

UNE VIROSE A POLYÈDRES CHEZ *PLUSIA CHALCYTES* (ESP.) LÉPIDOPTÈRE. NOCTUIDAE

par **Y. LAUDEHO**

Entomologiste à l'Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer.

*Parallèlement aux travaux de recherches sur la biologie de *Plusia chalcytes* et sur les moyens de combattre ce parasite défoliateur du bananier en Côte d'Ivoire et en Guinée, il fut entrepris, pour compléter ces connaissances, des études sur la pathologie de la chenille de ce lépidoptère. Cette Noctuelle étant largement répandue, notamment dans le Bassin méditerranéen et le sud de la France où elle s'attaque à plusieurs plantes maraichères et en particulier à la Tomate, il a été possible d'effectuer ces premières investigations en France, d'abord à la Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocénétique de la Minière, ensuite au Laboratoire de Cytopathologie de Saint-Christol-les-Alès (1).*

Ayant constaté une mortalité importante et un comportement larvaire anormal dans certains lots de nos élevages, sachant, d'autre part qu'une lutte microbiologique pourrait être utilement envisagée et que la préparation d'une telle lutte dépend d'une façon générale avant tout de la mise en évidence des affections pathologiques naturelles chez un insecte, il a été consacré une étude plus détaillée à ces anomalies en définissant les caractéristiques de cet état et en recherchant l'agent causal.

(1) Nous exprimons notre gratitude à l'I. N. R. A. pour nous avoir accueilli dans ses Laboratoires et nous remercions particulièrement M. C. VAGO, directeur du Laboratoire de Saint-Christol-les-Alès et M. P. ATGER, chargé de Recherches à la Station de La Minière, pour les précieux conseils qu'ils nous ont prodigués.

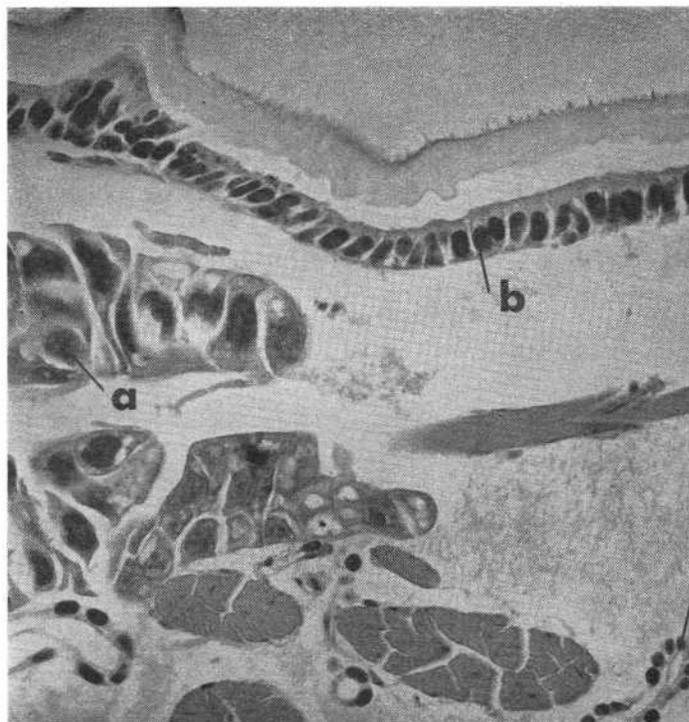


FIG. 1. — Coupe transversale d'une larve de *Plusia chalcytes* montrant les noyaux chargés de polyèdres à la fois dans les tissus adipeux (a), hypodermiques (b), et péritrichéaux (c). Coloration Vago-Amargier.

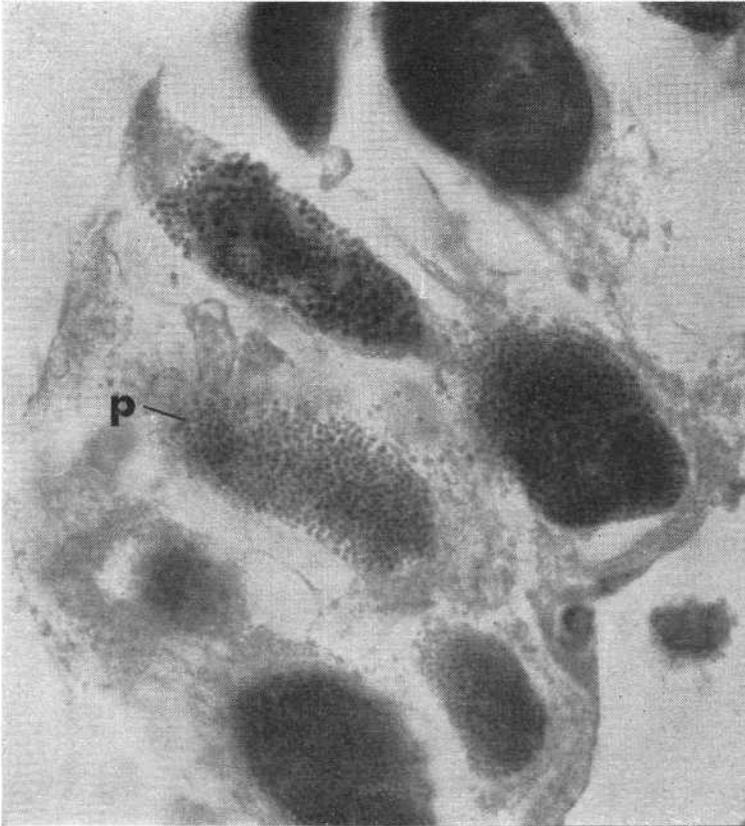


FIG. 2. — Détails d'une partie du tissu adipeux montrant les polyèdres (P) dans les noyaux des cellules. Coloration Vago-Amargier.

Symptômes :

Les chenilles étudiées sont alimentées avec des plants de tomates, sur lesquelles elles sont trouvées le plus fréquemment, tant dans le sud de la France qu'en Afrique du Nord.

La teinte des larves malades change du vert au blanc laiteux. Les segments gonflent quelques jours avant la mort. Les cadavres pendent accrochés aux feuilles par leurs fausses pattes et prennent rapidement une couleur brun foncé qui s'accompagne d'une liquéfaction des tissus. Lorsque la maladie ne se manifeste que tardivement, une forte mortalité apparaît au stade chrysalide.

Chez les chenilles atteintes, l'épiderme devient mince et fragile et les tissus hypodermique et adipeux semblent se gonfler et se liquéfient ensuite en prenant une couleur brune.

Cytologie et histologie.

Dès l'apparition des premiers symptômes, les frottis de tissus adipeux montrent après fixation à la flamme et coloration au bleu de méthylène de Loeffler, la pré-

sence de corps d'inclusion polyédriques. Ces corps apparaissent groupés dans les noyaux. Les cellules sanguines sont également altérées.

Pour les examens histologiques, les larves ont été fixées au Bouin, puis après déshydratation par l'alcool butylique, incluses dans de la paraffine à 56°. Les corps d'inclusions restant réfractaires aux colorants d'aniline usuels et l'hématoxiline ferrique ne donnant pas de coloration différentielle des polyèdres, il a été préféré la méthode de VAGO et AMARGIER (1963), qui permet de différencier les corps d'inclusions dans leur masse.

On ne trouve aucune lésion au niveau des gonades, des glandes séricigènes et des muscles. Les noyaux des cellules adipeuses, hypodermiques et pérित्रachéales sont hypertrophiés et occupent la plus grande partie de la cellule. Les noyaux atteints contiennent souvent des corps d'inclusion à section polyédrique, ces derniers restant groupés en amas alors même que les tissus touchés sont presque totalement désagrégés.

Il faudra attendre les tout derniers stades d'évolution de la virose pour observer un envahissement complet de la cavité générale par les polyèdres provenant de la dissociation de ces amas.

Les polyèdres de section hexagonale ont un diamètre de $0,6 \mu$ à 1μ ce qui les place parmi les plus petits corps d'inclusion de Borrelinavirus.

Microscopie électronique.

Pour obtenir la propreté nécessaire à l'observation au microscope électronique, nous avons purifié, par centrifugation différentielle, une suspension de polyèdres obtenue à partir du tissu adipeux de *P. chalcytes*.

Cette suspension a été mélangée à parties égales avec une solution N/40 de carbonate de sodium pour libérer les virus des corps d'inclusion par effet alcalin. Après l'avoir étendue dans 20 fois son volume d'eau pour arrêter l'attaque des corps d'inclusion, les débris ont été sédimentés à 3 000 R. P. M. et les virus à 14 000 R. P. M. à partir du surnageant de la première centrifugation.

Une goutte de culot repris dans l'eau a été déposée sur une grille munie de formvar et examinée au microscope électronique HITACHI, soit sans ombrage, ni coloration, soit après coloration négative à l'acide phosphotungstique.

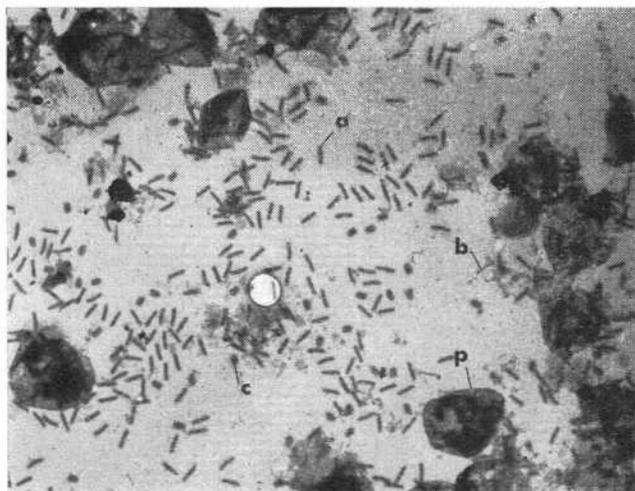


FIG. 3. — Suspension de polyèdres ayant subi une attaque par $\text{CO}_3 \text{Na}_2$ montrant des virus dans la membrane (a), des virus libérés de leur membrane (b), des formes pliées (c) à côté de polyèdres en voie de dissolution (p). Microscope électronique HITACHI. Sans coloration négative, ni ombrage.

Sur des préparations non colorées, à côté des polyèdres en voie de dissolution, apparaissent des virus en bâtonnets de $0,36 \mu$ de long et de $0,07 \mu$ de large, avec leur membrane. On observe, de plus, la présence,

mais en moins grand nombre de formes plus courtes et trapues pouvant être des formes « pliées » des virus ci-dessus, des formes tout à fait rondes faisant partie également de l'évolution des virus à l'intérieur de membranes de développement (BERGOLD, 1950) sont aussi assez fréquentes.

Après coloration de l'A. P. T., on note la présence de virus en voie de dissolution par le $\text{CO}_3 \text{Na}_2$ qui se présentent alors comme des enveloppes vidées de leur contenu à côté de virus non encore attaqués.

Il ne nous est pas possible, lors de dissolution des polyèdres en milieu alcalin, de conclure à la présence de groupements en faisceaux (VAGO, CROISSANT, LÉPINE, 1962). Nous pensons toutefois qu'une précision peut être obtenue par la méthode histologique au microscope électronique à laquelle nous nous proposons d'avoir recours actuellement.

Ces propriétés permettent de placer le virus de la polyédrie de *P. chalcytes* parmi les Borrelinavirus (*B. chalcytei*).

Il est à remarquer que chez *Plusia gamma* est décrite une virose à polyèdres ayant une localisation similaire dans les tissus adipeux et hypodermiques (VAGO, CAYROL, 1955). Les polyèdres ont dans ces deux espèces, une forme comparable, mais ont un diamètre sensiblement plus grand chez *P. gamma* que chez *P. chalcytes*.

La dissolution sur grille en microscopie électronique ne permet pas d'observer chez aucun de ces deux insectes la présence de groupements en faisceaux des virus; mais dans les deux cas, ceux-ci, sont en forme de bâtonnets et ont une taille comparable (LÉPINE, VAGO, CROISSANT, 1953). On observe de même chez *P. gamma*, ces éléments plus courts que l'on retrouve chez *P. chalcytes*.

Il est intéressant de rechercher l'interspécificité de ces deux virus. Il a donc été mis en route des essais pour voir la virulence réciproque de ces derniers sur chacun des deux hôtes.

Évolution de la maladie.

Il a été examiné l'effet, sur des larves saines de *Plusia*, des polyèdres ingérés dans des conditions de laboratoire et dans les champs.

La pulvérisation sur feuille de tomate d'une suspension de polyèdres isolés de cadavres de *P. chalcytes* atteints, provoque la polyédrie chez les larves nourries en élevage sur ces plantes.

En ce qui concerne les essais dans la nature, deux lots de chenilles au premier et au deuxième âge ont reçu pour nourriture le feuillage de tomate badigeonné

avec une suspension de polyèdres. Deux lots témoins subissent le même traitement, la suspension de virus étant remplacée par de l'eau distillée. Après 36 h de cette alimentation, les larves ont été placées sur pieds de tomates recouverts de bonnettes de nylon dans une plantation, dans le sud de la France. Quinze jours plus tard, les pieds portant les larves non infectées sont fortement endommagés, alors que sur celui recevant les larves traitées, il n'est observé que de rares signes d'alimentation.

En même temps, presque la totalité des larves traitées sont mortes avant la nymphose et les frottis effectués à partir des cadavres ont montré la présence de nombreux polyèdres nucléaires.

Au cours des sondages faits dans la nature, il n'a été remarqué cette virose que sporadiquement et son évolution semble être plus lente.

La relative facilité avec laquelle a été obtenue la multiplication de cette virose nucléaire dans la nature, incite à retenir cette affection pour un éventuel programme de lutte biologique contre *P. chalcytes*. La souche de réserve est maintenue dans la Collection du Laboratoire de Saint-Christol, sous le numéro 952.

Laboratoire de Cytopathologie Saint-Christol-les-Alès (Gard) et Station de Recherches de Lutte Biologique et de Biocénologie La-Minière-par-Verzailles (S.-et-O.).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERGOLD (G. H.). — The multiplication of insect viruses as organisms. *Can. J. Research E* 28, 1950, 5, 11.
- LÉPINE (P.), VAGO (C.) & CROISSANT (O.). — Mise en évidence au microscope électronique du virus de la polyédrie de *Plusia gamma* L. (Lepidoptera). *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 85, 170.
- VAGO (C.) & AMARGIER (A.). — Coloration histologique pour la différenciation des corps d'inclusion polyédriques des virus d'insectes. *Ann. Epiphyt.*, 1963, 14, 3, 269-275.
- VAGO (C.) & CAYROL (R.). — Une virose à polyèdres de la Noctuelle gamma *Plusia gamma* L. (Lepidoptera). *Ann. Epiphyt.*, 1955, 4, 421-432.
- VAGO (C.), CROISSANT (O.) & LÉPINE (P.). — Intérêt de la méthode histologique dans la caractérisation au microscope électronique des virus d'insectes. *Ann. Inst. Pasteur*; 1962, 102, 749-753.

