

Production de masse d'*Ageniaspis citricola*, parasitoïde de la mineuse des agrumes, en Tunisie

Brahim Chermiti^{a*}
Hend Gahbiche^a
Mohamed Braham^a
Brahim Messelmani^b
Ridha Rahmouni^b

^a École supérieure d'Horticulture et d'élevage de Chott Mariem, laboratoire de Zoologie agricole, 4042 Sousse, Tunisie

^b Groupement interprofessionnel des agrumes et des fruits, 4, rue Ahmed Triki, 1002 Tunis, Tunisie

Mass-rearing of *Ageniaspis citricola*, a citrus leafminer parasitoid, in Tunisia.

Abstract — Introduction. A biological control program has been initiated in Tunisia to introduce *Ageniaspis citricola*, a parasitoid of the citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella*, in order to reinforce the controlling action of indigenous natural enemies and to limit the harmful effects of chemical treatment. A mass-rearing technique has been developed to get a regular supply of live adults. **Materials and methods.** *A. citricola* is a polyembryonic endoparasitoid feeding on eggs and immature larvae of the citrus leafminer. This parasitoid is reared in a plastic tunnel hosting young sour orange trees (*Citrus aurantium*) infested by *P. citrella*. *A. citricola* adults are cautiously placed on the young leaves of the orange trees infested with *P. citrella* eggs and larvae, the favored lifestages of the parasitoid. The pupae collected on the infested citrus leaves are then incubated up to the day when the adults emerge. That very same day, they are released in citrus orchards. **Results and discussion.** From April, 30 to July, 14 1996, 19,549 nymphs of *A. citricola* containing 51,270 pupae were obtained which later developed into 18,870 *A. citricola* adults. A variation in the parasitism rate was observed, mainly due to the availability in the receptive stages of *P. citrella* in the tunnel. **Conclusion.** Despite its efficiency and low cost, the mass-rearing method experimented with is only functional a few months a year; however, it permits following up the first releases of *A. citricola* with continued inoculative releases, which are essential for encouraging the parasitoid to establish itself in Tunisia. (© Elsevier, Paris)

Tunisia / Citrus / pest insects / biological control / *Phyllocnistis citrella* / *Ageniaspis citricola*

Production de masse d'*Ageniaspis citricola*, parasitoïde de la mineuse des agrumes, en Tunisie.

Résumé — Introduction. Un programme de lutte biologique a été établi en Tunisie visant à introduire *Ageniaspis citricola*, parasitoïde de la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella*, pour renforcer l'action des auxiliaires locaux et pour limiter les effets néfastes des traitements chimiques. Afin de disposer régulièrement d'un effectif suffisant d'adultes vivants, une technique d'élevage de masse a été mise au point. **Matériel et méthodes.** *A. citricola* est un endoparasitoïde polyembryonnaire des œufs et des jeunes stades larvaires de la mineuse des agrumes. Son élevage a été conduit sous un tunnel plastique abritant des jeunes plants de bigaradier (*Citrus aurantium*) infestés par *P. citrella*. Des adultes d'*A. citricola* ont été déposés délicatement sur les jeunes feuilles de bigaradier, infestées d'œufs et de jeunes larves de *P. citrella*, stades préférentiels du parasitoïde. Les pupes ont été ensuite prélevées sur des feuilles d'agrumes infestées et mises à incuber jusqu'à émergence des adultes lâchés le jour même dans les vergers d'agrumes. **Résultats et discussion.** Du 30 avril au 14 juillet 1996, 19 549 nymphes d'*A. citricola* renfermant 51 270 pupes ont été obtenues qui ont donné, par la suite, 18 870 adultes d'*A. citricola*. Une variation du taux de parasitisme a été observée, étroitement liée à la disponibilité en stades réceptifs de *P. citrella*, sous le tunnel. **Conclusion.** La méthode d'élevage expérimentée, efficace et peu coûteuse, a pourtant l'inconvénient de ne pouvoir fonctionner que quelques mois par an ; elle permet, cependant, de poursuivre les premiers lâchers inoculatifs d'*A. citricola*, afin de favoriser l'acclimatation du parasitoïde en Tunisie. (© Elsevier, Paris)

Tunisie / Citrus / insecte nuisible / lutte biologique / *Phyllocnistis citrella* / *Ageniaspis citricola*

* Correspondance et tirés à part

Reçu 18 septembre 1997
Accepté le 3 janvier 1998

Fruits, 1998, vol. 53, p. 229–234
© Elsevier, Paris

RESUMEN ESPAÑOL, p. 234

1. introduction

Depuis 1994, date de son introduction en Tunisie, la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae), y est devenue un ravageur d'importance économique des agrumes. Un programme de lutte biologique a été établi visant à introduire des parasitoïdes exotiques pour renforcer l'action des auxiliaires locaux contre ce phytophage d'une part et pour limiter les effets néfastes des traitements chimiques d'autre part.

L'établissement d'ennemis naturels, sur les quelques 15 000 ha occupés par les vergers d'agrumes en Tunisie, nécessite que soient effectués des lâchers inoculatifs avec des effectifs relativement élevés. La réalisation de cette opération exige, qu'en préalable, un élevage de masse du, ou des parasitoïde(s) introduit(s) soit possible.

Ageniaspis citricola (Hymenoptera, Encyrtidae) originaire du Viêt-nam [1] a été employé avec satisfaction dans plusieurs programmes de lutte biologique contre la mineuse des agrumes, notamment en Floride, en Australie et en Chine [2–6]. Cet auxiliaire a été le premier parasitoïde introduit en Tunisie pour lutter contre *P. citrella*.

La technique d'élevage de masse de cet entomophage est présentée dans ce document ; elle permet de produire chaque jour, et avec un coût modéré, un effectif suffisant d'adultes vivants. Elle s'inspire d'une méthode déjà utilisée par plusieurs auteurs [5, 7–9, 10–12].

2. matériel et méthodes

Des pupes d'*A. citricola* ont été importées d'Australie¹ à l'occasion de deux envois réceptionnés le 25 janvier, puis le 23 février 1996. Placées au laboratoire en éclosoirs – 20 °C de température et 75 % d'humidité relative –, elles ont donné 1 221 adultes.

A. citricola est un endoparasitoïde polyembryonnaire des œufs et des jeunes stades larvaires de la mineuse des agrumes, produisant 1 à 10 individus par hôte [1, 3, 5]. C'est une espèce arrhénotoque dont les femelles non fécondées engendrent des mâles [11, 13].

L'élevage de ce parasitoïde a été conduit sous un tunnel plastique comportant environ 7 400 jeunes plants de bigaradier (*Citrus aurantium*) préalablement infestés par *P. citrella*.

Cet abri-serre, long de 32 m, large de 8,5 m et haut de 4,25 m, ayant des côtés maçonnés, a été recouvert d'une ombrière noire, produisant un ombrage à 40 %, et d'un film plastique thermique en polyéthylène. Les ouvertures – une porte d'entrée et une fenêtre d'un côté, deux fenêtres de l'autre –, ménagées dans les murs d'extrémité du tunnel, ont été obturées par une toile *insect-proof* (figure 1).

Le chauffage a été assuré par une chaudière pulsant de l'air dans une gaine de 60 m de long et de 80 cm de diamètre, faisant le tour de la serre. Un extracteur d'air électrique, placé sur le mur opposé à l'entrée, déclenchait automatiquement la ventilation de l'abri-serre à partir d'une température interne de 30 °C (figure 1). Celle-ci a été maintenue entre 25 et 28 °C le jour et 16 et 18 °C la nuit. L'humidité relative a varié entre 80 et 90 % [11, 12], grâce à quatre humidificateurs placés dans l'allée principale du tunnel plastique, à des distances égales (figure 1). Les hausses de température, observées généralement en début d'après-midi, ont été corrigées par une pulvérisation d'eau sur les plants.

Les plants de bigaradier ont été répartis en huit rangées de quatre lignes chacune, séparées par sept allées. Dans le sens longitudinal, la serre a été fictivement divisée en 21 blocs comportant, chacun, environ 350 plants (figure 1).

P. citrella pond essentiellement sur les jeunes feuilles des organes végétatifs en cours de croissance. Les plants de bigaradier ont donc été périodiquement pincés pour ne laisser que des portions de tiges portant deux ou quatre feuilles et ont été

¹ les pupes d'*Ageniaspis citricola* importées en Tunisie provenaient du laboratoire du D^r Dan Smith (DPI, Queensland).

régulièrement arrosés avec une solution d'engrais complet. Ainsi, une végétation dense, tendre et très attractive pour les femelles de *P. citrella*, a été développée, condition nécessaire pour avoir un élevage continu et suffisant du phytophage et ultérieurement de son parasitoïde. La taille des plants a été effectuée, chaque jour, sur un bloc donné, de façon à ce que l'apparition des jeunes pousses soit régulière et échelonnée.

Les individus d'*A. citricola*, qui ont émergé des éclosoirs, ont été introduits dans l'abri-serre et déposés délicatement sur les jeunes feuilles de bigaradier infestées d'œufs et de jeunes larves de *P. citrella*, stades préférentiels du parasitoïde [1, 3]. Cette opération a été effectuée en deux fois pour les 1 221 adultes du parasitoïde récupérés : une première période d'introduction s'est poursuivie du 25 janvier au 10 février 1996 et une seconde du 23 février au 10 mars 1996.

Après vérification de leur maturité repérée par une couleur brun foncé, les nouvelles pupes formées d'*A. citricola* ont été prélevées à partir du 30 avril 1996 sur des lots d'environ 1 000 feuilles d'agrumes infestées, âgées de 3 semaines, récoltées chaque jour. Ce prélèvement a donc eu lieu plus de 3 mois après la première introduction du parasitoïde dans l'abri-serre, délai jugé suffisant pour son implantation et sa multiplication.

Les feuilles échantillonnées ont été examinées sous loupe binoculaire pour comptage du nombre de chrysalides vivantes de *P. citrella*, de « nymphes » d'*A. citricola* et de pupes par « nymphe » d'*A. citricola*. Le taux de parasitisme a été calculé en rapportant le nombre de « nymphes » d'*A. citricola* à la somme des effectifs de chrysalides vivantes de *P. citrella* et de « nymphes » d'*A. citricola*.

Figure 1.

Schéma de l'abri-serre utilisé pour effectuer un élevage d'*Ageniaspis citricola* en Tunisie. Des lâchers d'adultes du parasitoïde ont été effectués sur de jeunes plants de bigaradier, infestés par *Phyllocnistis citrella* et disposés en rangées sous le tunnel.

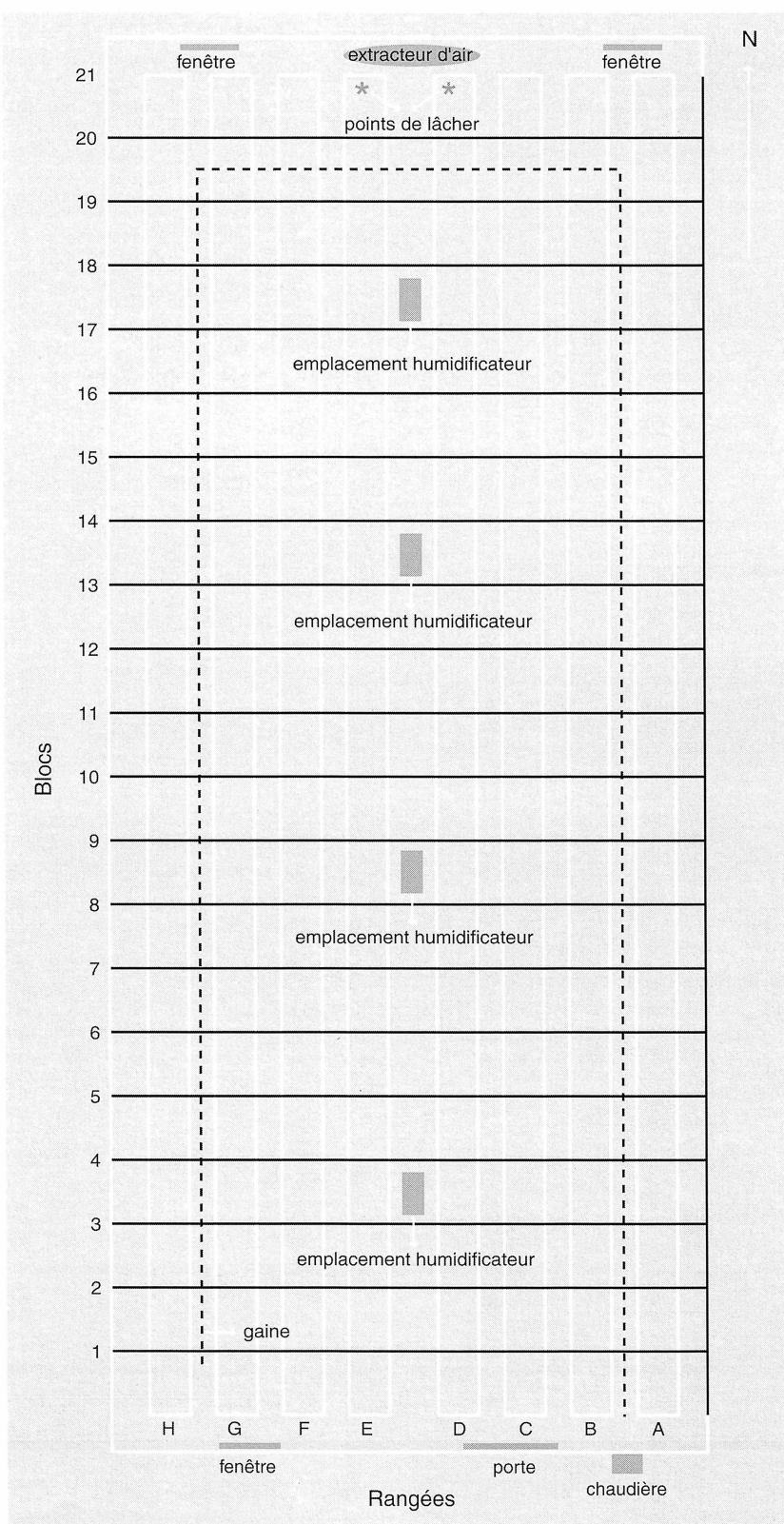


Tableau I.

Évolution de la production journalière de chrysalides de *Phyllocnistis citrella* et de pupes de son parasitoïde *Ageniaspis citricola* en condition d'élevage sous abri-serre, en Tunisie, du 30 avril au 14 juillet 1996.

Date d'observation	Effectif		
	Chrysalide vivante de <i>P. citrella</i>	Nymphe d' <i>A. citricola</i>	Pupe d' <i>A. citricola</i>
30/4/96	285	38	89
2/5/96	305	33	88
3/5/96	280	32	68
8/5/96	1 317	191	455
9/5/96	135	52	131
10/5/96	574	210	481
11/5/96	743	19	43
13/5/96	1 377	300	679
14/5/96	535	149	334
15/5/96	664	87	192
16/5/96	544	22	58
17/5/96	436	14	32
20/5/96	490	53	114
21/5/96	300	67	161
22/5/96	479	180	478
23/5/96	350	113	280
24/5/96	180	190	403
25/5/96	325	166	373
27/5/96	495	794	1 763
29/5/96	70	47	102
31/5/96	515	279	590
1/6/96	320	50	90
3/6/96	1 695	183	401
4/6/96	640	97	196
5/6/96	635	171	450
6/6/96	265	214	520
7/6/96	750	599	1 523
8/6/96	540	380	967
12/6/96	85	88	234
13/6/96	140	253	633
14/6/96	395	448	1 080
15/6/96	115	405	1 076
16/6/96	280	264	685
17/6/96	700	653	1 752
18/6/96	105	232	599
19/6/96	180	280	692
20/6/96	296	342	908
21/6/96	460	958	2 515
22/6/96	235	459	1 179
23/6/96	120	364	951
24/6/96	290	384	916
25/6/96	885	890	2 284
26/6/96	830	628	1 532
27/6/96	360	462	1 088
28/6/96	200	385	990
29/6/96	105	256	643
1/7/96	310	357	879
2/7/96	245	439	1 163
3/7/96	670	1 079	3 063
4/7/96	245	451	1 332
5/7/96	300	677	1 858
6/7/96	190	507	1 485
8/7/96	390	876	2 583
9/7/96	150	364	1 100
10/7/96	600	1 651	5 032
12/7/96	235	591	1 732
13/7/96	35	62	189
14/7/96	10	14	36

Les pupes récupérées ont été mises dans des tubes à hémolyse bouchés avec du coton jusqu'à émergence des adultes lâchés le jour même dans les vergers d'agrumes.

Toutes les opérations effectuées – pincement des rameaux, irrigation fertilisante des plants et récolte des pupes – ont demandé, chaque jour, 3 h de travail assurées par trois personnes.

3. résultats et discussion

Les premières pupes d'*A. citricola* ont été observées dans l'abri-serre le 14 février 1996, soit 3 semaines après l'introduction des adultes.

Du 30 avril au 14 juillet 1996, 19 549 « nymphes » d'*A. citricola* renfermant 51 270 pupes ont été obtenues, ce qui correspond à une production moyenne quotidienne de 884 pupes (tableau I).

La production a varié d'un jour à l'autre allant de la valeur minimale de 32 pupes récoltées le 17 mai à celle, maximale, de 5 032 pupes prélevées le 10 juillet 1996.

La variation du taux de parasitisme observé a été étroitement liée à la disponibilité en stades réceptifs de *P. citrella*, sous le tunnel plastique. Au début de la récolte des feuilles de bigaradiers infestés, dans les premiers jours de mai, le pourcentage de parasitisme – de 10 % seulement – a été faible ; il a été moyen vers la fin de ce même mois : 45 % ; il a avoisiné le seuil de 65 % vers la fin du mois de juin (tableau I). Cette progression du parasitisme résulterait des effets conjugués de l'élévation de température dans l'abri-serre, de l'allongement des jours et de l'accroissement des populations du parasitoïde.

Les 51 270 pupes produites ont donné par la suite 18 870 adultes d'*A. citricola*, correspondant à un pourcentage d'émergence moyen de 36,8 %. Ce faible résultat serait imputable à la faible humidité relative relevée dans les tubes à hémolyse et à la maturité parfois insuffisante des pupes récoltées, les pupes de couleur

brun foncé – couleur révélant les pupes matures – évoluant plus systématiquement en imagos que celles de couleur plus claire caractérisant des pupes encore jeunes qui ne survivent pas.

Durant la période d'élevage, la chaîne polyembryonnaire d'*A. citricola* a renfermé de un à dix individus, la moyenne se situant à 2,5 pupes par « nymphe ». Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Smith et Hoy [11] qui avaient trouvé, à partir d'un nombre équivalent de parasitoïdes au départ, une moyenne de 2,8 pupes par « nymphe ».

4. conclusion

L'élevage d'*A. citricola* sur son hôte habituel *P. citrella*, dans un abri-serre renfermant 7 400 jeunes plants de bigaradier, a permis de produire, du 30 avril au 14 juillet 1996, 18 870 adultes du parasitoïde, qui ont été lâchés en vergers d'agrumes en Tunisie, au moment de la poussée de sève estivale des arbres.

Cette méthode d'élevage, qui n'a pas nécessité un équipement coûteux du fait qu'un seul tunnel plastique a servi à la fois à la multiplication de la plante hôte, à l'élevage de la mineuse des agrumes et à celui du parasitoïde, présente, cependant, certaines limites d'utilisation puisque, en raison de conditions climatiques, l'élevage ne peut fonctionner que quelques mois par an. Elle reste néanmoins une technique facile à appliquer et intéressante à développer pour poursuivre ces premiers lâchers inoculatifs, tendant à favoriser l'acclimatation du parasitoïde *A. citricola* dans les régions de production des agrumes en Tunisie. Cette action devrait permettre à terme de contrôler, en partie, l'infestation de ces vergers par *P. citrella*.

références

- [1] Logvinovskaya T.V., A new species of *Ageliaspis* Dahlbom, 1857 (Hymenoptera, Encyrtidae) from Vietnam, Ent. Obozr (Moscow) 62 610-611 (In Russian), Engl. Trans.: Ent. Rev. 62 (3) (1983) 150-152.

- [2] Beattie G.A. C., Integrated control of citrus leafminer, NSW Agric. (Rydalmere) (1993).
- [3] Hoy M.A., Nguyen R., Classical biological control of the citrus leafminer in Florida: a progress report, Citrus Ind. (Bartow) 75 (6) (1994) 61–62.
- [4] Hoy M.A., Nguyen R., Hall D., Bullock R., Pomerinke M., Pena J., Browning H., Stansly P., Establishment of citrus leafminer parasitoid *Ageniaspis citricola* in Florida, Citrus Ind. (Bartow) 76 (12) (1995) 12–17.
- [5] Neale C., Smith D., Beattie G.A.C., Miles M., Importation, host specificity testing, rearing and release of three parasitoids of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Eastern Australia, J. Aust. Ent. Soc. 34 (1995) 343–348.
- [6] Zhang A., O'Leary C., Quarles W., Chinese IPM for citrus leafminer, IPM Practitioner (Berkeley) 16 (1994) 10–13.
- [7] Argov Y., Rossler Y., Rearing methods of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, and its parasitoids in: Hoy M.A. (Ed.), Proceedings from an international conference, Managing the citrus leafminer, Orlando, Florida, 1996, p. 61.
- [8] Hoy M.A., Smith J.M., Rearing the citrus leafminer, and two parasitoids, *Ageniaspis citricola* and *Cirrospilus ingennus* (= *quadristriatus*) for a classical biological control program, in: Hoy M.A. (Ed.), Proceedings from an international conference, Managing the citrus leafminer, Orlando, Florida, 1996, p. 62.
- [9] Johnson S.J., Vaughn A., Bourgeois W.J., Rearing and release for a classical biological control program of the citrus leafminer in Louisiana, in: Hoy M.A. (Ed.), Proceedings from an international conference, Managing the citrus leafminer, Orlando, Florida, 1996, p. 63.
- [10] Pena J.E., Duncan R.E., Rearing methods for citrus leafminer and *Pnigalio minio* using 'Tahiti' limes, in: Hoy M.A. (Ed.), Proceedings from an international conference, Managing the citrus leafminer, Orlando, Florida, 1996, p. 65.
- [11] Smith J.M., Hoy M.A., Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), Florida Entomol. 78 (4) (1995) 600–608.
- [12] Smith D., Neale C., Rearing techniques for citrus leafminer parasitoids in Queensland, in: Hoy M.A. (Ed.), Proceedings from an international conference, Managing the citrus leafminer, Orlando, Florida, 1996, pp. 66–68.
- [13] Evans G.A., Discovery of the male of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera, Encyrtidae) parasitoid of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae), Florida Entomol. 78 (1995) 134–136.

Producción masiva de *Ageniaspis citricola*, parasitoide del minador de las hojas de cítricos, en Túnez.

Resumen — Introducción. Se ha establecido en Túnez un programa de control biológico que tiene como objetivo la introducción de *Ageniaspis citricola*, parasitoide del minador de las hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella*, para reforzar la acción de los auxiliares locales y limitar los efectos nefastos de los tratamientos químicos. Se dispuso una técnica de cría masiva para disponer regularmente de un número suficiente de adultos vivos. **Material y métodos.** *A. citricola* es un endoparasitoide poliembionario de huevos y tempranas fases larvarias del minador de las hojas de cítricos. Su cría se realizó en un túnel de plástico que contenía plantas jóvenes de naranjos amargos (*Citrus aurantium*) infestadas con *P. citrella*. Se depositaron delicadamente individuos de *A. citricola* en las hojas nuevas de naranjo, infestadas de huevos y larvas jóvenes de *P. citrella*, que son las fases de preferencia del parasitoide. Seguidamente, se tomaron las pupas de hojas de cítricos infestados y se incubaron hasta la emergencia de los adultos cuya suelta se efectuó el mismo día en huertas de cítricos. **Resultados y discusión.** Entre el 30 de abril y el 14 de julio de 1996 se obtuvieron 19 549 ninfas de *A. citricola* que contenían 51 270 pupas y que dieron posteriormente 18 870 adultos de *A. citricola*. En el túnel se observó una variación en el índice de parasitismo, estrechamente vinculada a la disponibilidad en fases receptivas de *P. citrella*. **Conclusión.** El método de reproducción experimentado es barato y eficaz pero con el inconveniente de que sólo funciona unos meses al año; no obstante, este método permite proseguir las primeras liberaciones inoculativas de *A. citricola* para favorecer la aclimatación del parasitoide en Túnez. (© Elsevier, Paris)

Túnez / Citrus / insectos dañinos / control biológico / *Phyllocnistis citrella* / *Ageniaspis citricola*