les relations phylogénétiques des Phytoseiidae, sont en désaccord avec

certaines hypothèses de l'actuelle classification proposée par Chant et McMurtry (2007). La classification des types de Phytoseiidae (en fonction de leurs proies, habitats, nourritures alternatives) montre également que ces groupes fonctionnels sont polyphylétiques puisqu'ils comprennent des espèces appartenant à des genres, des tribus et même des sous-familles différentes. Cependant, dans certains cas, on observe certaines cohérences. On peut citer les espèces du genre *Phytoseiulus* toutes incluses dans le type I de McMurtry et Croft (1997), ou celles du genre *Kampimodromus* signalées sur des espèces pileuses, type III de cette même classification ou encore celles du genre *Euseius* caractérisées par leur régime polliniphage (Type IV). Or, ces trois genres sont monophylétiques selon les analyses réalisées dans ce travail de thèse. Les incohérences actuelles entre systématique et groupes fonctionnels pourraient donc être dues (i) à une mauvaise appréhension de l'histoire évolutive des Phytoseiidae et / ou (ii) au fait que d'autres paramètres fonctionnels (comme les plantes) devraient être pris en compte pour classer ces prédateurs. Le frein majeur est très certainement nos faibles connaissances sur la biologie de l'ensemble des espèces de Phytoseiidae. Là-aussi, on peut penser que nos connaissances sur la phylogénie de cette famille ouvre des perspectives intéressantes dans le sens où les clades évolutifs peuvent retracer une évolution des adaptations écologiques, dont la compréhension pourrait permettre d'améliorer l'utilisation de ces organismes en lutte biologique et prédire la biologie d'espèces pour lesquelles ces caractéristiques sont inconnues, du fait de leur position dans l'arbre du vivant. Il est en de même des études d'écologie de niche (niche modeling) qui pourraient permettre de déterminer la capacité d'une espèce d'auxiliaire à s'adapter à de nouveaux environnements abiotiques en fonction de son histoire et celle de son clade. Des cohérences biogéographiques ont été mises en évidence dans ce travail. Une des conclusions, même si d'autres études sont nécessaires pour étayer ce résultat, est que *E. gallicus* (espèce récemment utilisée en lutte biologique en Europe) est très certainement une espèce invasive venue d'Asie.

Clairement, les recherches reliant Écologie et Taxonomie sont peu exploitées mais elles ouvrent de nouvelles perspectives (comme le barcoding environnemental évoqué précédemment) pour mieux appréhender, comprendre et exploiter les relations entre les auxiliaires et leurs environnements biotique et abiotique.

Références bibliographiques

- Adar E., Inbar M., Gal S., Gan-Mor S., Palevsky E. 2014. Pollen on-twine for food provisioning and oviposition of predatory mites in protected crops. *BioControl*, 59:307–317. DOI: 10.1007/s10526-014-9563-1.
- Agrawal A. A. 1997. Do leaf domatia mediate a plant–mite mutualism? An experimental test of the effects on predators and herbivores. *Ecological Entomology*, 22(4), 371–376. DOI: 10.1046/j.1365-2311.1997.00088.x.
- Agrawal A. A. 2000. Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. *Current opinion in plant biology*, 3(4), 329–335. DOI: 10.1016/S1369-5266(00)00089-3.
- Ahrens D., Monaghan M. T., Vogler A. P. 2007. DNA-based taxonomy for associating adults and larvae in multi-species assemblages of chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 44, 436–449. DOI: 10.1016/j.ympev.2007.02.024.
- Amano H., Chant D. A. 1978. Mating behavior and reproductive mechanisms of two species of predacious mites, *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acarina: Phytoseiidae). *Acarologia*, 20, 196–213.
- Argov Y., Domeratzky S., Gerson U., Steinberg S., Palevsky E. 2007. Augmentation and conservation of indigenous generalist acarine predators for the control of citrus rust mite, *Phyllocoptruta oleivora*, in Israel. *IOBC WPRS BULLETIN*, 30.5:9.
- Arthurs S., McKenzie C. L., Chen J., Doğramaci M., Brennan M., Houben K., Osborne L. 2009. Evaluation of *Neoseiulus cucumeris* and *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) as biological control agents of chili thrips, *Scirtothrips dorsalis* (Thysanoptera: Thripidae) on pepper. *Biological control*, 49(1), 91–96. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2009.01.002.
- Athias-Henriot C. 1960. Phytoseiidae et Aceosejidae Acarina: Gamasida d'Algérie. IV. Genre *Typhlodromus* Scheuten, 1857. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, 51, 62–107.
- Athias-Henriot C. 1967. L'appareil d'insémination Laelopoïde. Remarques préliminaires sur la possibilité d'emploi à des fins taxonomiques (Acari. an-actinotriches, Laelopoïdea). *Proc. 2nd Int. Congr. Acarol.* 1967, 191–193.

- Athias-Henriot C. 1968. L'appareil d'insémination Laelapoidae acariens anactinotriches : Laelapoidea. Premières observations. Possibilité d'emploi à des fins taxonomiques. Bulletin scientifique de Bourgogne, 25, 229-274.
- Athias-Henriot C. 1969. Notes sur la morphologie externe des gamasides (Acariens Anactinotriches). Acarologia 11(4), 609-629.
- Athias-Henriot C. 1971. Idiosomal sigillotaxy of gamasids. Preliminary observations towards the knowledge of the morphology of these arachnids. Proc. 3rd Int. Congr. Acarol., 257-261
- Athias-Henriot C. 1975. Nouvelles notes sur les Amblyseiini. II. Le relevé organotaxique de la face dorsale adulte (Gamasides protoadeniques, Phytoseiidae). Acarologia, 171, 20-29.
- Athias-Henriot C. 1977. Nouvelles notes sur les Amblyseiini. III. Sur le genre *Cydnodromus*: Redéfinition, composition (Parasitiformes, Phytoseiidae). Entomophaga, 22, 61-73.
- Auger P., Tixier M. S., Kreiter S. 1999. Factors affecting ambulatory dispersal in the predaceous mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). Experimental and Applied Acarology 23, 235–250. DOI: 10.1023/A:1006019014708.
- Austerlitz F., David O., Schaeffer B., Bleakley K., Olteanu M., Leblois R., Laredo C. 2009. DNA barcode analysis: a comparison of phylogenetic and statistical classification methods. BMC bioinformatics, 10(14), 1. DOI: 10.1186/1471-2105-10-S14-S10.
- Avice J. C. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. Conservation Biology, 9(3), 686-690. DOI: 10.1046/j.1523-1739.1995.09030686.x.
- Avice J. C. 2006. Evolutionary pathways in nature: a phylogenetic approach. Cambridge University Press. DOI: 10.1002/ajmg.a.31458.
- Avice J. C. 2012. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, USA. DOI: 10.1007/978-1-4615-2381-9.
- Avice J. C., Arnold J., Ball R. M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J. E., Reeb C. A., Saunders N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, 18, 489–522.

- Avise J. C., Shapira J. F., Daniel S. W., Aquadro C. F., Lansman R. A. 1983. Mitochondrial DNA differentiation during the speciation process in *Peromyscus*. *Molecular Biology and Evolution*, 1(1), 38-56.
- Barrett S. F., Robbins J. H., Tarone R. E., Kraemer K. H. 1991. Evidence for detective repair of cyclobutane pyrimidine dimers with normal repair of other DNA photoproducts in a transcriptionally active gene transfected into Cockayne syndrome cells. *Mutation Research/DNA Repair*, 255(3), 281-291. DOI: 10.1016/0921-8777(91)90032-K.
- Beard J. J. 1999. Taxonomy and biological control: *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae), a case study. *Australian Journal of Entomology*, 38, 51–59. DOI: 10.1046/j.1440-6055.1999.00096.x.
- Beard J. J., Walter G. H. 2001. Host plant specificity in several species of generalist mite predators. *Ecological Entomology*, 26(6), 562-570. DOI: 10.1046/j.1365-2311.2001.00367.x.
- Bellows T. S., Fisher T. W. 1999. Hand Book of biological control: Principles and applications of biological control. Academic Press, San Diego, CA. pp.57-76
- Berry J. S., Holtzer T. O. 1990. Ambulatory dispersal behavior of *Neoseiulus fallacis* (Acarina: Phytoseiidae) in relation to prey density and temperature. *Experimental and Applied Acarology*, 8(4), 253-274. DOI: 10.1007/BF01202136.
- Bichain J. M., Gaubert P., Samadi S., Boisselier-Dubayle M. C. 2007. A gleam in the dark: Phylogenetic species delimitation in the confusing spring-snail genus *Bythinella* Moquin-Tandon, 1856 (Gastropoda: Rissooidea: Amnicolidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45(3), 927-941. DOI: 10.1016/j.ympev.2007.07.018.
- Bin F., Roversi P. F., Van Lenteren J. C. 2012. Erroneous host identification frustrates systematics and delays implementation of biological control. *Redia*, 95, 83-88.
- Black W. C., Piesman J. 1994. Phylogeny of hard and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S ribosomal DNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 91, 10034–10038.
- Blaxter M. L. 2004. The promise of DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 359(1444), 669-679. DOI: 10.1098/rstb.2003.1447.

- Blaxter M., Mann J., Chapman T., Thomas F., Whitton C., Floyd R., Abebe E. 2005. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360 (1462), 1935–43. DOI:10.1098/rstb.2005.1725
- Bortolus A. 2008. Error cascades in the biological sciences: the unwanted consequences of using bad taxonomy in ecology. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 37(2), 114-118.
- Bowman H. M., Hoy M. A. 2012. Molecular discrimination of phytoseiids associated with the red palm mite *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) from Mauritius and South Florida. *Experimental and Applied Acarology*, 57(3-4), 395-407. DOI: 10.1007/s10493-012-9549-6.
- Bridge P. D., Spooner B. M., Panchal G. 2003. On the unreliability of published DNA sequences. *New Phytologist*, 160, 43–48. doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00861.x
- Buitenhuis R., Shipp L., Scott-Dupree C. 2010. Intra-guild vs extra-guild prey: effect on predator fitness and preference of *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) and *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans)(Acari: Phytoseiidae). *Bulletin of entomological research*, 100(2), 167. DOI: 10.1017/S0007485309006944.
- Calvo F. J., Bolckmans K., Belda J. E. 2011. Control of *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in cucumber by *Amblyseius swirskii*. *BioControl*, 56(2), 185-192. DOI: 10.1007/s10526-010-9319-5.
- Cameron S. L. 2014. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. *Annual Review of Entomology*, 59, 95-117. DOI: 10.1146/annurev-ento-011613-162007.
- Carmona M. M., Silva-Dias J. C. 1996. *Fundamentos de acarologia agrícola*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 423pp.
- Castagnoli M. 1989. Recent advances in knowledge of the mite fauna in the biocenoses of grapevine in Italy. Influence of environmental factors on the control of grape pests, diseases and weeds. Rotterdam, Balkema pp.169-180
- Castagnoli M., Simoni S. 1994. The effect of different constant humidities on eggs and larvae of *Amblyseius californicus* McGregor (Acarina: Phytoseiidae). *Redia*, 77, 349–359.

- Caterino M. S., Cho S., Sperling F. A. 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annual review of entomology*, 45(1), 1-54. DOI: 10.1146/annurev.ento.45.1.1.
- Cavalcante A. C. C., Borges L. R., Lourenção, A. L., de Moraes, G. J. 2015a. Potential of two populations of *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) for the control of *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 67(4), 523-533.
- Cavalcante A. C. C., Dos Santos V. L. V., Rossi L. C., Moraes G. J. de 2015b. Potential of five Brazilian populations of Phytoseiidae (Acari) for the biological control of *Bemisia tabaci* (Insecta: Hemiptera). *Journal of Economic entomology*, 108(1), 29-33. DOI: 10.1093/jee/tou003.
- Cedola C., Polack A. 2011. First record of *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) from Argentina. *Revista de la Sociedad Entomologica Argentina*, (70), 375-378.
- Chant D. A. 1955. Notes on mites of the genus *Typhlodromus* Scheuten, 1857 (Acarina: Laelaptidae), with descriptions of the males of some species and the female of a new species. *The Canadian Entomologist*, 87(11), 496-503. DOI: 10.4039/Ent87496-11.
- Chant D. A. 1959. Phytoseiid mites Acarina: Phytoseiidae. Part I. Bionomics of seven species in southeastern England. Part II. A taxonomic review of the family Phytoseiidae, with descriptions of thirty-eight new species. *The Canadian Entomologist*, Canada, Supplement p.12. DOI: 10.4039/entm9112fv.
- Chant D. A. 1985. Systematics and taxonomic. In: *Spider mites: Their Biology, Natural Enemies and Control*. World Crop Pest. Vol. 1B. Helle W. and Sabelis M. W. eds., Elsevier, 17-29. DOI: 10.1016/0169-5347(87)90042-5.
- Chant D. A., McMurtry J. A. 1994. A review of the subfamilies Phytoseiinae and Typhlodrominae (Acari: Phytoseiidae). *International Journal of Acarology*, 204, 223-310. DOI: 10.1080/01647959408684022.
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2003a. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): Part I. Neoseiulini new tribe. *International Journal of Acarology*, 29, 3-46. <http://dx.doi.org/10.1080/01647950308684319>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2003b. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): Part II. The tribe Kampimodromini Kolodochka.

- International Journal of Acarology, 29, 179–224.
<http://dx.doi.org/10.1080/01647950308684331>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2004a. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): Part III. The tribe Amblyseiini Wainstein, subtribe Amblyseiina n. subtribe. International Journal of Acarology, 30, 171–228.
<http://dx.doi.org/10.1080/01647950408684388>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2004b. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): part IV. The tribe Amblyseiini Wainstein, subtribe Arrenoseiina Chant & McMurtry. International Journal of Acarology, 30, 291–312.
<http://dx.doi.org/10.1080/01647950408684399>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2005a. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): part V. Tribe Amblyseiini, subtribe Proprioiseiopsina Chant & McMurtry. International Journal of Acarology, 31, 3–22.
<http://dx.doi.org/10.1080/01647950508684412>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2005b. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae) Part VI. The tribe Euseiini n. tribe, subtribes Typhlodromalina n. subtribe, Euseiina n. subtribe, and Ricoseiina n. subtribe. International Journal of Acarology, 31, 187–224. DOI: 10.1080/01647950508684424.
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2005c. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): part VII. Typhlodromipsini n. tribe. International Journal of Acarology, 31, 315–340. <http://dx.doi.org/10.1080/01647950508683673>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2006a. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): part VIII. The tribes Macroseiini Chant Denmark and Baker, Phytoseiulini n. tribe, Afroseiulini n. tribe and Indoseiulini Ehara and Amano. International Journal of Acarology, 32, 13–25.
<http://dx.doi.org/10.1080/01647950608684439>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2006b. A review of the subfamily Amblyseiinae Muma (Acari: Phytoseiidae): part IX. An overview. International Journal of Acarology, 32, 125–152. <http://dx.doi.org/10.1080/01647950608684453>
- Chant D. A., McMurtry J. A. 2007. Illustrated keys and diagnoses for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world (Acari: Mesostigmata). Indira Publishing House, West Bloomfield, 219p.

- Chant D. A., Yoshida-Shaul E. 1992. Adult idiosomal setal patterns in the family Phytoseiidae (Acari: Gamasina). *International Journal of Acarology*, 18(3), 177-193. DOI: 10.1080/01647959208683949.
- Charles J. G., Collyer E., White V. 1985. Integrated control of *Tetranychus urticae* with *Phytoseiulus persimilis* and *Stethorus bifidus* in commercial raspberry gardens. *New Zealand Agriculture, Forestry and Horticulture. Journal of experimental agriculture*, 13(4), 385-393. DOI: 10.1080/03015521.1985.10426107.
- Chermi B. 1992. Biological control II: biological control of an artificial infestation of *Tetranychus urticae* Koch. using *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot in a protected aubergine crop. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 57, 959-964.
- Condamine F. L., Rolland J., Morlon H. 2013. Macroevolutionary perspectives to environmental change. *Ecology letters*, 16(s1), 72-85. DOI: 10.1111/ele.12062.
- Coombs J., Hall K. E. 1998. Dictionary of biological control and integrated pest management. CPL Press. p.308.
- Cristescu M. E. 2014. From barcoding single individuals to metabarcoding biological communities: towards an integrative approach to the study of global biodiversity. *Trends in Ecology Evolution*, 29, 566-571.
- Croft B. A. 1970. Comparative studies on four strains of *Typhlodromus occidentalis* Nesbitt (Acarina: Phytoseiidae). I. Hybridization and reproductive isolation studies. *Annals of the Entomological Society of America*, 43 (6), 1558-1563. DOI: 10.1093/aesa/63.6.1558.
- Croft B. A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. John Wiley and Sons Art Inc. pp. 3-15.
- Croft B. A., Brown A. W. A. 1975. Responses of arthropod natural enemies to insecticides. *Annual review of entomology*, 20 (1), 285-335.
- Croft B. A., Croft M. B. 1993. Larval survival and feeding by immature *Metaseiulus occidentalis*, *Neoseiulus fallacis*, *Amblyseius andersoni* and *Typhlodromus pyri* on life stages groups of *Tetranychus urticae* Koch and phytoseiid larvae. *Experimental and Applied Acarology*, 17, 685-693. DOI: 10.1007/BF00058508.
- Croft B. A., Zhang Z.-Q. 1994. Walking, feeding and intraspecific interaction of larvae of *Metaseiulus occidentalis*, *Typhlodromus pyri*, *Neoseiulus fallacis* and

- Amblyseius andersoni* held with and without eggs of *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology, 18, 567–580. DOI: 10.1007/BF00051719.
- Cross H. B., Lowe A. J., Gurgel C. F. 2010. DNA barcoding of invasive species. In: Richardson D, editor. Fifty years of invasion ecology: The legacy of Charles Elton (Ed. Richardson D.). Chapter 22. Blackwells. DOI: 10.1002/9781444329988.ch22.
- Cruickshank R. H. 2002. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. Systematic and Applied Acarology, 7, 3-14. DOI: 10.11158/saa.7.1.1.
- Crump B. C., Armbrust E. V., Baross J. A. 1999. Phylogenetic analysis of particle-attached and free-living bacterial communities in the Columbia River, its estuary, and the adjacent coastal ocean. Applied and Environmental Microbiology, 65(7), 3192-3204.
- Dabert M. 2006. DNA markers in the phylogenetics of the Acari. Biological Letters, 43(2), 97–107.
- Dabert M., Witalinski W., Kazmierski A., Olszanowski Z., Dabert J. 2010. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. Molecular Phylogenetics and Evolution, 56(1), 222-241. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.12.020.
- Danforth B. N., Lin C. P., Fang J. 2005. How do insect nuclear ribosomal genes compare to protein-coding genes in phylogenetic utility and nucleotide substitution patterns? Systematic Entomology, 30(4), 549-562. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2005.00305.x.
- Darlu P., Tassy P. 2004. La reconstruction phylogénétique. *Concepts et méthodes*. Paris, France. ISSN : 0754-440. p242.
- Dayrat B. 2005. Towards integrative taxonomy. Biological Journal of Linnean Society, 85, 407-415. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x.
- DeBach P. 1974. Biological control by natural enemies. Cambridge University Press, Cambridge, UK., 323pp. DOI: 10.1017/S0014479700020470.
- DeBach P., Rosen D. 1991. Biological control by natural enemies. CUP Archive (2), 3-31.
- Delsuc F., Douzery E. J. P. 2004. Les méthodes probabilistes en phylogénie moléculaire L'approche bayésienne. Biosystema. Avenir et pertinence des méthodes d'analyse en phylogénie moléculaire. 22, 7- 86.

- Demite P. R., McMurtry J. A., Moraes G. J. de 2014. Phytoseiidae Database: a website for taxonomic and distributional information on phytoseiid mites Acari. *Zootaxa*, 3795 (5), 571–577. DOI: 10.11646/zootaxa.3795.5.6.
- Denmark H. A., Kolodochka L. A. 1990. Revision of the genus *Chelaseius* Muma and Denmark (Acari: Phytoseiidae). *International Journal of Acarology*, 164, 219-233. DOI: 10.1080/01647959008683871.
- DeSalle R., Egan M. G., Siddall M. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1905-1916. DOI: 10.1098/rstb.2005.1722.
- Dicke M., Takabayashi J., Posthumus M. A., Schütte C., Krips O. E. 1998. Plant-Phytoseiid interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: variation in production of cues and in responses of predatory mites. *Experimental Applied Acarology*, 226, 311-333. DOI: 10.1023/A:1024528507803.
- Doğramaci M., Arthurs S. P., Chen J., McKenzie C., Irrizary F., Osborne L. 2011. Management of chilli thrips *Scirtothrips dorsalis* (Thysanoptera: Thripidae) on peppers by *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) and *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Biological Control*, 59(3), 340-347. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2011.09.008.
- Dubois A. 2007. Phylogeny, taxonomy and nomenclature: the problem of taxonomic categories and of nomenclatural ranks. *Zootaxa*, 1519, 27-68.
- Dunley J. E., Croft B. A. 1992. Dispersal and gene flow of pesticide resistance traits in phytoseiid and tetranychid mites. *Experimental and applied acarology*, 14(3-4), 313-325. DOI: 10.1007/BF01200570.
- Duso C., Camporese P. 1991. Developmental times and oviposition rates of predatory mites *Typhlodromus pyri* and *Amblyseius andersoni* (Acari: Phytoseiidae) reared on different foods. *Experimental and Applied Acarology*, 13, 117-128. DOI: 10.1007/BF01193662.
- Duso C., Fanti M., Pozzebon A., Angeli G. 2009. Is the predatory mite *Kampimodromus aberrans* a candidate for the control of phytophagous mites in European apple orchards? *BioControl*, 54(3), 369-382. DOI: 10.1007/s10526-008-9177-6.

- Duso C., Fontana P. 2002. On the identity of *Phytoseius plumifer* (Canestrini and Fanzago, 1876) (Acari: Phytoseiidae). *Acarologia*, 42(2), 127-136.
- Duso C., Pasqualetto C. 1993. Factors affecting the potential of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) as biocontrol agents in north-Italian vineyards. *Experimental and Applied Acarology*, 17, 241–258. DOI: 10.1007/BF02337274.
- Duso C., Torresan L., Vettorazzo E. 1993. La vegetazione spontanea come riserva di ausiliari: considerazioni sulla diffusione degli Acari fitoseidi (Acari Phytoseiidae) in un vigneto e sulle piante spontanee contigue. *Bolletino de Zoologia Agraria e Bachicoltura*, 25(2), 183–203.
- Duso C., Vettorazzo E. 1999. Mite population dynamics on different grape varieties with or without phytoseiids released (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and applied acarology*, 23(9), 741-763. DOI: 10.1023/A:1006297225577.
- Edwards O. R., Melo E. L., Smith L., Hoy M. A. 1997. Discrimination of three *Typhlodromalus* species (Acari: Phytoseiidae) using random amplified polymorphic DNA markers. *Experimental and applied acarology*, 22(2), 101-109. DOI: 10.1023/A:1006093626613.
- Eilenberg J., Hajek A., Lomer C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, 46(4), 387-400. DOI: 10.1023/A:1014193329979.
- Elias M., Condamine F. L. 2014. Découverte et analyse de la biodiversité : les moyens actuels. *Mémoires de la SEF*, n° 9, 2014 : 23-39.
- El-Laithy A. Y. M. 1998. Laboratory studies on growth parameters of three predatory mites associated with eriophyid mites in olive nurseries / Laboratoriumsuntersuchungen der Wachstumsparameter dreier Raubmilben assoziiert mit gallenbildenden Milben in der Anzucht von Olivenbäumen. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection*, 78-83.
- El-Laithy A. Y. M., Fouly A. H. 1992. Life table parameters of the two phytoseiid predators *Amblyseius scutalis* (Athias-Henriot) and *A. swirskii* A.-H. (Acari, Phytoseiidae) in Egypt. *Journal of Applied Entomology*, 113(1-5), 8-12. DOI: 10.1111/j.1439-0418.1992.tb00631.x.
- Escudero L. A., Ferragut F. 2005. Life-history of predatory mites *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on four spider mite

- species as prey, with special reference to *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae). *Biological Control*, (323), 378-384. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.12.010.
- Evans G. O. 1992. *Principles of Acarology*. CABI Publishing Wallingford, Oxon OX10, 563 pp. DOI: 10.1017/S0007485300032351.
- Famah-Sourassou N., Hanna R., Zannou I., Moraes G. J. de, Breeuwer J. A. J., Sabelis M. W. 2012. Morphological molecular and cross-breeding analysis of geographic populations of coconut-mite associated predatory mites identified as *Neoseiulus baraki*: evidence for cryptic species? *Experimental and Applied Acarology*, 57, 15–36. DOI: 10.1007/s10493-012-9534-0.
- Faraji F., Çobanoğlu S., Çakmak I. 2011. A checklist and a key for the Phytoseiidae species of Turkey with two new species records (Acari: Mesostigmata). *International journal of Acarology*, 37(sup1), 221-243. DOI: 10.1080/01647954.2011.558851.
- Farris J. S., Källersjö M., Kluge A. G., Bult C. 1994. Testing significance of incongruence. *Cladistics*, 10(3), 315-319.
- Farris J. S., Källersjö M., Kluge A. G., Bult C. 1995. Constructing a significance test for incongruence. *Systematic Biology*, 44(4), 570-572.
- Farris J. S. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Systematic Biology*, 19(1), 83-92. DOI: 10.2307/2412028.
- Fauvel G., Bourgouin B. 1993. Present state of tolerance to insecticides and acaricides in the populations of *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) from apple orchards of southern France. *Annales du congrès ANPP*. 2-3, 789-798.
- Fauvel G., Gendrier J. P. 1992. Problems met in the establishment of phytoseiids in apple orchards of southeastern France. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 27(1-4), 223-232.
- Felsenstein J. 1988. Phylogenies from molecular sequences: inference and reliability. *Annual review of genetics*, 22(1), 521-565. DOI: 10.1146/annurev.ge.22.120188.002513.

- Fergusson J. W. H. 2002. On the use of genetic divergence for identifying species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 75, 509–516. DOI: 10.1046/j.1095-8312.2002.00042.x.
- Ferragut F., Escudero A. 1997. Taxonomy and distribution of predatory mites belonging to the genus *Euseius* (Wainstein 1962), in Spain (Acari, Phytoseiidae). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 23, 227-235.
- Ferragut F., Garcia-Mari F., Costa-Comelles J., Laborda R. 1987. Influence of food and temperature on development and oviposition of *Euseius stipulatus* and *Typhlodromus phialatus* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 3, 317-329. DOI: 10.1007/BF01193168.
- Ferragut F., Pérez Moreno I., Iraola V., Escudero A. 2010. Ácaros depredadores em las plantas cultivadas (Phytoseiidae). Ediciones Agrotécnicas, Madrid. pp. 202.
- Ferrero M., Calvo F. J., Atuahiva T., Tixier M.-S., Kreiter S. 2010. Biological control of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard and *T. urticae* Koch by *Phytoseiulus longipes* Evans, in tomato greenhouses in Spain [Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae]. *Biological Control*, 58 (1), 30–35. DOI : 10.1016/j.biocontrol.2011.03.012.
- Ferrero M., Tixier M.-S., Kreiter S. 2014. From specificity to specialisation. I. Comparative life histories of three populations of *Phytoseiulus longipes* Evans (Acari, Mesostigmata, Phytoseiidae) depending on prey species and plant supports. *Experimental and Applied Acarology*, 62, 313-324.
- Fisher B. L., Smith M. A. 2008. A revision of Malagasy species of *Anochetus* Mayr and *Odontomachus* Latreille (Hymenoptera: Formicidae). *PLoS one*, 3(5), e1787. DOI: 10.1371/journal.pone.0001787.
- Fontaneto D., Herniou E. A., Boschetti C., Caprioli M., Melone G., Ricci C., Barraclough T. G. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biology*, 5(4), e87. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050087.
- Fowler-Walker M. J., Wernberg T., Connell S. D. 2006. Differences in kelp morphology between wave sheltered and exposed localities: morphologically plastic or fixed traits? *Marine Biology*, 148, 755-767. DOI: 10.1007/s00227-005-0125-z.

- Frezal L., Leblois R. 2008. Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(5), 727-736. DOI: 10.1016/j.meegid.2008.05.005.
- Gauld I. D. 1986. Taxonomy, its limitations and its role in understanding parasitoid biology. In, Waage, J. and D. Greathead, *Insect Parasitoids*, Academic Press, New York.
- Gerson U., Smiley R. L., Ochoa R. 2003. *Mites Acari for pest control*. Blackwell Science, Oxford., 539pp. DOI: 10.1002/9780470750995.
- Ghazy N. A., Amano H. 2016. The use of the cannibalistic habit and elevated relative humidity to improve the storage and shipment of the predatory mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 69(3), 277-287. DOI: 10.1007/s10493-016-0041-6.
- Gigon V., Camps C., Le Corff J. 2016. Biological control of *Tetranychus urticae* by *Phytoseiulus macropilis* and *Macrolophus pygmaeus* in tomato greenhouses. *Experimental and Applied Acarology*, 68(1), 55-70. DOI: 10.1007/s10493-015-9976-2.
- Giribet G., Wheeler W. C. 1999. The position of arthropods in the animal kingdom: Ecdysozoa, islands, trees, and the “parsimony ratchet”. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(3), 619-623. DOI: 10.1006/mpev.1999.0679.
- Goldstein P. Z., DeSalle R. 2011. Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: determination, discovery, and description. *Bioessays*, 33(2), 135-147. DOI: 10.1002/bies.201000036.
- Godefroid M., Rasplus J.-Y., Rossi J.-P. 2016. Is phylogeography helpful for invasive species risk assessment? The case study of the bark beetle genus *Dendroctonus*. *Ecography*, 39 (12), 1197-1209 (doi:10.1111/ecog.01474)
- Goleva I., Zebitz C. P. 2013. Suitability of different pollen as alternative food for the predatory mite *Amblyseius swirskii* (Acari, Phytoseiidae). *Experimental and applied acarology*, 61(3), 259-283. DOI: 10.1007/s10493-013-9700-z.
- Grechko V. V. 2002. Molecular DNA markers in phylogeny and systematics. *Russian Journal of Genetics*, 38(8), 851-868. DOI: 10.1023/A:1016890509443.

- Grostal R., O'Dowd D. J. 1994. Plants, mites and mutualism: leaf domatia and the abundance and reproduction of mites on *Viburnum tinus* (Caprifoliaceae). *Oecologia*, 97(3), 308-315. DOI: 10.1007/BF00317319.
- Guerra-García J. M., Espinosa T. F., García-Gómez J. C. 2008. Trends in Taxonomy today: an overview about the main topics in Taxonomy. *Zoológica baetica*, 19, 15-49.
- Gurr G. M., You M. 2015. Conservation biological control of pests in the molecular era: New opportunities to address old constraints. *Frontiers in Plant Sciences*, 6, 1255.
- Harry, M. 2001. *Génétique: moléculaire et évolutive*. Maloine. pp. 278-304.
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., De Waard J. R. 2003a. Biological identification through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences*, 270, 313-321. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.
- Hebert P. D. N., Penton E. H., Burns J. M., Janzen D. H., Hallwachs W. 2004a. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 14812-14817. DOI: 10.1073/pnas.0406166101.
- Hebert P. D. N., Ratnasingham S., deWaard J. R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences*, 270 Suppl., S96–S99. DOI: 10.1098/rsbl.2003.0025.
- Hebert P. D. N., Stoeckle L. Y., Zemplak T. S., Francis C. M. 2004b. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology*, 2, 10, e312. DOI: 10.1371/journal.pbio.0020312.
- Hebert P. D., Gregory T. R. 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic biology*, 54(5), 852-859.
- Helle W., Sabelis M. W. 1985. Spider mites: Their Biology, Natural Enemies and Control, Vol. IB. Helle W. and Sabelis M. W. eds., Elsevier. pp. 458 DOI: 10.1016/0169-5347(87)90042-5.
- Hennig W. 1966. *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, USA. pp. 263

- Hillis D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. Annual review of Ecology and Systematics, 18 (1): 23-42. DOI: 10.1146/annurev.es.18.110187.000323.
- Hillis D. M. 1996. Inferring complex phylogenies. Nature, 383, 130–131. DOI: 10.1038/383130a0.
- Hillis D. M., Huelsenbeck J. P., Cunningham C. W. 1994. Application and accuracy of molecular phylogenies. Science-AAAS-Weekly Paper Edition-including Guide to Scientific Information, 264(5159), 671-676. DOI: 10.1126/science.8171318.
- Hoelmer K. A., Kirk A. A. 2005. Selecting arthropod biological control agents against arthropod pests: Can the science be improved to decrease the risk of releasing ineffective agents? Biological Control, 34, 255–264.
- Holder M., Lewis P. O. 2003. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. Nature Reviews Genetics, 4(4), 275-84. DOI: 10.1038/nrg1044.
- Holland B. S., Dawson M. N., Crow G. L., Hofmann D. K. 2004. Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands. Marine Biology, 145(6), 1119-1128. DOI: 10.1007/s00227-004-1409-4.
- Hoogerbrugge H., Calvo J., van Houten Y., Bolckmans K. 2005. Biological control of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* with the predatory mite *Amblyseius swirskii* in sweet pepper crops. IOBC/WPRS Bulletin, 28(1), 119-122.
- Hoy M. A. 2011. Agricultural acarology: introduction to integrated mite management (Vol. 7). CRC press. 159-157.
- Hoy M. A. 2012. Overview of a classical biological control project directed against the red palm mite in Florida. Experimental and Applied Acarology, 57(3-4), 381-393. DOI: 10.1007/s10493-012-9537-x.
- Hoy M. A., Yu F., Meyer J. M., Tarazona O. A., Jeyaprakash A., Wu K. 2013. Transcriptome sequencing and annotation of the predatory mite *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae): a cautionary tale about possible contamination by prey sequences. Experimental and Applied Acarology, 59(3), 283-296. DOI: 10.1007/s10493-012-9603-4.
- Hoying S. A., Croft B. A. 1977. Comparisons between populations of *Typhlodromus longipilus* Nesbitt and *T. occidentalis* Nesbitt: Taxonomy, distribution, and

- hybridization. *Annals of the Entomological Society of America*, 70(1), 150-159. DOI: 10.1093/aesa/70.1.150.
- Huelsenbeck J. P., Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17, 754-755. DOI: 10.1093/bioinformatics/17.8.754.
- Jeyaprakash A., Hoy M. A. 2002. Mitochondrial 12S rRNA sequences used to design a molecular ladder assay to identify six commercially available phytoseiids (Acari: Phytoseiidae). *Biological Control*, 25, 136-142. DOI: 10.1016/S1049-9644(02)00056-7.
- Johns G. C., Avise J. C. 1998. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. *Molecular Biology and Evolution*, 15, 1481-1490. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a025875.
- Johnson D. T., Croft B. A. 1976. Laboratory study of the dispersal behavior of *Amblyseius fallacis* (Acarina: Phytoseiidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 69(6), 1019-1023. DOI: 10.1093/aesa/69.6.1019.
- Johnson D. T., Croft B. A. 1979. Factors affecting the dispersal of *Amblyseius fallacis* in an apple tree ecosystem. In: *Recent advances in Acarology*, Vol. 1, J. G. Rodriguez (ed.), Academic Press, New York., 477-483 pp..
- Johnson D. T., Croft B. A. 1981. Dispersal of *Amblyseius fallacis* (Acarina: Phytoseiidae) in an apple ecosystem. *Environmental Entomology*, 10(3), 313-319. DOI: 10.1093/ee/10.3.313.
- Jukes T. H., Cantor C. R. 1969. Evolution of protein molecules. *Mammalian protein metabolism*, 3(21), 132. DOI: 10.1016/B978-1-4832-3211-9.50009-7.
- Jung C., Croft B. A. 2001. Aerial dispersal of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae): estimating falling speed and dispersal distance of adult females. *Oikos*, 941, 182-190. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2001.11044.x.
- Kade N., Gueye-Ndiaye A., Duverney C., de Moraes, G. J. 2011. Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) from Senegal. *Acarologia*, 51(1), 133-138. DOI: 10.1051/acarologia/20112001.
- Kakkar G., Kumar V., Seal D. R., Liburd O. E., Stansly P. A. 2016. Predation by *Neoseiulus cucumeris* and *Amblyseius swirskii* on *Thrips palmi* and *Frankliniella schultzei* on cucumber. *Biological Control*, 92, 85-91. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.10.004.

- Kanouh M., Tixier M. S., Guichou S., Cheval B., Kreiter S. 2010a. Two synonymy cases within the genus *Neoseiulella* (Acari: Phytoseiidae): is the molecular evidence so evident? *Biological Journal of Linnean Society*, 101, 323–344. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2010.01516.x.
- Kanouh M., Tixier M.-S., Okassa M., Kreiter S. 2010b. Phylogenetic and biogeographic analysis of the genus *Phytoseiulus* (Acari: Phytoseiidae). *Zoologica Scripta*, 395, 450–461. DOI: 10.1111/j.1463-6409.2010.00439.
- Kant M. R., Ament K., Sabelis M. W., Haring M. A., Schuurink R. C. 2004. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants. *Plant Physiology*, 135(1), 483-495. DOI: 10.1104/pp.103.038315.
- Kant M. R., Sabelis M. W., Haring M. A., Schuurink R. C. 2008. Intraspecific variation in a generalist herbivore accounts for differential induction and impact of host plant defenses. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences*, 275(1633), 443-452. DOI: 10.1098/rspb.2007.1277.
- Kappers I. F., Hoogerbrugge, H., Bouwmeester H. J., Dicke M. 2011. Variation in herbivory-induced volatiles among cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties has consequences for the attraction of carnivorous natural enemies. *Journal of chemical ecology*, 37(2), 150-160.
- Kasai A., Yano S., Takafuji A. 2002. Density of the eriophyid mites inhabiting the domatia of *Cinnamomum camphora* Linn. affects the density of the predatory mite, *Amblyseius sojaensis* Ehara (Acari: Phytoseiidae), not inhabiting the domatia. *Applied Entomology and Zoology*, 37(4), 617-619. DOI: 10.1303/aez.2002.617.
- Kekkonen M., Mutanen M., Kaila L., Nieminen M., Hebert P. D. 2015. Delineating species with DNA barcodes: a case of taxon dependent method performance in moths. *PloS one*, 10(4), e0122481. DOI: 10.1371/journal.pone.0122481.
- Kennedy G. G. 2003. Tomato, pests, parasitoids, and predators: tritrophic interactions involving the genus *Lycopersicon*. *Annual Review of Entomology*, 48, 51-72. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112733.
- Kim K. C., Byrne L. B. 2006. Biodiversity loss and the taxonomic bottleneck: emerging biodiversity Science. *Ecological Research*, 21, 794–810.

- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2), 111-120. DOI: 10.1007/BF01731581.
- Klompen H. 2000. A preliminary assessment of the utility of elongation factor-1 in elucidating relationships among basal Mesostigmata. *Experimental and Applied Acarology*, 24, 805-820. DOI: 10.1023/A:1006432017638.
- Klompen H., Lekveishvili M., Black W. C. 2007. Phylogeny of Parasitiform mites (Acari) based on rRNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 936-951. DOI: 10.1016/j.ympev.2006.10.024.
- Kluge A. G. 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among Epicrates (Boidae, Serpentes). *Systematic Biology*, 38(1), 7-25. DOI: 10.2307/2992432.
- Kostiainen T., Hoy M. A. 1996. The Phytoseiidae as biological control agents of pest mites and insects. A Bibliography 1960–1994, IFAS Publication, Florida Agricultural Experiment Station, Monograph 17. University of Florida, Gainesville, FL., 355pp. DOI: 10.1007/BF00051554.
- Krantz G. W. 1978. A Manual of Acarology, 2nd. Edition. OSU Book Stores, Corvallis, OREGON, 509pp.
- Kreiter S., Tixier M.-S., Croft B.A., Auger P., Barret D., 2002. Plants and leaf characteristics influencing the predaceous mite, *Kampimodromus aberrans* (Oudemans), in habitats surrounding vineyards (Acari: Phytoseiidae). *Environmental Entomology*, 31(4), 648-660.
- Kreiter S., Sentenac G., Weber M., Valentin G. 1993a. Les Phytoseiidae des vignobles français. Synthèse de 8 années de recensement. *Proc. 3rd Int. Conf. on Pests in Agriculture*, 7-9 XII 1993, Montpellier, France, Ann. Congrès ANPP 2: 597-607.
- Kreiter S., Sentenac G., Weber M., Valentin G., Hardy P. 1993b. Bilan de cinq années d'expérimentations de lutte biologique contre les acariens phytophages de la vigne à l'aide d'acariens prédateurs Phytoseiidae. *Proc. 3rd Int. Conf. on Pests in Agriculture*, 7-9 XII 1993, Montpellier, France, Ann. Congrès ANPP 1: 341-350.
- Kreiter S., Tixier M.-S., Auger P., Muckensturm N., Sentenac G., Doublet B., Weber M. 2000. Phytoseiid mites of vineyards in France (Acari: Phytoseiidae). *Acarologia*, 411–2, 77–96.

- Kumar V., Xiao Y., McKenzie C. L., Osborne L. S. 2015. Early establishment of the phytoseiid mite *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) on pepper seedlings in a predator-in-first approach. *Experimental and Applied Acarology*. DOI: 10.1007/s10493-015-9895-2.
- Lecointre G., Le Guyader H. 2002. Classification phylogénétique du vivant. Belin Sciences, Paris. p 559. ISBN-13: 978-2701142739
- Leliaert F., Verbruggen H., Wysor B., De Clerck O. 2009. DNA taxonomy in morphologically plastic taxa: algorithmic species delimitation in the *Boodlea* complex (Chlorophyta: Siphonocladales). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53, 122–133. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.06.004.
- Lindquist E. E. 1994. Some observations on the chaetotaxy of the caudal body region of Gamasine mites (Acari: Mesostigmata), with a modified notation for some ventrocaudal body setae. *Acarologia*, 35, 323-326.
- Lindquist E. E., Krantz G. W., Walter D. E. 2009. Order Mesostigmata. pp. 124-232. In: Krantz G. W., Walter, D. E. eds. *A Manual of Acarology*, Third edition. Texas Tech University Press, Lubbock, Texas, 807pp.
- Lopes C. P., McMurtry J. A., Moraes G. J. de. 2015. Definition of the concordis species group of the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae), with a morphological reassessment of the species included. *Zootaxa*, 4048(2), 174-90. DOI: 10.11646/zootaxa.4048.2.2.
- MacRae I., Croft B. A. 1993. Influence of temperature on interspecific predation and cannibalism between *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) and *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae). *Environmental Entomology*, 22, 770–775. DOI: 10.1093/ee/22.4.770.
- Magalhaes S., Bakker F. M. 2002. Plant feeding by a predatory mite inhabiting cassava. *Experimental and Applied Acarology*, 27(1-2), 27-37. DOI: 10.1023/A:1021508620436.
- Marshall S. A. 2000. Comments on error rates in insect identifications. *Newsletter of the Biological Survey of Canada (Terrestrial Arthropods)* 19(2), 45-47.
- Mayden R. L. 1997. A hierarchy of species concepts: The denouement in the saga of the species problem. Pages 381–424. In: *Species: The units of biodiversity* (M. F. Claridge, H. A. Dawah, and M. R. Wilson, eds.). Chapman and Hall, London.

- Mayr E. 1942. Systematics and the origin of species. New York, Columbia University Press. 334pp.
- McMurtry J. A. 1982. The use of phytoseiids for biological control: progress and future prospects. In: Hoy, M. A. Ed., Recent advances in knowledge of the Phytoseiidae. Division of Agricultural Sciences, University of California, USA, Publ. 3284, pp. 23–48.
- McMurtry J. A., Badii M. H. 1989. Reproductive compatibility in widely separated populations of three species of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae). The Pan-Pacific entomologist, 65 (4), 397-402
- McMurtry J. A., Croft B. A. 1997. Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. Annual Review of Entomology, 42, 291-321. DOI: 10.1146/annurev.ento.42.1.291.
- McMurtry J. A., Huffaker C. B., Van de Vrie M. 1970. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: a review. I. Tetranychid enemies: their biological characters and the impact of spray practices. Hilgardia, 40(11), 331-390.
- McMurtry J. A., Mahr D. L., Johnson H. G. 1976. Geographic races in the predaceous mite, *Amblyseius potentillae* (Acari: Phytoseiidae). International Journal of Acarology, 2(1), 23-28. DOI: 10.1080/01647957608683752.
- McMurtry J. A., Moraes G. J. de, Famah Sourassou N. 2013. Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. Systematic, Applied Acarology, 18, 297–320. DOI: 10.11158/saa.18.4.1.
- Messelink G. J., Van Steenpaal E. F., Ramakers P. M. J. 2006. Evaluation of phytoseiid predators for control of western flower thrips on greenhouse cucumber. BioControl, 51, 753-768. DOI: 10.1007/s10526-006-9013-9.
- Messelink G., van Steenpaal S., van Wensveen W. 2005. *Typhlodromips swirskii* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae): a new predator for thrips control in greenhouse cucumber. IOBC/WPRS Bulletin, 28(1), 183-186.
- Meszaros A., Tixier M. S., Cheval B., Barbar Z., Kreiter S. 2007. Cannibalism and intraguild predation in *Typhlodromus exilaratus* and *T. phialatus* (Acari: Phytoseiidae) under laboratory conditions. Experimental and Applied Acarology, 33, 37–43. DOI: 10.1007/s10493-006-9046-x.

- Meyer C. P., Paulay G. 2005. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology*, 3(12), e422. DOI: 10.1371/journal.pbio.0030422.
- Michael A. D. 1903. British Tyroglyphidae. Vol. II, The Royal Society of London, 183pp.
- Mickevich M. F., Farris J. S. 1981. The implications of congruence in Menidia. *Systematic Zoology*, 30(3), 351-370. DOI: 10.2307/2413255.
- Miller, J. S., J. W. Wenzel. 1995. Ecological characters and phylogeny. *Annual Review of Entomology*, 40, 389-415.
- Momen F. M., El-Saway S. A. 1993. Biology and feeding behaviour of the predatory mite, *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae). *Acarologia*, 34(3), 199-204.
- Monteiro L. B., Belli L., Souza A., Werner A. L. 2002. Efeito do manejo de plantas daninhas sobre *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) em pomar de macieira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24, 680–682. DOI: 10.1590/S0100-29452006000300038.
- Moraes G. J. de, Flechtmann C. H. W. 2008. Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Holos. 1. ed. Ribeirão Preto: Holos, v. 1., 288pp.
- Moraes G. J. de, McMurtry J. A., Denmark H. A. 1986. A catalog of the mite family Phytoseiidae. References to taxonomy, synonymy, distribution and habitat. EMBRAPA - DDT, Brasilia, Brazil, 353pp.
- Moraes G. J. de, McMurtry J. A., Denmark H. A., Campos C. B. 2004. A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. *Zootaxa*, 434, 1–494. DOI: 10.11646/zootaxa.3795.5.6.
- Moritz C., Cicero C. 2004. DNA barcoding: promise and pitfalls. *PLoS Biology*, 2(10), e354. DOI: 10.1371/journal.pbio.0020354.
- Moritz C., Dowling T. E., Brown W. M. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18 (1), 269-292. DOI: 10.1146/annurev.es.18.110187.001413.
- Muma M. H. 1961. Subfamilies, genera, and species of Phytoseiidae (Acarina: Mesostigmata). *Florida State Museum Bulletin*, 57, 267-302.
- Narendran T. C. 2008. Importance of Taxonomy in Conservation of Biodiversity. *Wild Life Biodiversity Conservation*, 14-19.

- Navajas M., Lagnel J., Fauvel G., Moraes, G. J. de 1999. Sequence variation of ribosomal internal transcribed spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Experimental and Applied Acarology*, 23(11), 851-859. DOI: 10.1023/A:1006251220052.
- Navia D., De Moraes G. J., Roderick G., Navajas M. 2005. The invasive coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae): origin and invasion sources inferred from mitochondrial (16S) and nuclear (ITS) sequences. *Bulletin of entomological research*, 95(6), 505-516.
- Navia D., Domingos C. A., Mendonça R. S., Ferragut F., Rodrigues M. A. N., Morais E. G. F. de, Tixier M.-S., Gondim M. G. 2014. Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean Islands and the Americas. *Biological Control*, 72, 17-29. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.01.011.
- Nei M., Kumar S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford university press., 252pp.
- Nelson-Rees W. A., Hoy M. A., Roush R. T. 1980. Heterochromatinization, chromatin elimination and haploidization in the parahaploid mite *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acarina: Phytoseiidae). *Chromosoma*, 77(3), 263-276.
- Ness J. H., Rollinson E. J., Whitney K. D. 2011. Phylogenetic distance can predict susceptibility to attack by natural enemies. *Oikos*, 120, 1327-1334 , doi: 10.1111/j.1600-0706.2011.19119.x
- Nicotina M. 1996. Phytoseiid mites associated with vines in vineyards of the Campania region. *Acarology IX Proceedings* (ed. by R Mitchell, DJ Horn, GR Needham and WC Welbourn), 237-240.
- Nielsen R., Matz M. 2006. Statistical approaches for DNA barcoding. *Systematic Biology*, 55(1), 162-169. DOI: 10.1080/10635150500431239.
- Nomikou M., Janssen A., Sabelis M. W. 2003. Phytoseiid predators of whiteflies feed and reproduce on non-prey food sources. *Experimental and applied acarology*, 31(1-2), 15-26. DOI: 10.1023/B:APPA.0000005142.31959.e8.
- Nomikou M., Janssen A., Schraag R., Sabelis M. W. 2001. Phytoseiid predators as potential biological control agents for *Bemisia tabaci*. *Experimental and Applied Acarology*, 25, 271-291. DOI: 10.1023/A:1017976725685.

- Nomikou M., Janssen A., Schraag R., Sabelis M. W. 2002. Phytoseiid predators suppress populations of *Bemisia tabaci* on cucumber plants with alternative food. *Experimental and Applied Acarology*, 27(1-2), 57-68. DOI: 10.1023/A:1021559421344.
- Noronha A. C. D. S., Moraes G. J. de 2004. Reproductive compatibility between mite populations previously identified as *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 32(4), 271-279.
- O'Dowd D. J., Wilson M. F. 1989. Leaf domatia and mites on Australasian plants: ecological and evolutionary implications. *Biological Journal of the Linnean Society*, 37, 191–236. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1989.tb01901.x.
- O'Farrell P. H. 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *Journal of biological chemistry*, 250(10), 4007-4021.
- Okassa M., Tixier M.-S., Cheval B., Kreiter S. 2009. Molecular and morphological evidence for a new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae). *Canadian Journal of Zoology*, 87(8), 689-698. DOI: 10.1139/Z09-057.
- Okassa M., Tixier M.-S., Kreiter S. 2010. Morphological and molecular diagnostics of *Phytoseiulus persimilis* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 52, 291–303. DOI: 10.1007/s10493-010-9364-x.
- Onzo A., Houedokoho A. F., Hanna R. 2012. Potential of the predatory mite, *Amblyseius swirskii* to suppress the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* on the gboma eggplant, *Solanum macrocarpon*. *Journal of Insect Science*, 12, 7. DOI: 10.1673/031.012.0701.
- Orr D. 2009. Biological control and integrated pest management. In *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process*. Springer Netherlands, 207-239.
- Overmeer W. P. J. 1985. Diapause. In: *Spider mites: Their Biology, Natural Enemies and Control*. Vol 1B. Helle W. and Sabelis M. W. eds., Elsevier, 95-102. DOI: 10.1016/0169-5347(87)90042-5.
- Özsisli T., Çobanoğlu S. 2011. Mite (Acari) fauna of some cultivated plants from Kahramanmaraş, Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 10(11), 2149-2155. DOI: 10.5897/AJB10.2041.

- Padial J. M., Miralles A., De la Riva I., Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7(1), 1. DOI: 10.1186/1742-9994-7-16.
- Pagès M., Chaval Y., Herbreteau V., Waengsothorn S., Cosson J. F., Hugot J. P., Morand S., Michaux J. 2010. Revisiting the taxonomy of the Rattini tribe: a phylogeny-based delimitation of species boundaries. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), 1. DOI: 10.1186/1471-2148-10-184.
- Palevsky E., Walzer A., Gal S., Schausberger P. 2008. Evaluation of dry-adapted strains of the predatory mite *Neoseiulus californicus* for spider mite control on cucumber, strawberry and pepper. *Experimental and Applied Acarology*, 45(1-2), 15-27. DOI: 10.1007/s10493-008-9162-x.
- Palumbi S.R. 1998. Species formation and the evolution of gamete recognition loci. *Endless Forms: Species and Speciation*, D. J. Howard and S. H. Berlocher, eds. Oxford University Press, New York, 271–278.
- Papaioannou-Souliotis P., Markoyiannaki D., Rumbos I., Adamopoulos I. 1999. Phytoseiidae mites associated with vine in various provinces of continental and insular Greece: A contribution to faunistics and biogeography, with references to eco-ethological aspects of *Phytoseius finitimus* (Ribaga) (Acarina: Phytoseiidae). *Acarologia*, 15(2), 113-125.
- Pappas M. L., Xanthis C., Samaras K., Koveos D. S., Broufas G. D. 2013. Potential of the predatory mite *Phytoseius finitimus* (Acari: Phytoseiidae) to feed and reproduce on greenhouse pests. *Experimental and Applied Acarology*, 61(4), 387-401. DOI: 10.1007/s10493-013-9711-9.
- Park H. H., Shipp L., Buitenhuis R., Ahn J. J. 2011. Life history parameters of a commercially available *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) fed on cattail (*Typha latifolia*) pollen and tomato russet mite (*Aculops lycopersici*). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14, 497-501. DOI: 10.1016/j.aspen.2011.07.010.
- Patwardhan A., Ray S., Roy A. 2014. Molecular Markers in Phylogenetic Studies - A Review. *Journal of Phylogenetics and Evolutionary Biology*, 2(2) DOI: 10.4172/2329-9002.1000131.
- Peverieri G. S., Simoni S., Goggioli D., Liguori M., Castagnoli M. 2009. Effects of variety and management practices on mite species diversity in Italian vineyards. *Bulletin of Insectology*, 62(1), 53-60.

- Pires A. C., Marinoni L. 2010. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. *Biota Neotropica*, 10(2), 339-346. DOI: 10.1590/S1676-06032010000200035.
- Pistone D., Mugu S., Jordal B. H. 2016. Genomic mining of phylogenetically informative nuclear markers in bark and *Ambrosia* beetles. *PlosOne*, 11(9), e0163529.
- Pons J., Barraclough T. G., Gomez-Zurita J., Cardoso A., Duran D. P., Hazell S., Vogler A. P. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55(4), 595-609. DOI: 10.1080/10635150600852011.
- Pratt P. D., Monetti L. N., Croft B. A. 1998. Within-and between-plant dispersal and distributions of *Neoseiulus californicus* and *N. fallacis* (Acari: Phytoseiidae) in simulated bean and apple plant systems. *Environmental Entomology*, 27(1), 148-153.
- Puillandre N., Lambert A., Brouillet S., Achaz G. 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21(8), 1864-1877. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x.
- Rach J., DeSalle R., Sarkar I. N., Schierwater B., Hadrys H. 2008. Character-based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 275 (1632), 237-247.
- Radcliffe E. B., & Hutchison W. D. 2009. Integrated pest management: concepts, tactics, strategies and case studies. Cambridge University Press., 14-33.
- Ragusa S. 1981. Influence of different kinds of food substances on the developmental time in young stages of the predacious mite *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa (Acari: Phytoseiidae). *Redia*, 64, 237-243.
- Ragusa S., Swirski E. 1975. Feeding habits development and oviposition of the predaceous mite *Amblyseius swirskii* (Acarina: Phytoseiidae) on pollen of various weeds. *Israel Journal of Entomology*, 15, 55-62.

- Ragusa S., Tsolakis H. 1998. Phytoseiid mites (Parasitiformes, Phytoseiidae) of Lesvos Island (Greece) with a description of a new species. *Entomologia Hellenica*, 12, 55-64.
- Ragusa-di Chiara S., Tsolakis H., Halliday R. B., Walter D. E., Proctor H. C., Norton R. A., Colloff M. J. 2001. Phytoseiid faunas of natural and agricultural ecosystems in Sicily. In: *Acarology: Proceedings of the 10th International Congress*. CSIRO Publishing, 522-529.
- Rasmy A. H., Abou-El-Ella G. M., Hussein H. E. 2004. Cannibalism and interspecific predation of the phytoseiid mite, *Amblyseius swirskii*. *Journal of Pest Science*, 77(1), 23-25. DOI: 10.1007/s10340-003-0022-5.
- Ratnasingham S., Hebert P. D. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular ecology notes*, 7(3), 355-364. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x.
- Reijmers T. H., Wehrens R., Daeyaert F. D., Lewi P. J., Buydens L. M. 1999. Using genetic algorithms for the construction of phylogenetic trees: application to G-protein coupled receptor sequences. *Biosystems*, 49(1), 31-43. DOI: 10.1016/S0303-2647(98)00033-1.
- Rezende D., Navia D., Mendonça R.S., Melo J. W. S., Gondim M. G. C. 2015. The predatory mite *Neoseiulus paspalivorus* (Phytoseiidae) in Brazil: taxonomic status, reproductive compatibility and morphological and molecular variability. *Experimental and Applied Acarology*, 67, 547–564.
- Rodrigues J. R., Torres L. M. 2003. Contribuição para o conhecimento das espécies de fitoseídeos Acari: Phytoseiidae nas culturas de macieira e vinha no Norte de Portugal. *EACB. Livro de resumos*, p 130-136.
- Rokas A., Carroll S. B. 2005. More genes or more taxa? The relative contribution of gene number and taxon number to phylogenetic accuracy. *Molecular biology and Evolution*, 22(5), 1337-1344. DOI: 10.1093/molbev/msi121.
- Rosen D. 1986. The role of taxonomy in effective biological control programs. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 15, 121-129.
- Roslin T., Majaneva S. 2016. The use of DNA barcodes in food web construction—terrestrial and aquatic ecologists unite! *Génome*, 59(9), 603-628.

- Rowell H. J., Chant D. A., Hansell R. I. C. 1978. The determination of setal homologies and setal patterns on the dorsal shield in the family Phytoseiidae. *The Canadian Entomologist*, 110, 859-876. DOI: 10.4039/Ent110859-8.
- Rubinoff D., Cameron S., Will K. 2006. A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for “barcoding” identification. *Journal of Heredity*, 97(6), 581-594. DOI: 10.1093/jhered/esl036.
- Sabelis M. W., Dicke M. 1985. Capacity for population increase. In: *Spider mites: Their Biology, Natural Enemies and Control*. Vol 1B. Helle W. and Sabelis M. W. eds., Elsevier, 35-41. DOI: 10.1016/0169-5347(87)90042-5.
- Saha K., Somchoudhury A. K., Sarkar P. K., Gupta S. K. 2001. Effect of temperature on the rate of development, sex ratio and mortality of *Amblyseius coccisocius* Ghai and Menon (Acari: Phytoseiidae), an important biological agent against tea spider mite in India. *Acarology: Proceedings of the 10 th International Congress*. CSIRO Publishing, Melbourne. pp. 657.
- Sahraoui H., Kreiter S., Lebdi Grissa K., Tixier M.-S. 2016. Sustainable weed management and predatory mites (Acari: Phytoseiidae) dynamics in Tunisian citrus orchards. *Acarologia*, 56(4), 517-532.
- Saitou N., Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425.
- Sarkar I. N., Planet P. J., DeSalle R. 2008. CAOS Software for use in character based DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 8(6), 1256-1259. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2008.02235.x
- Sarkar I.N., J. Thornton, P.J. Planet, B. Schierwater and R. DeSalle. 2002. A systematic method for classification of novel homeoboxes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 24(3), 388-399.
- Savoie-Zajc L. 2006. Comment peut-on construire un échantillonnage scientifiquement valide? *Recherches qualitatives*, 99-111.
- Schausberger P. 1997. Inter- and intraspecific predation on immatures by adult females in *Euseius finlandicus*, *Typhlodromus pyri* and *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 21, 131–150. DOI: 10.1023/A:1018478418010.

- Schausberger P. 1998. Population growth and persistence when prey is diminishing in single-species and two-species systems of the predatory mites *Euseius finlandicus*, *Typhlodromus pyri* and *Kampimodromus aberrans*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 88, 275–286. DOI: 10.1046/j.1570-7458.1998.00372.x.
- Schausberger P. 1999. Predation preference of *Typhlodromus pyri* and *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) when offered con- and heterospecific immature life stages. *Experimental and Applied Acarology*, 23, 389–398. DOI: 10.1023/A:1006172320540.
- Schausberger P. 2003. Cannibalism among phytoseiid mites: a review. *Experimental and Applied Acarology*, 29 (3), 173-191. DOI: 10.1023/A:1025839206394.
- Shaw S. R. 1988. Euphorine phylogeny: the evolution of diversity in host-utilization by parasitoid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Ecological Entomology*, 13, 323-335.
- Schindel D. E., Miller S. E. 2005. DNA barcoding a useful tool for taxonomists. *Nature*, 435(7038), 17-17. DOI: 10.1038/435017b.
- Schmidt R. A. 2014. Leaf structures affect predatory mites (Acari: Phytoseiidae) and biological control: a review. *Experimental and Applied Acarology*, 62(1), 1-17. DOI: 10.1007/s10493-013-9730-6.
- Seelmann L., Auer A., Hoffmann D., Schausberger P. 2007. Leaf pubescence mediates intraguild predation between predatory mites. *Oikos*, 116(5), 807-817. DOI: 10.1111/j.2007.0030-1299.15895.x.
- Seidel R.A., Lang B.K., Berg D.J. 2010. Salinity tolerance as a potential driver of ecological speciation in amphipods (*Gammarus* spp.) from the northern Chihuahuan Desert. *Journal of the North American Benthological Society*, 29, 1161–1169.
- Shulten G. G. M. 1985. Pseudo-Arrhenotoky. In: Spider mites: Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol 1B. Helle W. and Sabelis M. W. eds., Elsevier, 67-71. DOI: 10.1016/0169-5347(87)90042-5.
- Sigsgaard L. 2006. Biological control of arthropod pests in outdoor crops - the new challenge. DIAS report Plant Production, 119, 153 – 168.

- Simmons A. T., Gurr G. M. 2005. Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. *Agricultural and Forest Entomology*, 74, 265-276. DOI: 10.1111/j.1461-9555.2005.00271.x.
- Sites J. W., Marshall J. C. 2003. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18, 462-470. DOI: 10.1016/S0169-5347(03)00184-8.
- Sourassou N. F., Hanna R., Negloh K., Breeuwer J. A., Sabelis M. W. 2013. Females as intraguild predators of males in cross-pairing experiments with phytoseiid mites. *Experimental and Applied Acarology*, 61(2), 173-182. DOI: 10.1007/s10493-013-9693-7.
- Sourassou N. F., Hanna R., Zannou I., Moraes G. J. de, Negloh K., Sabelis M. W. 2011. Morphological variation and reproductive incompatibility of three coconut-mite-associated populations of predatory mites identified as *Neoseiulus paspalivorus* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 53(4), 323-338. DOI: 10.1007/s10493-010-9413-5.
- Stern V. M. R. F., Smith R., Van den Bosch R., Hagen K. 1959. The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid: the integrated control concept. *California Agriculture*, 29(2), 81-101.
- Swirski E., Amitai S., Dorzia N. 1967. Laboratory studies on the feeding, development and reproduction of the predaceous mites *Amblyseius rubini* Swirski and Amitai and *Amblyseius swirskii* Athias (Acarina: Phytoseiidae) on various kinds of food substances. *Israel Journal of Agricultural Research*, 17(2), 101.
- Swirski E., Ragusa di Chiara S., Tsolakis H. 1998. Keys to the phytoseiid mites Parasitiformes, Phytoseiidae of Israel. *Phytophaga*, 8, 85-154.
- Swirski E., Ragusa S. 1976. Notes on predacious mites of Greece, with a description of five new species (Mesostigmata: Phytoseiidae). *Phytoparasitica*, 4(2), 101-122. DOI: 10.1007/BF02980341.
- Swirski E., Ragusa S. 1977b. Some predacious mites of Greece, with a description of one new species (Mesostigmata: Phytoseiidae). *Phytoparasitica*, 5(2), 75-84. DOI: 10.1007/BF02981145.

- Swofford D. L., Olsen G. J., Waddell P. J., Hillis D. M. 1996. Phylogenetic inference. In: DM Hillis, C Moritz, BK Mable, Eds., Molecular Systematics. Sinauer Associates, Sunderland, MA, 407–514.
- Tahseen Q. 2014. Taxonomy-The crucial yet misunderstood and disregarded tool for studying biodiversity. Journal of Biodiversity and Endangered Species, 2, 128. DOI: 10.4172/2332-2543.1000128.
- Takabayashi J., Shimoda T., Dicke M., Ashihara W., Takafuji A. 2000. Induced response of tomato plants to injury by green and red strains of *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology, 24(5-6), 377-383. DOI: 10.1023/A:1006497024175.
- Takahashi F., Chant D. A. 1993. Phylogenetic relationships in the genus *Phytoseiulus* Evans (Acari: Phytoseiidae). II. Taxonomic Review. Journal of Acarology, 19(1), 23-37. Doi.org/10.1080/01647959308683535
- Tal C., Coll M., Weibtraub P. 2007. Biological control of *Polyphagotarsonemus latus* by the predaceous mite *Amblyseius swirskii*. IOBC/WPRS Bulletin, 30(5), 111-115.
- Tamura K., Nei M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular Biology and Evolution, 10(3), 512-526.
- Tautz D., Arctander P., Minelli A., Thomas R. H., Vogler A. P. 2002. DNA points the way ahead in taxonomy. Nature, 418(6897), 479-479.
- Tautz D., Arctander P., Minelli A., Thomas R. H., Vogler A. P. 2003. A plea for DNA taxonomy. Trends in Ecology & Evolution, 18(2), 70-74.
- Tillier S. 2005. Terminologie et nomenclatures scientifiques : l'exemple de la taxonomie zoologique. Langages, (1), 104-117.
- Tixier M.-S. 2012. Statistical approaches to assess intraspecific variations of morphological continuous characters: the case study of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). Cladistics, 28, 489–502. DOI: 10.1111/j.1096-0031.2012.00394.x.
- Tixier M.-S. 2013. Statistical approaches to assess interspecific differences for morphological continuous characters: the case study of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). Zoologica Scripta, 42(3), 327-334. DOI:10.1111/zsc.12004

- Tixier M.-S., Ferrero M., Okassa M., Guichou S., Kreiter S. 2010a. On the specific identity of specimens of *Phytoseiulus longipes* Evans (Mesostigmata: Phytoseiidae) showing different feeding behaviours: morphological and molecular analyses. *Bulletin of Entomological Research*, 17, 1-11. DOI: 10.1017/S0007485309990617.
- Tixier M.-S., Guichou S., Kreiter S. 2008a. Morphological variation in the biological control agent *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae): consequences for diagnostic reliability and synonymies. *Invertebrate Systematics* 22, 453-469.
- Tixier M.-S., Guichou S., Kreiter S. 2010b. Assessment of the usefulness of eight DNA fragments for phylogenetic studies within the family Phytoseiidae. In: Sabelis, M. W. Bruin, J. Eds., *Trends in acarology, Proceedings of the 12th International Congress*, Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 41–47. DOI: 10.1007/978-90-481-9837-5_7.
- Tixier M.-S., Hernandez-Akashi F., Guichou S., Kreiter S. 2011b. The puzzle of DNA sequences of Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) in the public Genbank database. *Invertebrate Systematics*, 25, 389-406.
- Tixier M.-S., Kreiter S. 2009. Assessment of arthropods diversity in biodiversity hotspots: the case of the Phytoseiid mite (Acari) family. *Biodiversity and Conservation*, 18(3), 507-527.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Auger P. 2000. Colonization of vineyards by phytoseiid mites: their dispersal patterns in the plot and their fate. *Experimental and Applied Acarology*, 24, 191–211. DOI: 10.1023/A:1006332422638.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Auger P., Weber M. 1998. Colonisation of Languedoc vineyards by phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae): influence of wind and crop environment. *Experimental and Applied Acarology*, 22, 523-542.
- Tixier, M.S., Kreiter, S., Ferragut, F. & Cheval, B. 2006a. The suspected synonymy of *Kampimodromus hmiminai* McMurtry and *K. adrianae* (Acari: Phytoseiidae): morphological and molecular investigations. *Canadian Journal of Zoology*, 84, 1216-1222.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Barbar Z., Ragusa S., Cheval B. 2006b. The status of two cryptic species: *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa and *Typhlodromus phialatus*

- Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae): consequences for taxonomy. *Zoologica scripta*, 35, 115-122.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Cheval B., Auger P. 2003. Morphometric variation between populations of *Kampimodromus aberrans* Oudemans (Acari: Phytoseiidae): implications for the taxonomy of the genus. *Invertebrate Systematics*, 17, 349–358.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Croft B. A., Cheval B. 2008b. *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) from USA: morphological and molecular assessment of its density. *Bulletin of Entomological Research*, 98, 125–134. DOI: 10.1017/S0007485307005457.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Moraes G. J. de. 2008c. Biogeographic distribution of the mites of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Biological Journal of the Linnean Society*, 93, 845-856. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2007.00937.x.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Moraes G.J. 2009. Contribution to the phylogeny and the biogeography of the Kampimodromini tribe in the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). *Trends in Acarology*, M.W. Sabelis & J. Bruin (eds.). *Proceedings of the 12th International Congress of Acarology Amsterdam Aout 2006*.
- Tixier M.-S., Kreiter S., Okassa M., Cheval B. 2010c. A new species of the genus *Euseius* Wainstein (Acari: Phytoseiidae) from France. *Journal of Natural history*, 44, 241–254.
- Tixier M.-S., Okassa M., Kreiter S. 2012. An integrative morphological and molecular diagnostic for *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). *Zoologica Scripta*, 411, 68–78. DOI: 10.1111/j.1463-6409.2011.00504.
- Tixier M.-S., Otto J., Kreiter S., dos Santos V., Beard J. 2014. Is *Neoseiulus wearnei* the *Neoseiulus californicus* of Australia? *Experimental and Applied Acarology*, 62, 267–277. DOI: 10.1007/s10493-013-9740-4.
- Tixier M.-S., Tsolakis H., Ragusa S., Poiso A., Ferrero M., Okassa M., Kreiter S. 2011a. Integrative taxonomy demonstrates the unexpected synonymy between two predatory mite species: *Cydnodromus idaeus* and *C. picanus* (Acari: Phytoseiidae). *Invertebrate Systematics*, 25, 273–281. DOI: 10.1071/IS11025.

- Trottin-Caudal Y., Chabriere C., Fournier C., Leyre J. M., Schoen L. 2006. Current situation of *Bemisia tabaci* in protected vegetables crops in the South of France. IOBC WPRS Bulletin, 29(4), 53.
- Tsolakis H., Ragusa E., Di Chiara S. R. 2000. Distribution of phytoseiid mites (Parasitiformes, Phytoseiidae) on hazelnut at two different altitudes in Sicily (Italy). Environmental entomology, 29(6), 1251-1257.
- Tsolakis H., Ragusa S. 2010. Generic concept of the phytoseiids (Acari: Phytoseiidae) according to Athias-Henriot. Acarologia, 50(4), 415-429. DOI: 10.1051/acarologia/20101986.
- Tsolakis H., Ragusa S. 2015. Considerations on systematics of the Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata), with definition of a new species group and description of a new species. Zootaxa, 3926 (2), 229 – 243.
- Tsolakis H., Tixier M.-S., Kreiter S., Ragusa S. 2012. The concept of genus within the family Phytoseiidae (Acari: Parasitiformes): historical review and phylogenetic analyses of the genus *Neoseiulus* Hughes. Zoological Journal of the Linnean Society, 165(2), 253-273. DOI: 10.1111/j.1096-3642.2011.00809.x.
- Valkiunas G., Atkinson C. T., Bensch S., Sehgal R. N. M., Ricklefs R. E. 2008. Parasite misidentifications in GenBank: how to minimize their number? Trends in Parasitology 24(6), 247–248. doi:[10.1016/j.pt.2008.03.004](https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.03.004)
- Van Driesche R. G., Bellows Jr T. S. 1996. Biology of arthropod parasitoids and predators. In: Biological control (pp. 309-336). Kluwer Academic Publishers, Boston/Dordrecht/London. Doi : 10.1007/978-1-4613-1157-7.
- Van Velzen R., Weitschek E., Felici G., Bakker F. T. 2012. DNA barcoding of recently diverged species: relative performance of matching methods. PloS one, 7(1), e30490. DOI: 10.1371/journal.pone.0030490.
- Van Wijk M., De Bruijn P. J., Sabelis M. W. 2008. Predatory mite attraction to herbivore-induced plant odors is not a consequence of attraction to individual herbivore-induced plant volatiles. Journal of chemical ecology, 34(6), 791-803. DOI: 10.1007/s10886-008-9492-5.
- Van Houten Y. M., Ostlie M. L., Hoogerbrugge H., Bolckmans K. 2005. Biological control of western flower thrips on sweet pepper using the predatory mites

- Amblyseius cucumeris*, *Iphiseius degenerans*, *A. andersoni* and *A. swirskii*. IOBC/WPRS Bulletin, 28(1), 283–286.
- Van Houten Y. M., Hoogerbrugge H., Bolckmans K. J. F. 2007. The influence of *Amblyseius swirskii* on biological control of twospotted spider mites with the specialist predator *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). IOBC/WPRS Bulletin, 30(5), 129–132.
- Vesque M. J. 1889. De l'emploi des caractères anatomiques dans la classification des végétaux. Bulletin de la Société Botanique de France, 36(10), 41-89.
- Villanueva R. T., Childers C. C. 2006. Evidence for host plant preference by *Iphiseiodes quadripilis* (Acari: Phytoseiidae) on Citrus. Experimental and Applied Acarology, 39(3-4), 243-256. DOI: 10.1007/s10493-006-9021-6.
- Wainstein B. A. 1962. Révision du genre *Typhlodromus* Scheuten, 1857 et systématique de la famille des Phytoseiidae Berlese, 1916 (Acarina: Parasitiformes). Acarologia, 4, 5-30.
- Wakeley J. 2009. Coalescent theory: An introduction. Greenwood Village, Colorado: Roberts and Co. W. H. Freeman. 352pp.
- Walter D. E., O'Dowd D. J. 1992a. Leaf morphology and predators: effect of leaf domatia on the abundance of predatory mites (Acari: Phytoseiidae). Environmental Entomology, 21(3), 478-484. DOI: 10.1093/ee/21.3.47.
- Walter D. E., O'Dowd D. J. 1992b. Leaves with domatia have more mites. Ecology, 73(4), 1514-1518. DOI: 10.2307/1940694.
- Walzer A., Schausberger P. 1999a. Cannibalism and interspecific predation in the phytoseiid mites *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*: predation rates and effects on reproduction and juvenile development. BioControl, 43(4), 457-468. DOI: 10.1023/A:1009980401662.
- Walzer A., Schausberger P. 1999b. Predation preferences and discrimination between con-and heterospecific prey by the phytoseiid mites *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*. BioControl, 43(4), 469-478. DOI: 10.1023/A:1009974918500.
- Whalon M. E., Croft B. A. 1986. Immigration and colonization of portable apple trees by arthropod pests and their natural enemies. Crop Protection, 56, 376-384. DOI: 10.1016/0261-2194(86)90068-2.

- Wiemers M., Fiedler K. 2007. Does the DNA barcoding gap exist? A case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4(1), 1. DOI: 10.1186/1742-9994-4-8.
- Will K. W., Rubinoff D. 2004. Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. *Cladistics*, 20(1), 47-55. DOI: 10.1111/j.1096-0031.2003.00008.x.
- Wimmer D., Hoffman D., Schausberger P. 2008. Prey suitability of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, and onion thrips, *Thrips tabaci*, for the predatory mite *Amblyseius swirskii*. *Biocontrol Science and Technology*, 18, 533-542. DOI: 10.1080/09583150802029784.
- Wysoki M., Bolland H. R. 1983. Chromosome studies of phytoseiid mites (Acari: Gamasida). *International Journal of Acarology*, 9, 91-94.
- Yang C., Li Y.X., Yang X.M., Sun J.T., Xu X.N., hong X.Y. 2012 Genetic variation among natural populations of *Euseius nicholsi* (Acari: Phytoseiidae) from China detected using mitochondrial cox1 and nuclear rDNA ITS sequences. *Systematic & Applied Acarology*, 17(2), 171-181.
- Yaninek J. S., Herren H. R., Gutierrez A. P. 1989. Dynamics of *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae) in Africa: seasonal factors affecting phenology and abundance. *Environmental entomology*, 18(4), 625-632. DOI: 10.1093/ee/18.4.625.
- Yaninek S., Hanna R. 2003. Cassava Green Mite in Africa—a Unique Example of Successful. *Biological control in IPM systems in Africa*, 61. DOI: 10.1079/9780851996394.0061.
- Yao D. S., Chant D. A. 1989. Population growth and predation interference between two species of predatory phytoseiid mites (Acarina: Phytoseiidae) in interactive systems. *Oecologia*, 80, 443-455.
- Zaher M., Momen F. M., Rasmy A. H., Nawar M. S., Abou-Ellella G. 2007. Some factors affecting reproduction and sex-ratio of the predacious mite *Amblyseius deleoni* (Muma and Denmark) (Acari: Phytoseiidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 40(4), 264-280. DOI: 10.1080/03235400500424653.

- Zardoya R., Meyer A. 1996. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Molecular Biology and Evolution*, 13(7), 933-942.
- Zhang Y., Zhang Z. Q., Ji J., Lin J. 1999. Predation of *Amblyseius longispinosus* (Acari: Phytoseiidae) on *Schizotetranychus nanjingensis* (Acari: Tetranychidae), a spider mite injurious to bamboo in Fujian, China. *Systematic and Applied Acarology*, 4(1), 63-68. DOI: 10.11158/saa.4.1.9.
- Zhang Z. Q. 2003. Mites of greenhouses: identification, biology and control. CABI Publishing. 244pp. DOI: 10.1079/9780851995908.0000.
- Zhang Z. Q., Croft B. A. 1995. Interspecific competition and predation between immature *Amblyseius fallacis*, *Amblyseius andersoni*, *Typhlodromus occidentalis* and *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and applied acarology*, 19(5), 247-257. DOI: 10.1007/BF00052617.
- Zuckerkandl E., Pauling L. 1965a. Evolutionary divergence and convergence in proteins. *Evolving genes and proteins*, 97, 97-166. DOI: 10.1016/B978-1-4832-2734-4.50017-6.
- Zuckerkandl E., Pauling L. 1965b. Molecules as documents of evolutionary history. *Journal of theoretical biology*, 8(2), 357-366. DOI: 10.1016/0022-5193(65)90083-4

