

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DEVELOPPEMENT EN COOPERATION
(ORSTOM)
CENTRE D'ADIOPODOUME
B.P. V51 ABIDJAN (Côte d'Ivoire)

Laboratoire d'Entomovirologie

RAPPORT DE MISSION

- Contribution à l'étude de la pathogénie de trois virus
libres de Lépidoptères Limacodidae sur
Spodoptera littoralis (Noctuidae)
- Mise en évidence de nouveaux virus entomopathogènes.

par

Gilles FEDIERE

20 au 30 juin 1985

Laboratoire de Virologie
Station de Recherches INRA-CNRS
de Saint-Christol-les-Alès (France)

INTRODUCTION

La virologie, pour la mise en évidence et caractérisation de nouveaux virus, nécessite l'utilisation permanente d'un microscope électronique. Il en est de même à chaque étape de contrôle, lors de la préparation de suspensions virales en vue de leur utilisation comme insecticide biologique.

Jusqu'en 1984 le personnel du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé avait à sa disposition, deux matinées par semaine, le microscope du Groupe d'Etude et de Recherche en Microscopie Electronique (GERME). Depuis cette date, ce matériel n'est plus en état de marche. Le laboratoire d'Entomovirologie a donc demandé à effectuer une mission à la Station de Recherches INRA-CNRS de Pathologie comparée de St-Christol-les-Alès (France) pour y réaliser les travaux ne pouvant se faire en Côte d'Ivoire.

Cette mission s'est effectuée du 20 au 30 juin 1985. Elle s'est déroulée dans d'excellentes conditions grâce à l'appui logistique du laboratoire de Virologie de cette station.

I. OBJECTIF DE LA MISSION

I.1. Contribution à l'étude de la pathogénie de trois virus libres de Lépidoptères Limacodidae sur *Spodoptera littoralis* (Lép. Noctuidae)

Les larves de certaines espèces de Lépidoptères Limacodidae pullulent périodiquement dans les plantations industrielles de palmiers à huile, cocotiers et bananiers en Côte d'Ivoire. Des virus particulièrement pathogènes pour trois de ces espèces ont été mis en évidence et caractérisés au laboratoire d'Entomovirologie du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé et au laboratoire de Virologie

de la Station INRA-CNRS de Saint-Christol-les-Alès. Il s'agit des trois virus suivants :

- Densovirus de *Casphalia extranea* (défoliateur du palmier à huile et du cocotier) (1) (4).
- Picornavirus de *Latoia viridissima* (défoliateur du palmier à huile et du cocotier) (2)
- Picornavirus de *Teinorhyncha umbra* (défoliateur du bananier) (3).

Ces virus sont capables, en provoquant des épizooties, d'assurer le contrôle des populations de ravageurs en plantations.

Au vue de ces potentialités en lutte biologique, il nous a paru intéressant d'effectuer des tests de pathogénicité, sur des espèces de ravageurs appartenant à d'autres familles de Lépidoptères et en particulier sur *Spodoptera littoralis*, ravageur du cotonnier.

Ces travaux ont été menés à la Station INRA de lutte biologique de La Minière, à partir de suspensions virales extrêmement purifiées que nous leur avons procurées.

Des résultats positifs furent obtenus pour les trois souches virales. Il nous appartenait donc de vérifier dans les cadavres des insectes infectés la présence de l'agent pathogène.

I.2. Mise en évidence de nouveaux virus entomopathogènes

a) Chez *Latoia vivida* (Lépidoptère Limacodidae)

Cet insecte a été signalé comme ravageurs des cultures en Côte d'Ivoire sur café et cacao et au Zaïre et en Ouganda sur thé, coton et arachide. Nous l'avons observé en pullulation à Adiopodoumé en novembre 1984 sur *Ricinus communis* (Euporbiacée)

puis en décembre 1984 sur *Phaseolus vulgaris* (Leguminosée).

Un élevage en masse des larves de cette espèce au laboratoire nous a permis d'observer l'apparition d'une maladie causant la mort rapide d'un grand nombre d'individus.

Après purification d'un broyat de larves infectées et passage sur gradients de densité de saccharose, il nous est apparu que l'agent pathogène pourrait être un virus.

Les tests sérologiques de parenté immunologique effectués contre les antisérums correspondants aux virus déjà connus du laboratoire furent négatifs. Il restait donc à pratiquer une observation en microscopie électronique de cette suspension virale.

b) Chez *Pteroteinon laufella* (Lépidoptère Hesperidae) et *Turnaca rufisquamata* (Lépidoptère Notodontidae)

Les larves de ces deux espèces défolient périodiquement de grands surfaces sur les plantations industrielles de palmiers à huile. Le service entomologie de la Station IRHO de La Mé nous ayant fait parvenir un lot de larves malades de chacun de ces deux ravageurs, nous avons procédé aux mêmes expériences que décrites précédemment et des résultats analogues ont été obtenus.

II. RESULTATS

II.1. Recherche de virus chez des larves de *Spodoptera littoralis* infectées expérimentalement

Les chenilles sont broyées dans un tampon phosphate M/20 à pH : 7,4. Le broyat est clarifié pendant 10 minutes à 15.000 g. Une fraction des culots obtenus est observée entre lame et lamelle au microscope photonique. Les trois lots présentent

en proportions égales un très grand nombre de polyèdres. A ce stade de l'observation nous ne pouvons affirmer s'il s'agit d'une polyèdre cytoplasmique d'ue à un Réovirus, ou nucléaire d'ue à un Baculovirus.

Les surnageants de clarification sont ultracentrifugés pendant 1h.30 à 150.000 g. Chaque culot est homogénéisé dans 2 ml de Tampon. Les différentes fractions sont clarifiées pendant 10 minutes à 15.000 g et les suspensions obtenues sont alors observées en microscopie électronique après contraste négatif à l'ATP.

Des résultats identiques sont obtenus à partir des trois lots.

Qu'il s'agisse des larves infectées avec le Densovirus de *Casphalia*, le Picornavirus de *Latoia* ou celui de *Teinorhyncha*, les suspensions présentent chacune trois types de particules : des capsides vides bacilliformes, mesurant entre 200 et 300 nm de longueur, des particules icosaédriques de 30 nm de diamètre de type Picornavirus, ces dernières en grand nombre, et quelques particules icosaédrique de 20 nm de diamètre de type Densovirus (Fig. 1, 2 et 3). Les premières particules peuvent correspondre à des capsides vides de Baculovirus, qui seraient à l'origine des polyèdres observés. Pour identifier les particules virales de type Picornavirus et Densovirus nous avons purifié les suspensions par passage sur gradient de Rénografine (20% - 76%) pendant 13h à 200.000 g. Les suspensions obtenues après dialyse nous ont permis de pratiquer des tests sérologiques en gel d'agarose. Nous avons essayé de mettre en évidence des parentés immunologiques entre les virus libres observés et cinq virus connus : le virus de la paralysie aigue du criquet (CRPV), les Picornavirus de *Latoia* et de *Teinorhyncha*, et les Densovirus de *Junonia* et de *Casphalia*. Les résultats furent négatifs et les virus présents dans les cadavres de *Spodoptera littoralis* ne semblent pas reliés à des virus connus.

II.2. Un virus de type Nudaurelia β chez *Latoia vivida*

Nous avons observé au microscope électronique une suspension purifiée d'un nouveau virus mis en évidence chez des larves malades de *Latoia vivida*. Les particules sont libres, de forme icosaédrique et mesurent entre 38 et 40 nm de diamètre (Fig. 4). La taille nous suggère de rapprocher ces virions du groupe du virus Nudaurelia β . Sa caractérisation nous permettra de le confirmer.

II.3. Un Picornovirus chez *Turnaca rufisquamata*

Selon la même procédure nous avons observé une suspension virale obtenue à partir de cadavres de larves de *Turnaca rufisquamata*. Les particules également libres, de forme icosaédrique, mesurent cette fois-ci entre 30 et 32 nm de diamètre et nous font penser à un virus de type Picornovirus (Fig. 5).

II.4. Deux virus chez *Pteroteinon laufella*

De la même façon nous avons mis en évidence deux virus libres chez les larves de *Pteroteinon laufella*. Le premier type de virion, dont le diamètre varie entre 28 et 30 nm, semble se rapprocher des Picorn virus (Fig. 6). Le deuxième d'un diamètre supérieur, entre 36 et 38 nm, serait plus proche du groupe du virus Nudaurelia β .

CONCLUSION

Quatre nouveaux virus ont été mis en évidence chez des lépidoptères ravageurs de culture. Il nous semble intéressant, de tester maintenant leur potentialité en lutte biologique puisqu'ils provoquent déjà naturellement des épizooties dans les populations, et, dans l'immédiat, de procéder à leur caractérisation.

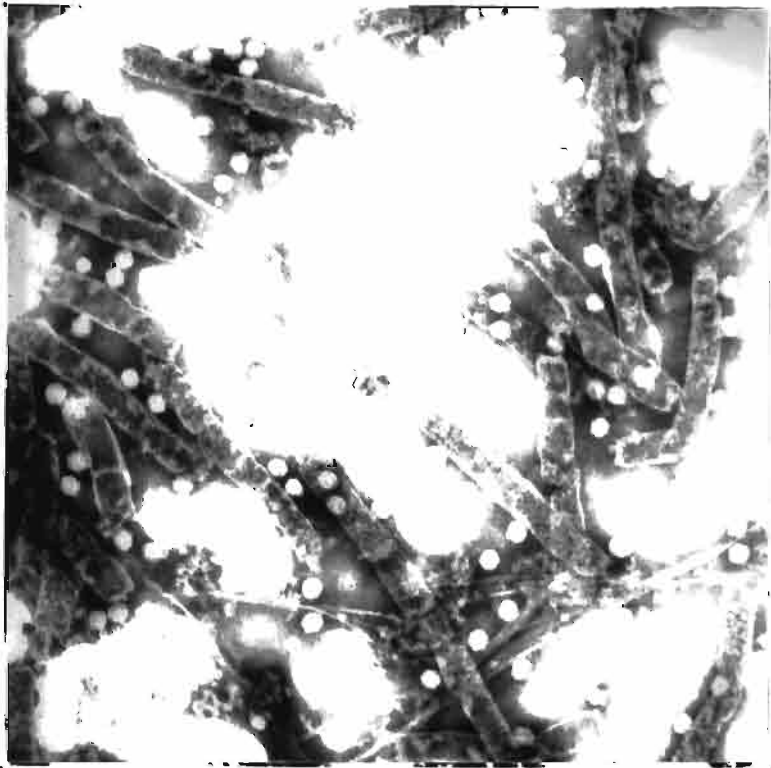
Le ou les agents pathogènes ayant causé la mort des larves de *S. littoralis* ne semblent pas être les virus utilisés pour l'infection ; mais il faudrait confirmer ces observations par des tests immunologiques plus fins et être en possession d'une plus grande quantité de matériel infecté.

BIBLIOGRAPHIE

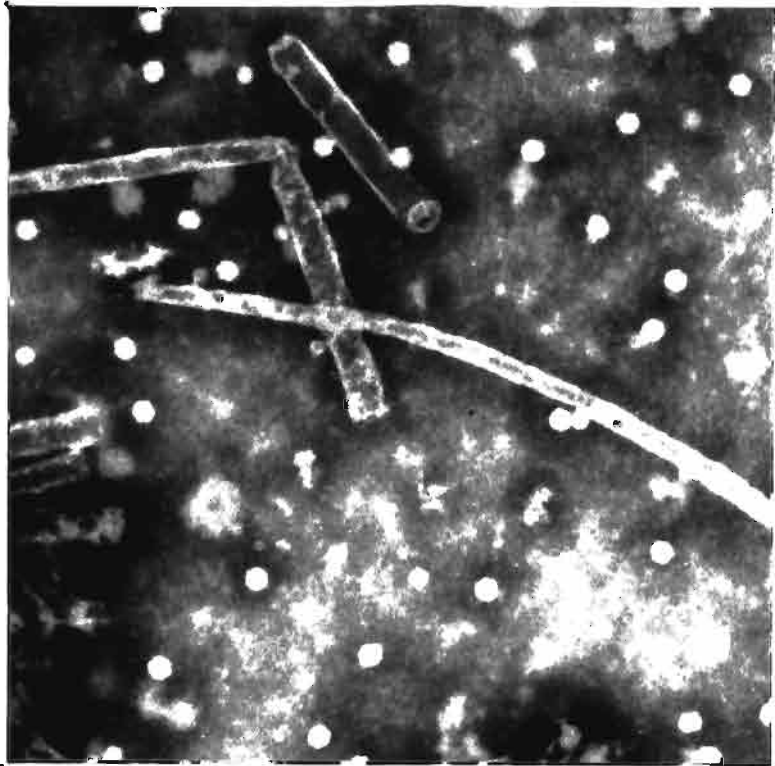
1. FEDIERE, G. 1983.
Recherches sur des viroses épizootiques de Lépidoptères Limacodidae ravageurs de palmacées.
Thèse de Doctorat de 3è cycle. 130 p., 28 pl.,
U.S.T.L. Montpellier.
2. FEDIERE, G., MONSARRAT, P. & PHILLIPE, R. 1984. Biological control of a limacodid, oil palm pest in Ivory Coast, by use of a small isometric virus. Communication au 1er symposium régional sur la lutte biologique (3-5 septembre 1984, Serdang, Malaisie).
3. FEDIERE, G. & MONSARRAT, P. 1985. Mise en évidence d'une virose épizootique chez *Teinorhyncha umbra* Lépidoptère Limacodidae défoliateur du bananier en Côte d'Ivoire. Communication à la 4è conférence internationale sur l'impact des maladies à virus sur le développement des pays d'Afrique et du Moyen-Orient (14-19 avril 1985, Rabat, Maroc).
4. FEDIERE, G., MONSARRAT, P. & MARIAN, D. 1986. Biological control of *Casphalia extranea* (Lepidoptera Limacodidae) defoliator of oil palm and coconut in Ivory Coast by a new Densovirus. Communication à la 2è Conférence internationale sur la protection des plantes sous les tropiques (17-20 mars 1986; Kuala Lumpur, Malaisie (en préparation)).

Fig. 1 : Suspension virale obtenue à partir de *S. littoralis* infecté par le Densovirus de *Casphalia*. X 75.000.

Fig. 2 : Suspension virale obtenue à partir de *S. littoralis* infecté par le Picornavirus de *Latoia*. X 90.000.



①

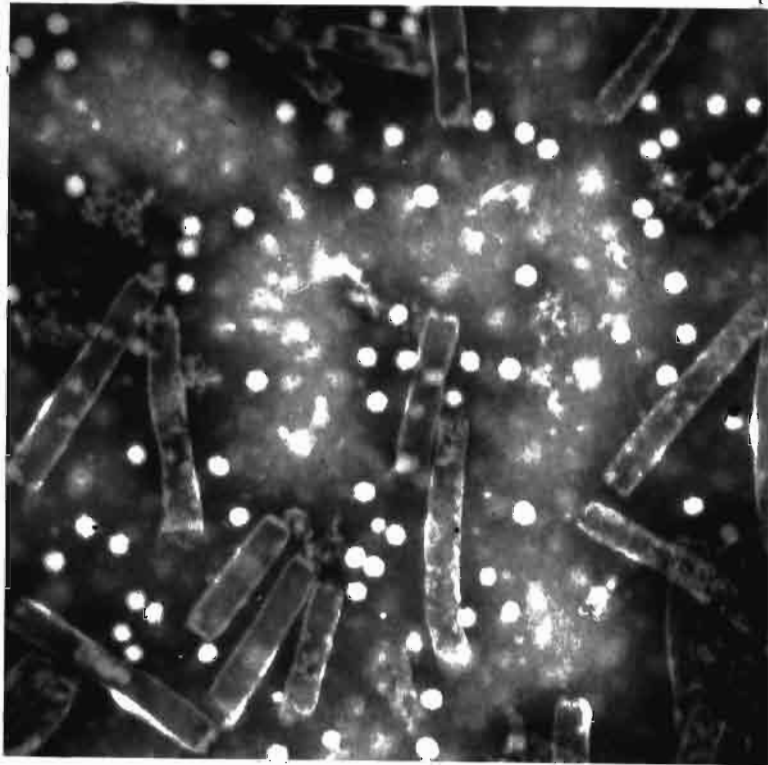


②

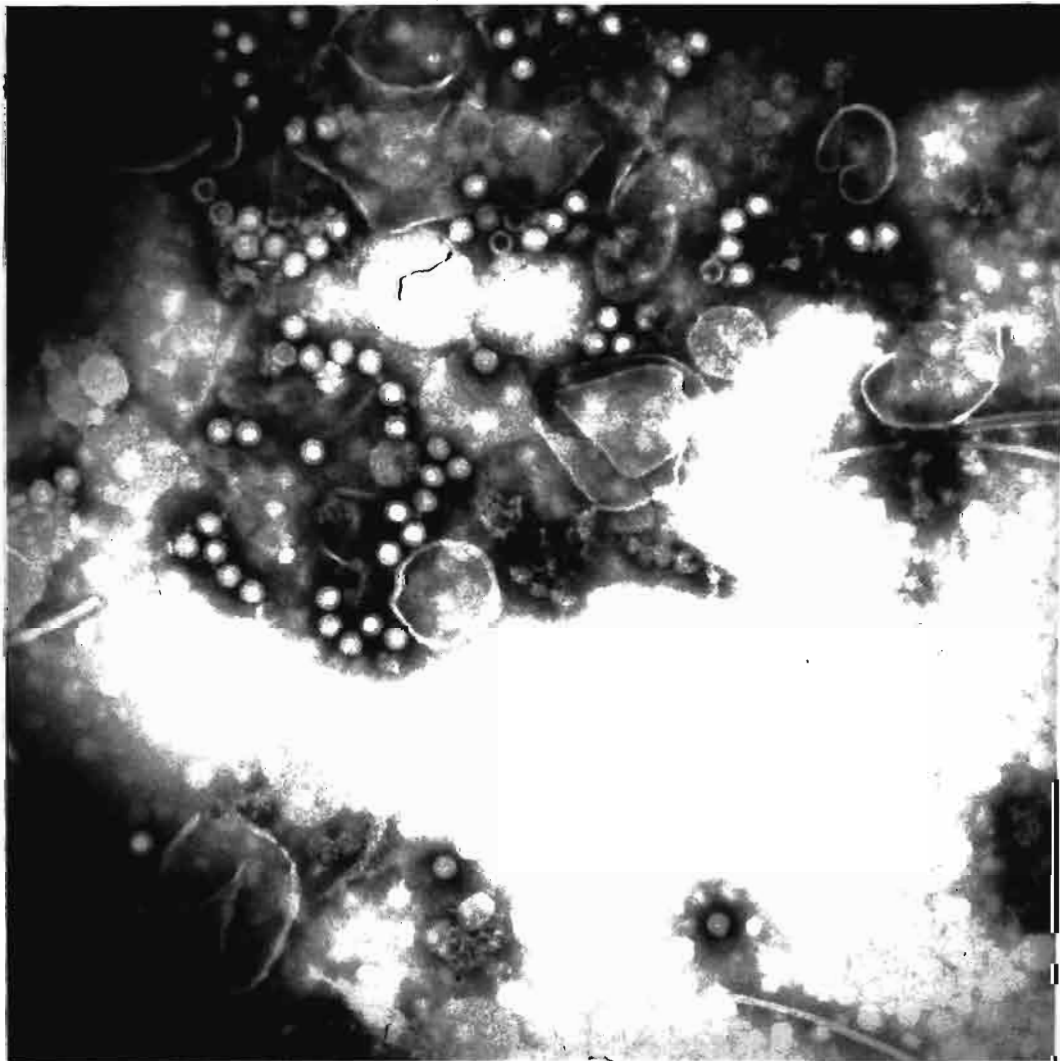
Fig. 3 : Suspension virale obtenue à partir de *S. littoralis*
infecté par le Picornavirus de *Teinorhyncha*.
X 90.000.

Fig. 4 : Suspension du virus de *Latoia vivida* après contraste
négatif à l'acide phosphotungstique. Quelques capsides
apparaissent vides.

X 90.000



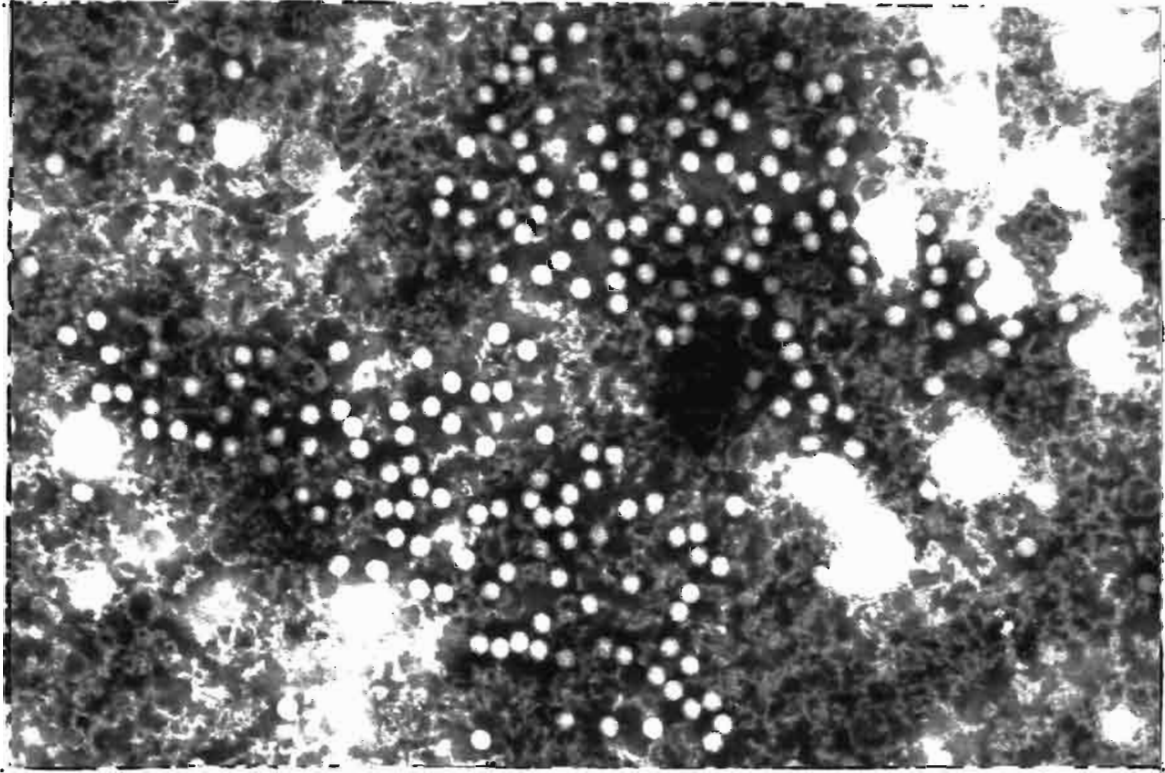
3



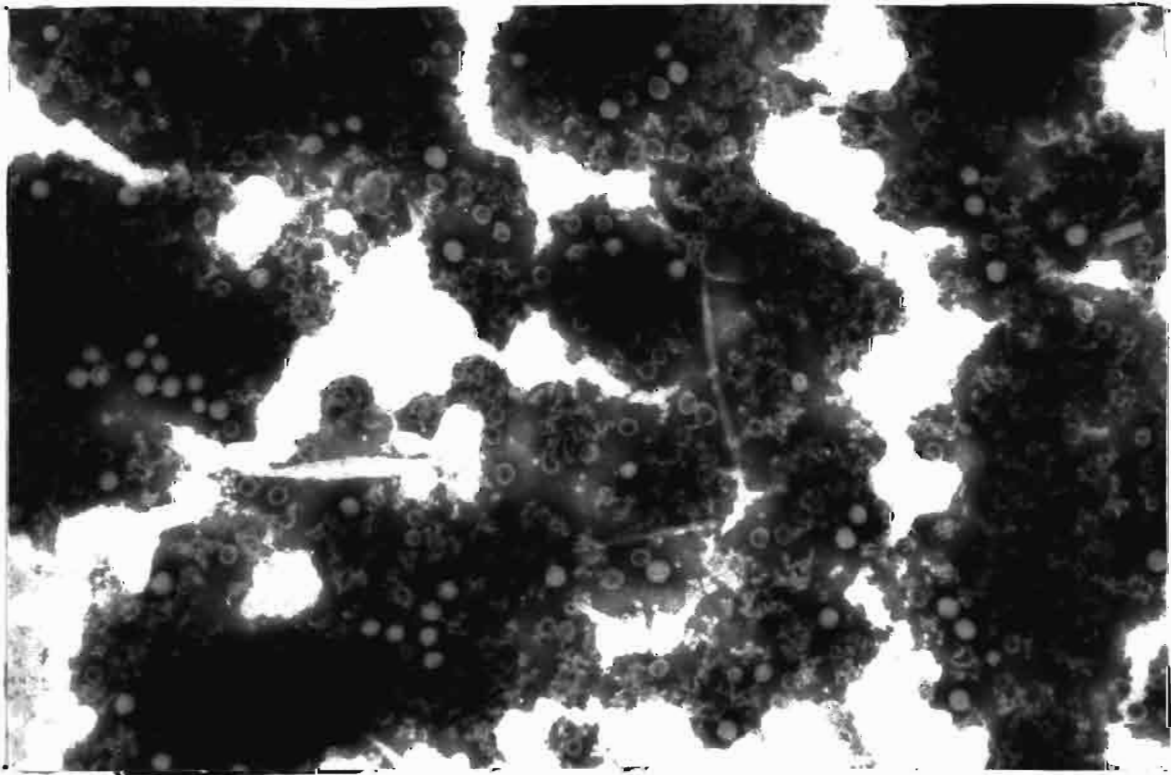
4

Fig. 5 : Suspension purifiée du virus de *Turnaca rufisquamata*
après contraste négatif à l'acide phosphotungstique.
X 90.000

Fig. 6 : Suspension contenant les deux virus de *Pteroteinon*
laufella après contraste négatif à l'acide
phosphotungstique.
X 80.000



5



6