

Les entomopathogènes autochtones, nouvel espoir dans le contrôle biologique de *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) en Algérie

Badaoui Mahdjouba Ikram*, Berkani Abdallah & Lotmani Brahim

Laboratoire de Protection des Végétaux, Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, BP 300, Mostaganem, Algérie 27000.

* Auteur pour correspondance: Tél.: +213 772 699 413 - E-mail: nadjikram@yahoo.fr.

La mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) est un important ravageur des cultures de tomate en Algérie. La sensibilité des larves à *Beauveria* sp. a été examinée dans des conditions de laboratoire. Trois doses ont été utilisées: D1=4,75 x 10⁷ spores/ml, D2= 4,75 x 10⁶ spores/ml et D3=4,75 x 10⁵ spores/ml. Les témoins ont été traités à l'eau distillée. A forte dose tous les individus traités sont morts (100 %) au troisième jour, tandis qu'à faible dose le taux de mortalité a atteint 87 % au quatrième jour. Pour le témoin plus de 80 % des larves ont évolué au stade chrysalide, conséquence d'une faible mortalité. Les résultats obtenus sont conformes à ceux observés par d'autres chercheurs et mettent en évidence l'efficacité de cette souche autochtone dans les conditions de laboratoire.

Mots-clés: insectes, isolement des champignons, *Beauveria* sp., larves, *T. absoluta*, contrôle biologique.

The tomato leafminer, *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) is an important pest of tomato in Algeria. The susceptibility of *T. absoluta* larvae to the entomopathogenic fungi *Beauveria* sp. was examined under laboratory conditions. Three doses were used: D1=4.75 x 10⁷ spores/ml, D2=4.75 x 10⁶ spores/ml and D3=4.75 x 10⁵ spores/ml. Controls were treated with distilled water. At high dose, all individuals treated died (100 %) in the third day, whereas at low doses the mortality rate reached 87 % in fourth day. For witness, more than 80 % of larvae have evolved into pupal stage as result of low mortality. Results obtained are consistent with those observed by other researchers and demonstrate the effectiveness of this strain in the native laboratory conditions.

Keywords: insects, isolation of fungi, *Beauveria* sp., Larvae, *T. absoluta*, biological control.

1. INTRODUCTION

Tuta absoluta Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) est un microlépidoptère provoquant d'importants dégâts sur la culture de tomate. En 2007, de nombreux foyers d'infestations ont été observés le long de la côte méditerranéenne (Urbaneja *et al.*, 2007). En Algérie, il est difficile de donner avec précision les voies d'introduction de ce ravageur, mais sa présence obéit au même itinéraire suivi par *Aleurothrixus floccosus* Maskell 1896 (Hemiptera: Aleyrodidae) en 1984 (Berkani, 1989) et *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) en 1994 (Berkani, 1995).

Les dégâts peuvent représenter de 80 à 100 % de la production sur les plants de tomates (França, 1993; Torres *et al.*, 2002) et sont la conséquence des larves lorsqu'elles s'alimentent en produisant des mines; tous les organes de la plante peuvent

être attaqués: feuilles, tiges, bourgeons, fleurs, fruits (Lopes-Filho, 1990; Castelo-Branco, 1992).

La gestion de *T. absoluta* est largement fondée sur les mesures prophylactiques; la détection précoce par les pièges à phéromone sexuelle et l'utilisation d'insecticides sont des techniques souvent utilisées (Collavino & Gimenez, 2008).

En raison des aspects négatifs de l'utilisation des insecticides, Plusieurs travaux ont été effectués pour la mise au point d'autres moyens de lutte. La lutte biologique par l'utilisation des prédateurs et des parasitoïdes des larves a été testée avec plus ou moins de succès (Miranda *et al.*, 1998; Marchiori *et al.*, 2004; Medeiros *et al.*, 2006). La sensibilité des larves aux nématodes a été également déterminée par les travaux de Batalla-Carrera *et al.* (2010). Des essais au laboratoire, en plein champ et en serre ont montré que *Bacillus thuringiensis* Berliner 1911 est efficace sur les

jeunes larves de *T. absoluta* (Gonzalez-Cabrera *et al.*, 2010).

Les micro champignons entomopathogènes occupent une place privilégiée parmi les agents de lutte biologique (Vey *et al.*, 1982). Des études réalisées sur différents isolats fongiques ont montré que les hyphomycètes comme *Beauveria bassiana* Balsamo Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales), peuvent être des agents prometteurs pour le contrôle du phytophage éventuellement en combinaison avec des pulvérisations de *Bacillus thuringiensis* (Torres Gregorio *et al.*, 2009).

La lutte biologique, précisément par l'utilisation des microorganismes, est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante. C'est dans ce contexte que ce travail a deux objectifs: (1) chercher des souches d'entomopathogènes autochtones; (2) tester leurs efficacité sur les larves de *T. absoluta*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Provenance des insectes

Les insectes utilisés pour l'isolement des microorganismes entomopathogènes appartiennent à différents ordres. Les adultes de la mouche mineuse *Liriomyza huidobrensis* Blanchard 1926 (Diptera: Agromyzidae) proviennent du laboratoire de la protection des végétaux de l'université de Mostaganem. Cependant pour les chrysalides de la mineuse de la tomate *T. absoluta* et pour les larves et les adultes du ver blanc *Geotrogus deserticola* Blanchard 1850 (Coleoptera: Scarabaeidae) ils ont été obtenus à partir de collectes régulières d'insectes sur le terrain. Les spécimens supposés morts à la suite de l'attaque de différents germes pathogènes sont prélevés et mis dans des tubes préalablement stérilisés.

Les essais de pathogénicité ont été réalisés avec des larves de 3^{ième} et 4^{ième} stade issues d'un élevage de *T. absoluta* mis au point au laboratoire. L'identité du phytophage a été confirmée sur la base de la morphologie des adultes par la technique d'extraction des génitalia (Berkani & Badaoui, 2008).

2.2. Recherche des entomopathogènes

Pour assurer le bon développement des souches fongiques, les cadavres désinfectés des insectes ont été placés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) et elles ont été incubées à 25°C. Les colonies développées autour des insectes n'étant pas toujours pures et dans la plupart des cas sont contaminées par d'autres germes, alors des observations quotidiennes sont nécessaires afin de choisir les germes à purifier. La purification est réalisée par des repiquages successifs sur le même milieu d'isolement.

Les isolats fongiques obtenus ont été identifiés par l'étude de leurs aspects macroscopiques et microscopiques et ils ont été utilisés par la suite pour l'inoculation des larves de *T. absoluta*.

2.3. Infestation au laboratoire

Préparation de l'inoculum

Lors de cette expérience les solutions-mères destinées à l'infection des chenilles ont été obtenues en raclant avec une spatule la surface des cultures de deux à quatre boîtes de Pétri, puis en plongeant ce prélèvement dans 50 ml d'eau distillée stérile contenant 1 % de Tween. Le bécher et son contenu sont ensuite soumis pendant une dizaine de minutes à l'action d'un agitateur magnétique, afin de détacher les conidiospores de leur substrat. Les solutions sont filtrées afin d'obtenir des solutions-mères aussi homogènes que possible. La concentration de chaque solution est déterminée par dénombrement des spores en cellule de Malassez, sur une prise effectuée à la pipette au centre du liquide bien agité. Les différentes doses utilisées sont obtenues par des dilutions successives de la solution mère titrée à la concentration la plus élevée.

Méthode d'infestation

Le traitement consiste à pulvériser l'inoculum cryptogamique, sur 15 chenilles placées dans une boîte de Pétri dont le fond est recouvert d'une couche de papier absorbant afin d'éliminer l'excès de la solution.

Pour étudier l'effet de l'entomopathogène *Beauveria* sp. sur la mortalité de la mineuse de la tomate, les doses suivantes ont été utilisées: D1=4,75 x10⁷ spores/ml, D2=4,75 x10⁶ spores/ml,

D3=4,75 x10⁵ spores/ml et le témoin D0=0 spores/ml (eau distillée stérile). Trois essais simultanés sont effectués pour chacune des concentrations citées.

Les insectes traités ont été maintenus à une température de 25°C. La mortalité est notée quotidiennement après 24 heures de l'infestation.

Ré-isolément de l'entomopathogène autochtone

Le travail est complété par des tests de pathogénicité pour vérifier la sensibilité du bio-agresseur aux souches fongiques isolées. Les spécimens momifiés et bien sporulés sont détachés délicatement avec une pince stérile en veillant à ne pas dissocier du cadavre les filaments fongiques qui éventuellement le fixent. Ils sont ensuite placés dans le milieu de culture pour isoler à nouveau le germe entomopathogène à partir des larves malades suite à leur inoculation.

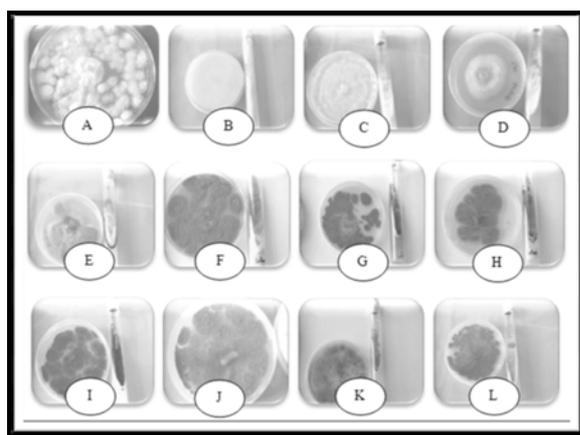


Figure 1: Souches fongiques isolées à partir des cadavres d'insectes. **A:** *Beauveria* sp. **B:** *Rhizopus* sp. **C:** *Fusarium* sp. **D:** *Cladosporium* sp. **E:** *Ulocladium* sp. **F, G et H:** *Penicillium* sp. **I:** *Aspergillus niger*. **J, K et L:** *Aspergillus* sp.

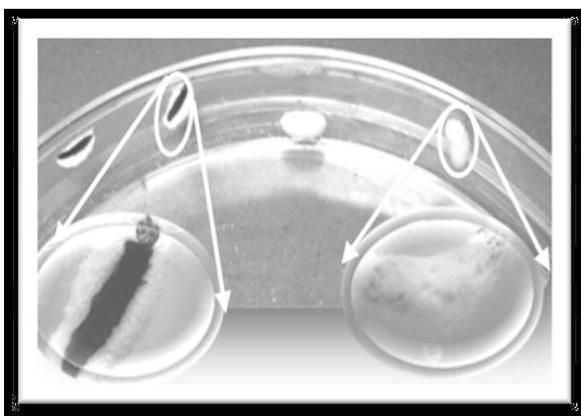


Figure 2: Larves de *T. absoluta* envahies par le champignon du genre *Beauveria*

3. RESULTATS ET DISCUSSION

L'examen pathologique des échantillons préparés selon les principes et les techniques décrits précédemment ont permis d'identifier un certain nombre de champignons (Figure 1).

La majorité de la mycoflore isolée est représentée par les genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Ulocladium* et *Penicillium*, ces germes se développent d'une manière saprophyte sur les insectes.

Un seul cas de suivi de la pathogénèse; l'agent pathogène une fois isolé a fait l'objet d'une reproduction expérimental d'affection spontanée afin de préciser sa virulence et les modalités de l'infection. Il s'agit d'un champignon entomopathogène appartenant au genre *Beauveria*, l'inoculation du phytophage par cette souche fongique a permis l'apparition dès le deuxième jour, d'un fin duvet blanc sur les chenilles momifiés, lequel duvet s'est accru très rapidement pour donner des masses filamenteuses denses (Figure 2).

L'analyse de la Figure 3, nous renseigne sur le taux de mortalité des larves infestées à différentes doses: D1=4,75 x10⁷ spores/ml - D2=4,75 x10⁶ spores/ml, D3=4,75 x10⁵ spores/ml - témoin D0=0 spores/ml. On remarque qu'à dose D1, 100 % de mortalité des individus est observée au 3^{ème} jour, alors que pour la dose D2, le maximum de mortalité (100 %) est visible au 4^{ème} jour. Après quatre jours de contact à faible dilution de *Beauveria* sp., 87 % des larves sont mortes. Parallèlement plus de 80 % des larves ont évolué au stade chrysalide pour le témoin, conséquence d'une faible mortalité.

Les résultats obtenus sont conformes à ceux observés par plusieurs auteurs (Teresinha *et al.*, 2001; Torres Gregorio *et al.*, 2009; Pires *et al.*, 2010) et permettent de conclure que l'isolat

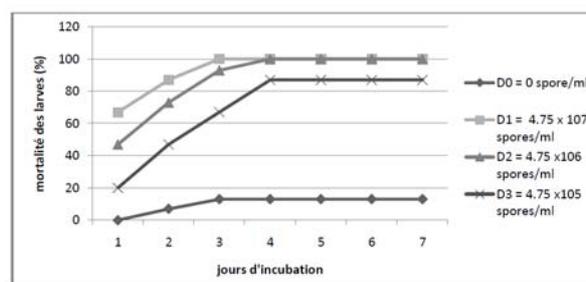


Figure 3: Mortalité des larves de *T. absoluta* traitées par la souche autochtone *Beauveria* sp.

analysé a une action pathogène sur les larves de la mineuse de la tomate.

4. CONCLUSION

Au stade actuel, les tests effectués ont démontré la possibilité du contrôle biologique des populations de *Tuta absoluta* par l'utilisation de la souche autochtone *Beauveria* sp. Mais avant d'envisager une utilisation sur le terrain de cet entomopathogène, il serait souhaitable d'effectuer des expérimentations approfondies en conditions contrôlées.

Remerciements

Nous remercions Monsieur A. Kedad, enseignant au département de botanique à l'École Nationale Supérieure Agronomique d'Alger, pour l'identification de l'entomopathogène autochtone *Beauveria* sp. Nos remerciements vont également à Mesdames F. Sayah, enseignante au département biotechnologies de l'Université de Mostaganem, et A. Benelemouffok, attachée d'études au service de mycologie de l'Institut Pasteur d'Alger, pour la confirmation de l'identification des souches fongiques isolées.

Bibliographie

- Batalla-Carrera L., Morton A. & Garcia-del-Pino F. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *Biocontrol* **55**, p. 523-530.
- Berkani A. (1989). *Possibilités de régulation des populations d'Aleurothrixus floccosus* Mask. (Homoptera: Aleurodidae) sur agrumes par *Cales noacki* How (Hymenoptera, Aphelinidae) en Algérie. Thèse de doctorat. Université Aix-Marseille III, France, 140 p.
- Berkani A. (1995). Apparition en Algérie de *Phyllocnistis citrella* Stainton, chenille mineuse nuisible aux agrumes. *Fruits* **50**(5), p. 345-352.
- Berkani A. & Badaoui M.I. (2008). La mineuse de la tomate *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae). *Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie*, 16 p.
- Castelo-Branco M. (1992). Flutuação populacional da traça do tomateiro no Distrito Federal. *Horticultura Brasileira* **10**, p. 33-34.

- Collavino M.D. & Gimenez R.A. (2008). Efficacy of imidacloprid to control the tomato borer (*Tuta absoluta* Meyrick). *Idesia (Chile)* **26**(1), p. 65-72.
- França F.H. (1993). Por quanto tempo conseguiremos conviver com a traça do tomateiro. *Horticultura Brasileira* **11**, p. 176-178.
- Gonzalez-Cabrera J., Molla O., Monton H. & Urbaneja A. (2010). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). *BioControl* **56**(1), p. 71-80.
- Lopes-Filho F. (1990). Tomate industrial no submédio São Francisco e as pragas que limitam sua produção. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **25**(2), p. 283-288.
- Marchiori C.H., Silva C.G. & Lobo A.P. (2004). Parasitoids of *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) collected on tomato plants in larvae, state of Minas Gerais, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **64**(3), p. 552-554.
- Medeiros M.A., Vilela N.J. & França F.H. (2006). Technical and economic efficiency of biological control of the South American tomato pinworm in protected environment. *Horticultura Brasileira* **24**(2), p. 180-184.
- Miranda M.M.M., Picanco M., Zanuncio J.C. & Guedes R.N.C. (1998). Ecological life table of *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol Science and Technology* **8**, p. 597-606.
- Pires LM., Marques E.J., Oliveira J.V. & Alves S.B. (2010). Selection of Isolates of Entomopathogenic Fungi for Controlling *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and their Compatibility with Insecticides Used in Tomato Crop. *Neotropical Entomology* **39**(6), p. 977-984.
- Teresinha A., Giustolin José D., Vendramim Sérgio B., Alves E. & Vieira Solange A. (2001). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* Bals. Vuill. to *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) Reared on Two Genotypes of Tomato. *Neotropical Entomology* **30**(3), p. 417-421.
- Torres J.B., Evangelista W.S., Barras J.R. & Guedes R.N.C. (2002). Dispersal of *Podisus nigrispinus* nymphs preying on tomato leaf miner. Effect of predator release time, density and satiation level. *Entomologia applicata* **126**, p. 326-332.
- Torres Gregorio J., Argente J., Diaz M.A. & Yuste A. (2009). Aplicación de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Tuta absoluta*. *Agrícola Vergel: Fruticultura, Horticultura, Floricultura* **326**, p. 129-132.

Urbaneja A., Vercher R., Garcia Mari F. & Porcuna J.L. (2007). La popilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma Espana* **194**, p. 16-23.

Metarhizium anisopliae for scarabaeid larvae. *Entomophaga* **27**, p. 387-397.

Vey A., Fargues J. & Robert P. (1982). Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus

(18 réf.)