

دراسة جزيئية على حفارة الطماطم/البندورة (*Tuta absoluta* Meyrick)، الآفة الدخيلة الجديدة في المملكة العربية السعودية

خالد بن عبدالله الهديب

قسم زراعة الأراضي القاحلة، كلية العلوم الزراعية والأغذية، جامعة الملك فيصل، ص.ب. 55009،

الأحساء 31982، المملكة العربية السعودية، البريد الإلكتروني: kalhudaib@kfu.edu.sa

المخلص

الهديب، خالد بن عبدالله. 2013. دراسة جزيئية على حفارة الطماطم/البندورة (*Tuta absoluta* Meyrick)، الآفة الدخيلة الجديدة في المملكة العربية السعودية. مجلة وقاية النبات العربية، 31(1): 76-82.

تشكل حفارة الطماطم/البندورة (*Tuta absoluta*)، تهديداً لإنتاج الطماطم/البندورة في المملكة العربية السعودية. تم اكتشافها في إسبانيا عام 2006 ثم انتشرت إلى أوروبا ومنطقة حوض البحر المتوسط. وصلت هذه الحشرة إلى تبوك وحائل في شمال المملكة العربية السعودية في عام 2010، والاحساء بالمنطقة الشرقية في عام 2011. في بيئتها الجديدة من الممكن أن يكون للحشرة حوالي 12 جيلاً في العام. وقد استخدمت تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل (PCR) لتحديد الجين الوراثي الموجود في المصورات الحيوية بالحشرة والمسمى السيتوكروم أوكسيداز (COI) بعد استخلاص الحمض النووي من الحشرة. وقد تمت تنقية الجين الوراثي والحصول على التسلسل النكليوتيدي له، وتم تسجيله في بنك الجينات برقم JN255972. وتمت مقارنة التسلسل النيوكليوتيدي مع الحشرات الأخرى في بنك الجينات حيث اتضح أنها مطابقة بنسبة 99% مع العزلة اليونانية (HQ873053)، بينما كان التماثل 91% مع حشرة *Gnorimoschema gallaesolidaginis* و 89% مع حشرة *Cryptophasa sarcocoxantha*، كما بينت شجرة التماثل الجزيئي تشابه عزلة المملكة العربية السعودية مع العزلات الأخرى. وتعتبر هذه النتائج على حفارة الطماطم *Tuta absoluta* الأولى من نوعها في المملكة العربية السعودية.

كلمات مفتاحية: حفارة الطماطم/البندورة، *Tuta absoluta*، حرشفية الأجنحة، المملكة العربية السعودية، mtCOI

المقدمة

جسيماً لمحصول الطماطم/البندورة في تلك المناطق. وقد اكتشفت هذه الحشرة في ليبيا وتونس والجزائر والمغرب كذلك في تركيا والأرض المحتلة وسورية عام 2008 (6، 13، 14، 15، 28). كما أنها وجدت أيضاً في العام نفسه في أربع مناطق بإيطاليا هي كالابريا، كامبانيا وساردينيا وصقلية. وفي عام 2009 سُجلت لأول مرة في مناطق كورسيكا ومقاطعة ألب كوت دازور بفرنسا (20). كما وجدت في جمهورية مصر العربية والمملكة الأردنية الهاشمية وشمال العراق (www.tutaabsoluta.com). وتعتبر الطماطم/البندورة (*Lycopersicon esculentum*) العائل المفضل ليرقات هذه الحشرة التي تتغذى أيضاً على عوائل أخرى مثل أوراق البطاطس/البطاطا (*Solanum tuberosum*) وليس على الدرنات وعلى أوراق نباتات أخرى من العائلة الباذنجانية بما في ذلك الباذنجان ولا تتغذى على ثمارها، وتتغذى على أوراق نبات الفلفل ونبات الداتورة ونبات التبغ (2)، (9، 10، 13).

تعتبر حفارة الطماطم/البندورة (*Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelchiidae) آفة خطيرة على الطماطم/البندورة في الوقت الحاضر في جميع دول العالم المختلفة حيث تقوم بعمل أنفاق في أوراق الطماطم وتقوياً في الثمار (شكل 1). وتعتبر أمريكا الوسطى الموطن الأصلي للحشرة ثم انتقلت وانتشرت في أمريكا الجنوبية وسُجلت في كل من بوليفيا، البرازيل، تشيلي، كولومبيا، الإكوادور، باراغواي، اوروغواي وفنزويلا (5، 11، 16، 22، 23، 24). وقد وُجدت هذه الحشرة على ارتفاع أقل من 1000 متر عن سطح البحر في بعض المناطق. وفي عام 2004 أُضيفت إلى قائمة الحشرات الخطيرة لمنظمة وقاية النبات الأوروبية (5). ومُنذ اكتشافها في إسبانيا عام 2006، وجدت في عدة مقاطعات هي كاستيلون، وبلنسية وجزيرة ايبيزا (27). ثم بدأت بالانتشار إلى جنوب أوروبا حيث تحدث ضرراً

بيض الحشرة أسطواني الشكل وعادة ما يوضع البيض على السطح السفلي للأوراق، أما اليرقة فلونها أبيض أو كريمي ويمكن التعرف على نوع هذه الحشرة من خلال الأنفاق التي تصنعها في الأوراق بينما لا يمكن التعرف عليها من خلال الأنفاق في الثمار (www.tutaabsoluta.com). أما الحشرة الكاملة فهي فراشة صغيرة بطول حوالي 7 مم. تسبب تغذية اليرقات ضرراً كبيراً لأوراق وسوق الطماطم وأيضاً تتغذى هذه اليرقات على البراعم والنمو الحديثة مما يؤثر في نمو النبات وإنتاجه وأن لم تكن الثمار مصابة. قد تصل الخسائر لمحصول الطماطم إلى 100% بينما في المناطق التي تطبق برامج مكافحة لا تصل الخسائر فيها إلى أكثر من 5% (4، 8). وصلت هذه الحشرة إلى شمال المملكة العربية السعودية، تبوك وحائل في عام 2010، في حين وصلت محافظة الأحساء بالمنطقة الشرقية بالمملكة العربية السعودية في عام 2011 (www.tutaabsoluta.com). وفي عام 2009 زرعت الطماطم في المملكة بمساحة 15127 هكتار بإنتاجية 542589 طن (1). ونظراً لخطورة هذه الآفة على نباتات الطماطم وجب معرفة المزيد من المعلومات عنها حيث التعرف على علاقتها جينياً بالحشرات الأخرى مما قد يساعد على إيجاد حلول سريعة لإدارة مكافحتها. لذا هدفت هذه الدراسة إلى مقارنة هذه الحشرة بالحشرات الأخرى عن طريق التعرف على الجين cytochrome oxidase I (COI) الموجود في دي ان اي للميتوكوندريه (mitochondrial DNA (mtDNA) باستخدام التقنية الحيوية الجزيئية (21). وقد أصبح استخدام جين (COI) واسع في السنوات الأخيرة وخصوصاً في التصنيف وتتبع التطور الحيوي والسبب في ذلك قصر جين (COI) بما فيه الكفاية وهذا يوفر تفاوتاً كبيراً بين أنواع الحشرات وكما أن الفرق صغير نسبياً داخل النوع (18). كما أن التعرف على الحشرة وتطابقها مع الحشرات العالمية يساعد على تطبيق إستراتيجية عالمية موحدة في إدارة متكاملة لمكافحتها.



شكل 1. أعراض الإصابة توضح الطور اليرقي لحشرة حفارة الطماطم/البندورة *T. absoluta* على ورقة طماطم/بندورة.
Figure 1. Tomato leaf symptoms produced by the larval stage of *T. absoluta*.

مواد البحث وطرقه

تم تنفيذ التجارب في وحدة أمراض النبات الجزيئي بكلية العلوم الزراعية والأغذية، جامعة الملك فيصل، المملكة العربية السعودية. وقد تم الحصول على حفارة الطماطم/البندورة من حقول الطماطم/البندورة بمحافظة الأحساء بواسطة المصائد الفورمونية. حيث تم وضع مصائد فورمونية في أكثر من حقل طماطم خلال الفترة نيسان/أبريل-أيار/مايو عام 2011.

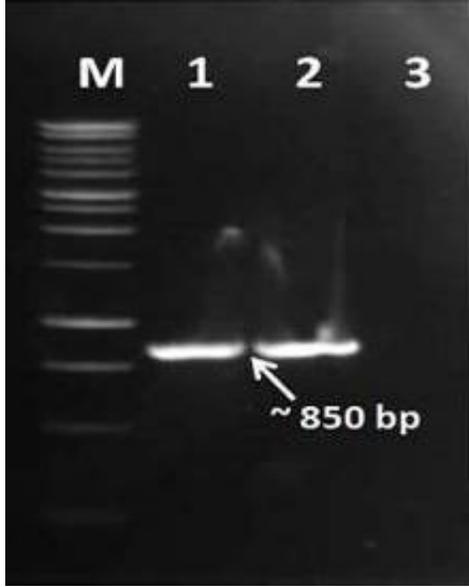
استخلاص الحمض النووي المجيني

أستخدمت طريقة دليبيورتا المعدلة (3، 6، 9، 19) لاستخلاص DNA من الحشرة حيث تم طحن حشرة مفردة في 1 مل من محلول الاستخلاص (50 مل مول EDTA، 100 مل مول Tris-HCl، 500 مل مول كلوريد الصوديوم، 10 مل مول بيتا مركبتو ايثانول) والتحصين عند 65°س لمدة 10 دقائق مع إضافة 1/5 الحجم اسيتات البوتاسيوم (5 مولر ودرجة حموضة 8) ثم أجريت عملية الطرد المركزي على 10000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق. أخذ الراشح وأضيف له حجم مساوي من الفينول-كلوروفورم-ايزواميل (1-24-25) وحُضِن لمدة 10 دقائق بالتلج ثم أُجريت عملية الطرد المركزي 10000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق. تم نقل الطبقة العليا وأضيف حجم مساوٍ من الايزوبروبانول وأجريت عملية الطرد المركزي 10000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق لترسيب DNA وأجريت عملية الغسيل مرتين بالايثانول مع إجراء عملية الطرد المركزي ثم أُذيب راسب DNA في ماء مقطر معقم.

تفاعل البوليمراز المتسلسل (PCR) على عينات الحمض النووي المجيني (DNA)

تم استخدام زوج من البادئات MtCOI-F والباديء (5'TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT'3) و MtCO2-R (5'TCCAATCGACTAATCTGCCATATTA'3) (21) أخذ 5 بيكومول من كل بادئة، 0.2 مل مولر من كل من النيكلوتيدات الأربعة (dNTPs)، 0.5 وحدة من أنزيم البوليمراز (*Taq polymerase*) و 20 نانوغرام من الـ DNA المستخلص. وقد بلغ الحجم النهائي لمزيج التفاعل لكل عينة 25 ميكروليتر بعد إضافة المحلول المنظم (1X PCR buffer). تم إجراء التفاعل بواسطة جهاز PCR (ESCO Swift Maxi). وأستخدم البرنامج التالي: تحضين أولي (Initial incubation) لمدة 5 دقائق عند درجة حرارة 95°س، تبع ذلك 35 دورة (فصل سلسلتي (DNA denaturation) لمدة

مقتر مع مواد اختبار الـ PCR وذلك لإثبات أن اختبار الـ PCR يستهدف فقط جين (mtDNA).



شكل 2. صورة هلامية الأغاروز لـ DNA بعد عملية التفاعل المتسلسل للبوليميراز للبادئين MtCO1-F و MtCO2-R للكشف على جين (mtCOI) في حفارة الطماطم/البندورة *T. absoluta* من محافظة الاحساء (Has-SA). M = سلم جزئي قياس 1000 زوج قاعدي. 1-2 لعينات الحشرات المختبرة في حين لا توجد أي حزمه في الشاهد 3.

Figure 2. Agarose gel DNA after PCR using MtCO1-F and MtCO2-R primers to detect mtCOI gene in *T. absoluta* collected from Al Ahsa (Has-SA). M = marker 1000 bp. 1 and 2 bands for the samples tested, and 3 is the negative control.

تحليل ومعرفة شفرة الحمض النووي

أستخدمت QIAquick Gel Extraction kit لعزل حزمة DNA من الاغاروز الهلامي وتم التعامل معها وإرسالها الى الشركة المتخصصة في فك الشفرات الوراثية لجين COI. وبعد الحصول على نتيجة الشفرة تم تسجيلها في بنك الجينات (NCBI GenBank) برقم JN255972 (شكل 3). وذلك باستخدام عدة برامج متخصصة في تحليل ومقارنة تلك الشفرة مع الشفرات التي تم الحصول عليها من بنك الجينات (جدول 1). وتمت مقارنة التسلسل النكليوتيدي لعزلة المملكة العربية السعودية (Has-SA) مع العزلات بالجدول 1 من بنك الجينات حيث كانت نسبة التشابه 99% مع العزلة اليونانية (HQ873053) التي كانت الأقرب (شكل 4). كذلك تم مقارنتها مع حشرة *Gnorimoschema gallaesolidaginis* حيث وُجدت نسبة التشابه 91% و 89% مع حشرة *Cryptophasa sarcoxantha* (شكل 4).

30 ثانية عند درجة حرارة 94°س، التحام البادئة على إحدى السلسلتين (Annealing) لمدة 45 ثانية عند درجة حرارة 52°س، الاستطالة (Extension) لمدة دقيقة واحدة عند درجة حرارة 72°س، وكانت آخر خطوة مرحلة التحضين النهائي (Final incubation) لمدة 5 دقائق عند درجة حرارة 72°س.

تم فصل نواتج الـ PCR باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي الاقفي (Electrophoresis) بتمرير 5 ميكروليتر من ناتج الـ PCR ومحلل منظم التحميل (Loading buffer) في هلامية من الأغاروز ذات تركيز 1% المخلوطة مع بروميد الإثيديوم (Ethidium Bromide) وذلك بقوة 95 فولت ولمدة 40 دقيقة. ومن ثم تم عرضها في جهاز توثيق الهلام (Gel documentation) للأشعة فوق البنفسجية (UV) لمشاهدة وأظهار حزم الـ DNA.

تحليل ومعرفة شيفرة الحمض النووي Sequencing

تم تنقية حزمة الـ DNA من الأغاروز الهلامي بواسطة QIAquick Gel Extraction kit من شركة QIAGEN كما تم تحليل الجزيء DNA من الجهتين باستخدام البادئات الخاصة وذلك باستخدام BigDye® sequencing kit. ولفك الشفرات الوراثية لـ DNA تم إرسالها الى مركز تحليل الشفرات الوراثية بشركة MacroGen بكوريا الجنوبية.

بعد الحصول على الشفرات الوراثية للعينات، تم مقارنتها مع الشفرات الوراثية الأخرى الموجودة في بنك الجينات (NCBI GenBank) باستخدام البرامج الخاصة مثل MEGA و GeneDoc5. وذلك لتوضيح علاقة الشفرات الوراثية بين الحشرات من المملكة العربية السعودية والحشرات الأخرى العالمية.

النتائج

استخلاص الحمض النووي

بعد استخلاص الحمض النووي DNA بطريقة دليورتا المعدلة على الحشرة كان تركيز الـ DNA (460 نانوغرام/مليغرام).

تفاعل PCR على عينات DNA

تم استخدام البادئات MtCO1-F و MtCO2-R في الـ PCR حيث لوحظ من صورة الهلام (شكل 2) أن حجم الحزم (fragments) كان 850 زوج قاعدي لعينات الحشرات المختبرة (العينات 1 و 2)، في حين لا توجد أي حزمه في الشاهد (العينة 3) التي هي عبارة عن ماء

المناقشة

إن الانتشار السريع لحافرة الطماطم/البندورة جغرافياً والخسارة الكبيرة التي تسببها على محصول الطماطم جعل منها آفة خطيرة في العديد من البلدان. ففي منطقة مورسيا بإسبانيا التي تعتبر من أكبر وأهم المناطق لإنتاج الطماطم بإسبانيا فقد فقدت هذه المنطقة إنتاجها من زراعة الطماطم مما حدا بالمزارعين إلى التخلي عن زراعة بعض أصناف الطماطم بسبب هذه الآفة (10). والحال نفسه في المملكة العربية السعودية منذ اكتشافها في عام 2010 أصبحت تهدد زراعة الطماطم/البندورة بالمملكة. لذا فإن معرفة التباين الجيني بين أنماط الحشرة من النوع نفسه الموجودة في مناطق جغرافية متعددة تعتبر مفيدة لدراسة الفروقات البيولوجية بينها (20). أن وفرة المعلومات عن الحمض النووي للميتوكوندريه خصوصاً لجين (COI) مفيد للتمييز بين الأنواع وثيقة الصلة (21، 29). فقد وجد Cifuentes وآخرون (2) بتحليل جين COI للعديد من عينات حافرة الطماطم/البندورة من مختلف أنحاء العالم أن هناك تشابهاً وتطابقاً كبيراً جينياً بين تلك العينات (2).

```
TATATTTTAATTTTACCAGGATTTGGTATAAATTTCT
CATATTATTTTACAAGAAAGAGGAAAAAAGGAAA
CTTTTGGTTCTTTAGGAATAATTTATGCTATAATAG
CAATTGGATTATTAGGATTTGTTGTTTGGAGTCATC
ATATATTCCAGTAGGAATAGATATTGATACTCGAG
CTTATTTTACTTCCGCAACTATATTATTGCCGTTCC
CACAGGTATTAATAATTTTATGTTGATTAGCTACTCT
TCATGGAACACAAATTAATTATAGTCCTTCTATTTT
ATGAAGTTTAGGATTTGTTTTTCTTTTACAGTTGG
AGGTCTTACAGGAGTAATTTTATGCTAATTTCTTCAA
TTGATGTAGCCCTACATGATACTTATTATGTAGTA
GCTCATTTCATTATGTATTATCTATAGGAGCTGTA
TTTGCTATTCTAGGGGGATTTATTTCATTGATACCT
CTTTTATAGGATTATCATTAAATTTCTTATTTATTA
AAAATTCATTTTACTATATTTATTGGAGTAAAT
CTTACTTTCTCCCTCAACATTTTATGAGTATAGCT
GGAATACCTCGTCGTTATTTCAGATTATCCTGATGCT
TACATCTCATGAAATATAATTTTCATCTTTAGGATCT
TATATTTCTTTATTAGCAGTAATTTATATTAATT
ATTATTTGAGAATCAATAATTAACCAACGAATTGT
TTTATTTCCCTAAATATATCTTCTTCTATTGAATG
ATATCAATTAACCCCTCCAAGAGAACATTCATATA
ATGAACTTCTATTTTAAGAAAT TTCTAA
```

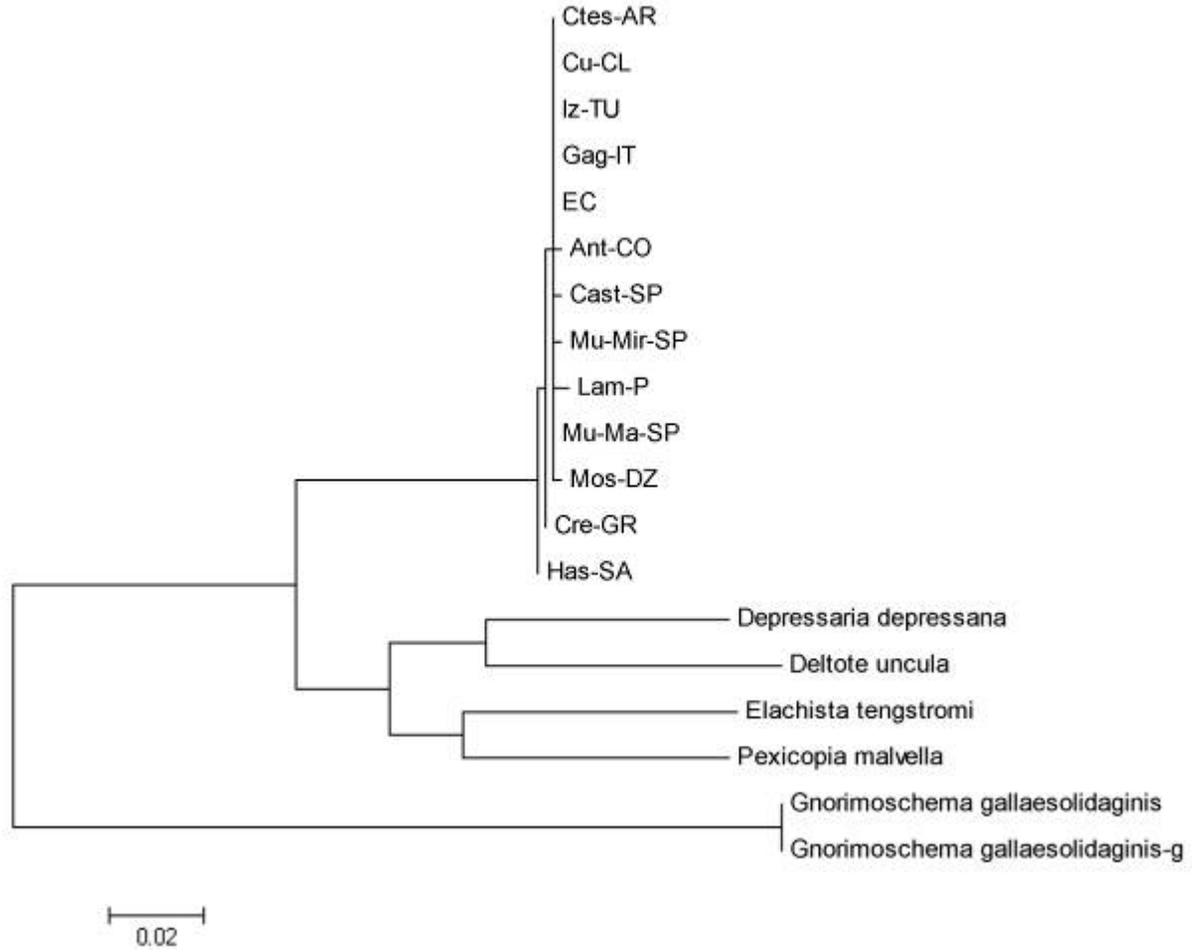
شكل 3. جزء من تسلسل النوكليوتيدات من السيتوكروم أوكسيداز I (COI) من حفارة الطماطم/البندورة *T. absoluta*. (رقم بنك الجينات (AccessionNo.JN255972).

Figure 3. Part of the nucleotide sequence of cytochrome c oxidase 1 (COI) of *Tuta absoluta* (GenBank AccessionNo.JN255972).

جدول 1. الشفرات الوراثية لجين (COI) cytochrome oxidase I التي تم الحصول عليها من بنك الجينات (NCBI GenBank) لمقارنتها مع عزلة المملكة العربية السعودية (Has-SA).

Table 1. Gene Bank Accession No for gene cytochrome oxidase I (COI) obtained from NCBI GenBank to compare with that obtained from Saudi Arabia (Has-SA).

%	العائل النباتي Host Plant	Country	البلد	رقم بنك الجينات Gene Bank Acc. No.	الرمز Code
97	Tomato	Italy	إيطاليا	HQ873050	Gag-IT
97	Tomato	Turkey	تركيا	HQ873051	Iz-TU
99	Wild Plants	Greece	اليونان	HQ873053	Cre-GR
98	Tomato	Algeria	الجزائر	HQ873055	Mos-DZ
97	Tomato	Argentina	أرجنتين	HQ873057	Ctes-AR
97	Tomato	Colombia	كولومبيا	HQ873061	Ant-CO
97	Tomato	Chile	تشيلي	HQ873062	Cu-CL
97	Tomato	Peru	بيرو	HQ873063	Lam-P
97	Tomato	Ecuador	إكوادور	HQ873065	EC
97	Tomato	Spain	إسبانيا	HQ873066	Mu-Ma-Sp
97	Potato	Spain	إسبانيا	HQ873068	Mu-Mir-SP
97	Tomato	Spain	إسبانيا	HQ873069	Cast-SP
100	Tomato	Saudi Arabia	السعودية	JN255972	Has-SA



شكل 4. شجرة القرابة الجزيئية بين حفارة الطماطم *T. absoluta* من السعودية مقارنة بعزلات من بلدان اخرى وكذلك مقارنة مع غيرها من الحشرات. مقياس 0.02 المبين أعلاه يشير إلى تغيير نيوكليوتيده واحدة لكل 100 نيوكليوتيده.

Figure 4. Phylogenetic relationships among the *Tuta Absluta* from Saudi Arabia and other countries in addition to other insects obtained from GenBank. The 0.02 bar represent one nucleotide change per 100 nucleotides.

وأكدت هذه الدراسة بأن عزلة المملكة العربية السعودية (Has-SA) متطابقة إلى حد بعيد مع هذه العزلات، حيث وجد أنها متطابقة بنسبة 99% مع العزلة اليونانية. هذه النتائج متقاربة مع ما وجدته Flores وآخرون (8) الذين قارنوا بين أربعة مجاميع من الحشرة في الأرجنتين من مناطق مختلفة سواء كانت جافة أو شبة استوائية ولم يلاحظوا أي فروق جينية بينها وهذا يدل على تكيف وتأقلم الحشرة لمختلف الظروف البيئية. إن التجانس العالي في جينات حفارة الطماطم/البندورة ليس أمراً غريباً، فقد لوحظت نتائج مماثلة في مفصليات الأرجل الأخرى مثل *Ochlerotatus caspius*،

وأكملت هذه الدراسة بأن عزلة المملكة العربية السعودية (Has-SA) متطابقة إلى حد بعيد مع هذه العزلات، حيث وجد أنها متطابقة بنسبة 99% مع العزلة اليونانية. هذه النتائج متقاربة مع ما وجدته Flores وآخرون (8) الذين قارنوا بين أربعة مجاميع من الحشرة في الأرجنتين من مناطق مختلفة سواء كانت جافة أو شبة استوائية ولم يلاحظوا أي فروق جينية بينها وهذا يدل على تكيف وتأقلم الحشرة لمختلف الظروف البيئية. إن التجانس العالي في جينات حفارة الطماطم/البندورة ليس أمراً غريباً، فقد لوحظت نتائج مماثلة في مفصليات الأرجل الأخرى مثل *Ochlerotatus caspius*،

Abstract

Hudaib, K. 2013. Genomic study of tomato borer (*Tuta absoluta* Meyrick), a newly invasive pest in Saudi Arabia. Arab Journal of Plant Protection, 31(1): 76-82.

The newly detected invasive tomato borer, *Tuta absoluta*, is a threat to tomato production in Saudi Arabia. It was detected in Spain in 2006 then spread to Europe and the Mediterranean region. More recently, it spread to Tabuk and Hail, in the north of Saudi Arabia in 2010, and to Alhasa, in the eastern region in 2011. In its new habitat in Saudi Arabia, the insect had 12 generations per year. Genomic DNA was extracted from Alhasa population. PCR was used to amplify the mtDNA gene using cytochrome oxidase I (COI) primers. PCR products were purified and sequenced, and the sequence obtained was deposited in GenBank (JN255972). The COI sequence of *Tuta absoluta*-Alhasa was compared with other isolates and showed to have 99% homology with a Greek population (HQ873053), and 91% homology with *Gnorimoschema gallaesolidaginis* and 89% homology with *Cryptophasa sarcoxantha*. Phylogenetic tree based on COI sequence showed that all populations of *T. absoluta*, including the one from Saudi Arabia, clustered together in a single group.

Keywords: Tomato borer, *Tuta absoluta*, Lepidoptera, Saudi Arabia, mtCOI

Corresponding author: Khaled Ben Abdalah Hudaib, Faculty of Agriculture, King Faysal University, El-Ehsa, Kingdom of Saudi Arabia, Email: kalhudaib@kfu.edu.sa

References

المراجع

1. **Anonymous.** 2010. 23th Statistic Book. Ministry of Agricultural, Saudi Arabia. On-line [http://www.moa.gov.sa/public/portal] 6/6/2011.
2. **Cifuentes, D., C. Robert and B. Pablo.** 2011. Genetic study of Mediterranean and South American populations of tomato leafminer *Tuta absoluta* (Povolny, 1994) (Lepidoptera: Gelechiidae) using ribosomal and mitochondrial markers. Pest Manag Sci. (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/ps.2166
3. **Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hicks.** A plant DNA mini-preparation: version II. Plant Mol. Biol. Rep. 1983, 1:19-21.
4. **Estay, P.** 2000. Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). Informativo La Platina 9:1-4.
5. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).** 2005. *Tuta absoluta*. Data sheets on quarantine pests. OEPP/EPPO Bull 35:434-435.
6. **FERA,** The Food and Environment Research Agency, South American tomato moth *Tuta absoluta*. 2009. Plant Pest Factsheet, 4 pp. Available: http://www.fera.defra.gov.uk/showNews.cfm?id=402 [15 August 2011].
7. **Figuroa, C.C., J.C. Simon, J.F. Le Gallic, N. Prunier-Leterme, L.M. Briones, C.A. Dedryver.** 2005. Genetic structure and clonal diversity of an introduced pest in Chile, the cereal aphid *Sitobionavenae*. Heredity 95:24-33.
8. **Flores, L.V., E. Gilardon and C.N. Gardenal.** 2003. Genetic structure of populations of *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). J Basic Appl Genet. 15:29-32.
9. **Galarza, J.** 1984. Laboratory assessment of some solanaceous plants as possible food plants of the tomato moth *Scrobipalpus absoluta*. IDIA 421/424:30-32.
10. **García Marí, F. and R. Vercher.** 2010. Descripción, origen y expansión de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Phytoma-Espana 217:16-20.
11. **Leite, G.L.D., M. Picanco, J.C. Zanuncio, G.N. Jham and M.F. Moura.** 1999. Efecto de los niveles de fertilización en la intensidad de ataque de *Tuta absoluta* en *Lycopersicon hirsutum* y *L. esculentum*. Manejo Integrado de Plagas 53:72-76.
12. **Ma, D., K. Gorman, G. Devine, W. Luo and I. Denholm.** 2007. The biotype and insecticide-resistance status of whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomous Region, northwestern China. Crop Protection, 26: 612-617.
13. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).** 2009. EPPO Reporting Service N° 8. Available: http://archives.eppo.org/EPPOReporting/2009/Rse-0908.pdf [12 August 2011].
14. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).** 2008. EPPO Reporting Service N° 7. Available: http://archives.eppo.org/EPPOReporting/2008/Rse-0807.pdf [12 August 2011].
15. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).** 2010. EPPO Reporting Service N° 11. Available: http://archives.eppo.org/EPPOReporting/2010/Rse-1011.pdf [12 August 2011].
16. **Pereyra, P.C. and N.E. Sanchez.** 2006. Effect of two solanaceous plants on developmental and population parameters of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotropical Entomol., 35: 671-676.
17. **Porretta, D., D. Canestrelli, R. Bellini, G. Celli and S. Urbanelli.** 2007. Improving insect pest management through population genetic data: a case study of the mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas). J Appl Ecol. 44:682-691.
18. **Renaud, L., M. van der Bank, D. Bogarin, J. Warner, F. Pupulin, G. Gigot, O. Maurin, S. Duthoit, T.G. Barraclough and V. Savolainen.** 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. Proc Natl Acad Sci USA 105: 2923-2928.
19. **Rezk, A.A., M.K. Nakhla, F.M. Abo El-Abbas, M.H. El-Hammady, H.M. Mazyad and D.P. Maxwell.** 2002. Molecular methods for detection of

- banana bunchy top virus (BBTV) from banana tissues and viruliferous banana aphid. APS annual meeting. July 2002, Wisconsin, USA.
20. **Sakai, A.K., F.W. Allendorf, J.S. Holt, D.M. Lodge, J. Molofsky and K.A. With.** 2001. The population biology of invasive species. *An Rev Ecol Syst.* 32:305–332.
 21. **Simon, C., F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu and P. Flook.** 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann Entomol Soc Am.* 87:651–701.
 22. **Suinaga, F.A., V.W. Dias Casali, M. Picanco and J. Foster.** 2004. Genetic divergence among tomato leafminer populations based on AFLP analysis. *Pesq. Agropec. Bras., Brasília,* 39: 645–651.
 23. **Suinaga, F.A., M.C. Picanco, G.N. Jham and S.H. Brommonschenkel.** 1999. Causas químicas de resistencia de *Lycopersicum peruvianum* (L.) a *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *An Soc Entomol Bras,* 28: 313–321.
 24. **Torres, J.B., C.A. Faria, W.S. Evangelista and D. Pratissoli.** 2001. Within plant distribution of the leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) immature in processing tomatoes, with notes on plant phenology. *Int J Pest Manag.* 47:173–178.
 25. **Tsutsui, N.D. and T.J. Case.** 2001. Population genetics and colony structure of the Argentine ant (*Linepithema humile*) in its native and introduced ranges. *Evolution* 55:976–985.
 26. **Tsutsui, N.D., A.V. Suarez, D.A. Holway and T.J. Case.** 2000. Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proc Natl Acad Sci.* 97:5948–5953.
 27. **Urbaneja, A., R. Vercher, V. Navarro, F. García Marí and J.L. Porcuna.** 2007. La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma-Espana* 194:16–23.
 28. **USDA-APHIS.** United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Federal Import Quarantine Order for Host Materials of Tomato Leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick). 6 pp. (2010). Available: http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/plant_imports/federal_order/downloads/2010/Tuta_absoluta4-28-10.pdf [9 September 2011].
 29. **Walsh, P.S., D.A. Metzger and R. Higuchi.** 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques.* 10:506–512.

Received: October 13, 2011; Accepted: April 11, 2012

تاريخ الاستلام: 2011/10/13؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2012/4/11