

# Isolement et identification de bactéries entomopathogènes à partir de *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 dans l'Ouest algérien

Farida Saiah\*, Boubekeur Seddik Bendahmane, Mokhtar Youcef Benkada, Abdallah Berkani & Abdelhamid Gacemi

Université de Mostaganem, BP 300, 27000, ALGERIE. Tél.: +213 55 13 06 645. \*E-mail : [saiahfarida@yahoo.fr](mailto:saiahfarida@yahoo.fr)

*Phyllocnistis citrella* Stainton est responsable de dégâts spectaculaires sur les jeunes pousses (en pépinière ou au champ) des agrumes en Algérie. Elle induit donc indirectement un retard sur la mise à fruit et par conséquent sur la production et la rentabilité de la culture. Le mode de vie endophyte de la larve de l'insecte a compliqué la lutte chimique, de ce fait l'utilisation d'autres alternatives de lutte devient indispensable. L'efficacité des bactéries entomopathogènes vis-à-vis de *P. citrella* a été démontrée par Shapiro *et al.* (1998), Khyami et Ateyyat (2002) et Dias *et al.* (2005). Notre étude consiste à isoler et identifier des souches bactériennes naturellement présentes sur l'insecte dans les vergers agrumicoles de l'ouest Algérien. L'isolement effectué à partir des nymphes de *Phyllocnistis citrella* n'ayant pas achevé leur cycle biologique, a mis en évidence l'existence de cinq souches bactériennes différentes. Leur identification par le système API montre que le genre *Bacillus* est le plus fréquemment rencontré, il s'agit d'*Aneurinbacillus aneurinolyticus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Brevibacillus agri* (*Bacillus agri*) et *Bacillus lentus*. Le test de pathogénicité avec les bactéries isolées a démontré une mortalité importante de larves de *P. citrella*, *Aneurinbacillus aneurinolyticus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus mycoides* ont causé respectivement 70 %, 75 % et 80 % de mortalité. En revanche *Brevibacillus agri* et *Bacillus lentus* n'en ont provoqué que 30 à 50 %.

**Mots-clés:** *Phyllocnistis citrella*, *Citrus* sp., isolement bactéries, *Bacillus* sp., taux de mortalité.

*Phyllocnistis citrella* Stainton is responsible for spectacular damage on young shoots (in the nursery or field) of citrus in Algeria. It indirectly induces a delay on fruit set and consequently on the production and profitability of the crop. Endophytic lifestyle of the larva of the insect has complicated chemical control, thus the use of other alternative control becomes essential. The efficacy of entomopathogenic bacteria vis-à-vis *P. citrella* has been demonstrated by Shapiro *et al.* (1998), Khyami and Ateyyat (2002) and Dias *et al.* (2005). Our study aims at isolating and identifying bacterial strains naturally present on the insect in citrus orchards in western Algeria. Isolation made from nymphs *Phyllocnistis citrella* that did not complete their life cycle revealed the existence of five different bacterial strains. Their identification by the API system showed that the genus *Bacillus* is the most frequently encountered; mainly *Aneurinbacillus aneurinolyticus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Brevibacillus agri* (*Bacillus agri*) and *Bacillus lentus*. The pathogenicity test with the bacteria isolated showed high mortality of larvae of *P. citrella*, *Aneurinbacillus aneurinolyticus*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus mycoides* caused respectively 70 %, 75 % and 80 % of mortality. However *Brevibacillus agri* and *Bacillus lentus* caused only 30-50 % mortality.

**Keywords:** *Phyllocnistis citrella*, *Citrus* sp., bacteria isolation, *Bacillus* sp., mortality rates.

## 1. INTRODUCTION

La mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* STAINTON est un micro lépidoptères très fréquent dans les vergers agrumicoles algériens, provoquant des dégâts spectaculaires sur les jeunes pousses. Son mode de vie larvaire strictement endophyte rend la lutte chimique difficile; de ce fait l'utilisation d'autres alternatives de lutte s'avère nécessaire. Notre étude consiste à isoler et identifier des souches bactériennes naturellement présentes sur l'insecte dans les vergers agrumicoles de l'ouest Algérien.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Isolement des bactéries

Les nymphes de la saison précédente n'ayant pas émergé, sont désinfectées avec de l'alcool éthylique (70 %), puis mises dans un tube contenant 1 ml de solution saline; après 2h d'incubation à 37°C, l'inoculum est ensemencé sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive.

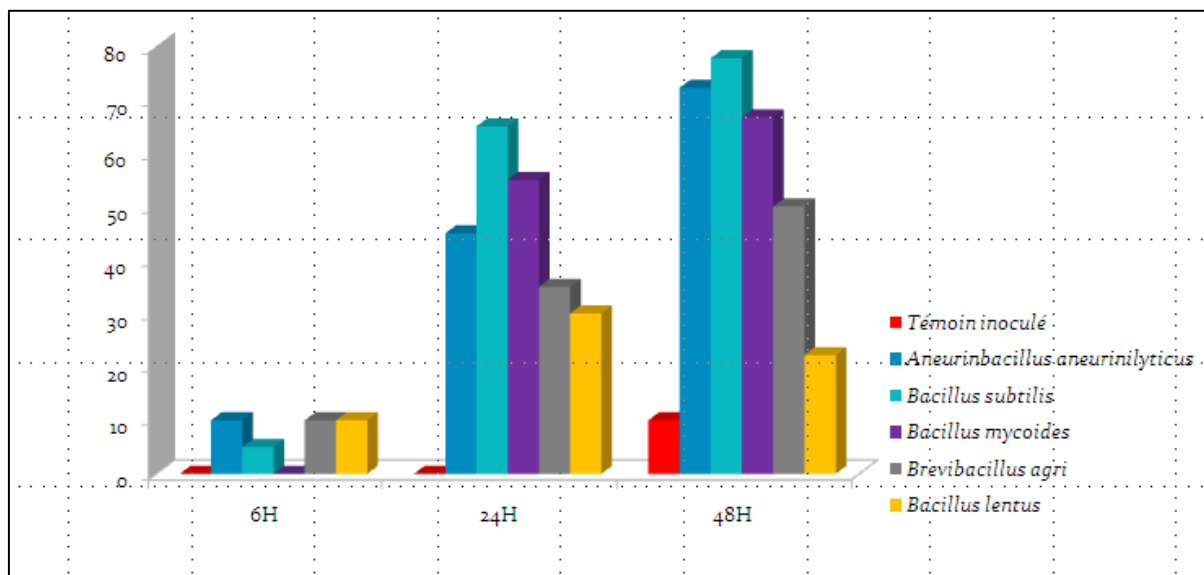


Figure 1: Mortalité corrigée des larves de *P. citrella* inoculées par les solutions bactériennes



Figure 2: Larves de *P. citrella* traitées par *Bacillus mycoides*

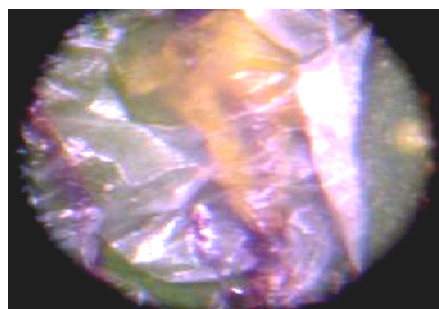


Figure 3: Larves de *P. citrella* traitées par *Bacillus subtilis*

## 2.2. Test de pathogénicité

L'inoculum de  $10^5$  UFC a été inoculé par injection dans la mine des larves (2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> stade), juste au dessus de la tête de ces dernières. Les feuilles d'agrumes contenant les insectes préalablement traitées sont mises dans des boites de pétri contenant du coton humidifié. 20 larves par traitement sont retenues y compris pour le témoin.

## 3. RESULTATS

### 3.1. Identification des souches isolées à partir des larves et nymphes de *P. citrella*

Les résultats de l'étude des aspects macroscopique microscopique et biochimique ont permis de mettre en évidence 5 souches appartenant à 5 espèces différentes du genre *Bacillus* à savoir *Aneurinbacillus aneurinilyticus*, *Bacillus subtilis*,

*Bacillus mycoides*, *Brevibacillus agri* (*Bacillus agri*) et *Bacillus lentus*.

### 3.2. Test de pathogénicité

Les résultats obtenus, montrent l'effet significatif ( $P \leq 0,05$ ) des traitements sur la mortalité des larves de *P. citrella* comparativement au témoin, en effet 24h après traitement nous avons remarqué des mortalités importantes et constaté que c'est *Bacillus subtilis* qui a présenté la plus forte toxicité avec 80 % de mortalité, suivi par *Aneurinbacillus aneurinilyticus* avec 75 % et *Bacillus mycoides* avec 70 % (Figure 1). La mortalité enregistrée pour *Brevibacillus agri* et *Bacillus lentus* est nettement moins importante avec respectivement 55 % et 30 %. Nous avons par ailleurs remarqué que les larves mortes, suite aux infections, présentent des tâches pathologiques de couleur noire (Figures 2 et 3).

#### 4. DISCUSSION

Le présent travail, à l'instar d'autres études, telles que celles de Shapiro *et al.* (1998), Amiri Besheli (2007), Dias *et al.* (2005), Meca *et al.* (2009), Khyami et Ateyyat (2002), a démontré que le traitement à base de bactéries entomopathogènes donnait des résultats fort intéressants dans la lutte contre la mineuse des feuilles d'agrumes *P. citrella*.

#### 5. CONCLUSION

Cette modeste étude nous a permis de mettre en évidence les bactéries qui étaient naturellement présentes sur les insectes et présentaient un pouvoir pathogène marquant sur les larves de ces derniers. Il est clair que suite à son introduction accidentelle en Algérie en 1994 et les niveaux d'infestation qu'elle a atteint (Berkani, 1995), la mineuse des agrumes a été ciblée par un complexe parasite autochtone et ces bactéries en font probablement partie. De ce fait, l'alternative du recours aux insecticides par des souches bactériennes natives est envisageable dans un proche avenir.

#### Bibliographie

- Amiri Besheli B. (2007). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* and mineral oil against *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *International Journal of Agriculture & Biology* **9**, p. 893-896.
- Berkani A. (1995). Apparition en Algérie de *Phyllonistis citrella* Stainton; chenille mineuse nuisible aux agrumes. *Fruit* **50**(5), p. 347-352.
- Dias C., Carsia P., Simoes N. & Oliveira L. (2005). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* against *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistidae). *Journal of Economic Entomology* **98**, p. 1880-1883.
- Khyami H. & Ateyyat M. (2002). Efficacy of Jordanian isolates of *Bacillus thuringiensis* against the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. *International Journal of Pest Management* **48**, p. 297-300.
- Meca A., Sepúlveda B., Ogoña J. C., Grados N., Moret A., Morgan M. & Tume P. (2009). In vitro pathogenicity of northern Peru native bacteria on *Phyllocnistis citrella* Stainton (Gracillariidae: Phyllocnistinae), on predator insects (*Hippodamia convergens* and *Chrisoperma externa*), on *Citrus aurantifolia* Swingle and white rats. *Spanish Journal of Agricultural Research* **7**(1), p. 137-145.
- Shapiro J.P., Schroeder W.J. & Stansly P.A. (1998). Bioassay and efficacy of *Bacillus thuringiensis* and anorganosilicone surfactant against the citrus leafminer (Lepidoptera: Phyllocnistidae). *The Florida Entomologist* **81**, p. 201-210.

(6 réf.).