

OBSERVATION D'UN MICRO-ORGANISME
D'UN TYPE INHABITUEL
CHEZ UN INSECTE HOMOPTÈRE

PAR

J. GIANNOTTI, P. ^{jean-luc}MONSARRAT, C. VAGO & J. L. DUTHOIT

On sait depuis longtemps que de nombreux Insectes Homoptères hébergent de manière constante ou occasionnelle des types différents de micro-organismes. Avec l'évolution rapide des études cytologiques des tissus de ces Insectes au microscope électronique, la structure de certains de ces micro-organismes a pu être précisée. Ainsi, à côté des symbiontes on a noté des éléments intracytoplasmiques non constants de type viral, bactérien ou mycoplasmique. Certains de ceux-ci, des virus et des mycoplasmes ont été observés dans les cellules des Cicadelles (HIRUMI & al. 1967, GIANNOTTI & al. 1968, GRANADOS 1969), des Pucerons (SYLVESTER & RICHARDSON 1970) et des Psylles (HIROYOUKI & al. 1971), et ont été mis en rapport avec des maladies de plantes transmises par ces Insectes. Mais d'autres, n'ont pu être expérimentalement liées à une maladie de plante. Il s'agit par exemple de virus observés chez *Myzus persicae* SULZ (MOERICKE 1963), *Ropalosiphon maidis* FITCH (PARRISH & BRIGGS 1966) *Endria inimica* SAY (PETER 1965) et d'autres Homoptères (MAILLET & FOLLIOT 1967) ou de mycoplasmes notés chez *Typhlocyba douglasi* EDW (MAILLET & al. 1968) ou encore de bactéries gram + étudiées chez *Euscelis plebejus* FALL. (en préparation). Au cours de l'étude de la virose Fidji de la Canne à sucre (GIANNOTTI & al. 1968) nous avons entrepris l'examen en cytologie au microscope électronique des tissus du Delphacidae *Perkensiella saccharicida* KIRK., considéré comme le vecteur de cette maladie. Nous avons noté dans le tissu adipeux de cet Insecte des micro-organismes qui par leur structure et leur localisation n'ont pu être directement rattachés aux germes connus comme symbiontes, agents pathogènes ou germes transmis chez les Insectes Homoptères. La nature de ces micro-organismes peut être mieux comprise si on tient compte des analogies qu'ils présentent avec un type nouveau d'agent pathogène récemment mis en évidence chez les Coléoptères (VAGO & al. 1971; GIANNOTTI & al. 1972). Nous avons envisagé leur étude en tenant compte du cas particulier posé par leur présence dans un Insecte vecteur de maladies de plantes.

Matériel et méthodes

Des *Perkensiella* adultes sont récoltés à Madagascar dans deux stations éloignées l'une de l'autre d'environ 100 km. La première station est située à la Menarano à l'Est de l'île et la deuxième à Ivoloïna près de Tamatave. Les Insectes sont disséqués sur

place et de petits fragments de tissu adipeux sont fixés selon la technique de Millonig à l'acide osmique à 2 % dans un tampon phosphate à 0,1 M à pH 7,4 à la température de 4 °C. Les pièces sont déshydratées et incluses à l'araldite. Les coupes ultrafines sont contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb et observées au microscope électronique.

Observations et discussion

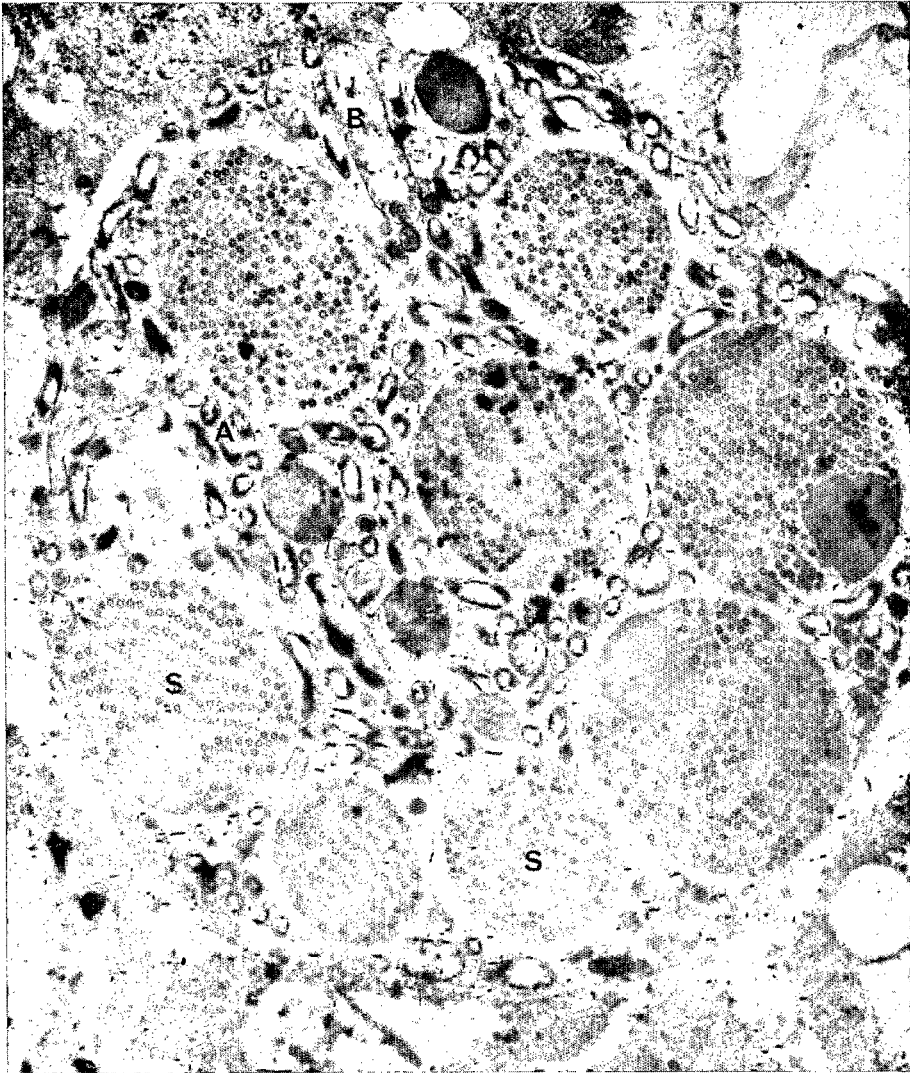
On note dans les cellules adipeuses des insectes prélevés à la Menarano de vastes enclaves cytoplasmiques renfermant différents types d'éléments. Ces enclaves sont ovoïdes de 10 à 20 μ de diamètre. Elles sont limitées par une membrane cytoplasmique et correspondent à une vacuole (fig. 1). Les éléments que renferment ces vacuoles sont de forme et de structure variable. On peut les ranger en deux groupes.

Le premier comprend des éléments d'allure bacilliforme et de taille variable. Les plus petits ont un diamètre d'environ 250 à 300 m μ (fig. 1 et 2 A). Leur longueur peut atteindre près d'un micron. Quelques-uns peuvent atteindre 0,8 μ de large et plus de deux microns de long (fig. 1 B). Ils ont une structure interne relativement peu dense. On y distingue des fibrilles de matériel nucléaire et des granules ribosomiens de type bactérien. D'autres éléments sont de forme plutôt globuleuse et même ovoïde. Les uns ont une structure interne relativement dense. Chez d'autres encore on remarque des fibrilles nucléaires occupant une large zone centrale assez claire tandis que leur région périphérique est riche en ribosomes. Tous ces corpuscules sont limités par une enveloppe correspondant à une membrane unitaire (fig. 2 et 4 MU). Des éléments de taille intermédiaire permettent de passer d'une forme à l'autre. On note encore que des éléments de taille moyenne ou même grande semblent en cours de division. Quelques formes se rencontrent parfois en dehors des grandes vacuoles. Elles sont le plus souvent séparées du cytoplasme environnant par une membrane cytoplasmique.

Les éléments polymorphes sont régulièrement accompagnés, dans les vacuoles, par un deuxième groupe de corps ayant l'aspect de sphéroïdes de 3 à 5 μ de diamètre et de structure complexe (fig. 1-2 S). Ils ont une membrane limitante analogue à une membrane unitaire et souvent plissotée. Dans tous les cas observés, ces sphéroïdes sont remplis de corpuscules ayant environ 90 m μ de diamètre (fig. 1-2 C). Ils se répartissent plus ou moins régulièrement dans une substance comprenant des granules de la taille des ribosomes bactériens (fig. 2 R). Ces derniers sont parfois plus densément répartis dans une mince zone périphérique. Chez quelques sphéroïdes la masse des corpuscules est découpée par des travées riches en fibrilles analogues à celles qui forment le matériel nucléaire (fig. 2 F). On remarque enfin, dans beaucoup de cas, une masse homogène assez dense aux électrons de texture finement granuleuse dont le diamètre est de l'ordre d'un micron

FIG. 1, vue d'ensemble d'une vacuole. — A : éléments bacilliformes de petite taille. — B : éléments de grande taille. — S : corps sphéroïdes remplis de corpuscules (C) \times 11 200.

FIG. 2, formes allongées. MU : membrane unitaire. \times 68 000.



(fig. 3 MG). Cette masse peut renfermer quelques corpuscules ayant le même aspect que ceux qui s'accumulent dans le sphéroïde.

En ce qui concerne ces corpuscules, l'étude de leur structure montre qu'autour d'un centre assez transparent aux électrons, d'environ 20 à 25 m μ de diamètre, se disposent plusieurs zones concentriques. Les couches internes et externes sont moyennement contrastées et paraissent séparées par une fine couche fortement opaque.

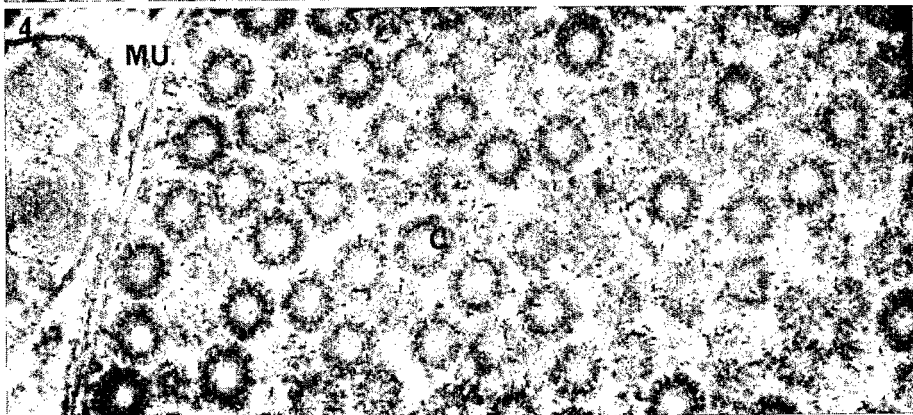
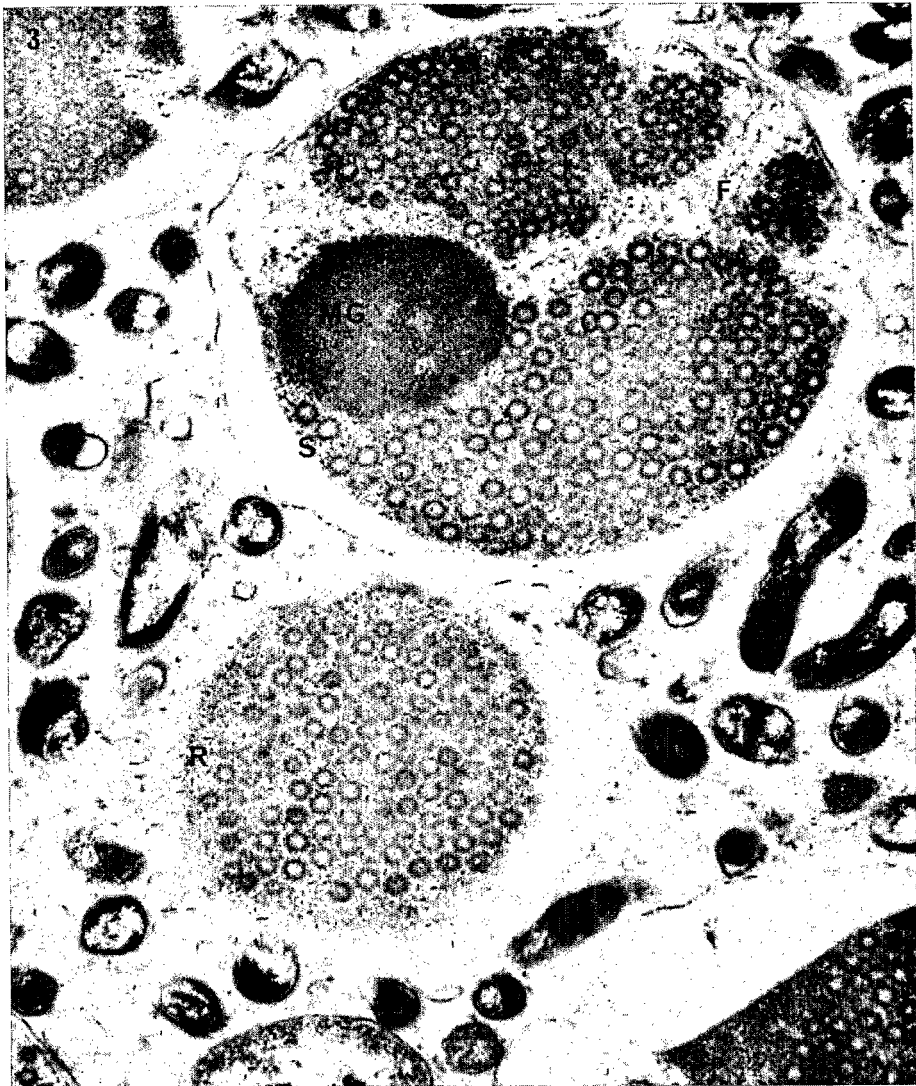
Parmi les formes présentes dans les vacuoles des cellules adipeuses de *P. saccharicida*, celles d'allure bactéroïde rappellent par leur structure et leur polymorphisme des micro-organismes de type mycoplasme. Mais la présence des sphéroïdes à corpuscules ne permet pas des analogies plus poussées. Par contre, ces derniers et l'aspect général des vacuoles qui les renferment évoquent de près les formations qui accompagnent le développement d'un nouveau type de micro-organisme pathogène étudié expérimentalement et en microscopie électronique chez son hôte le Coléoptère *Melolontha melolontha* (VAGO & al. 1971; GIANNOTTI & al. 1972). En effet, chez cet Insecte atteint par la « léthargie », on remarque notamment dans les cellules adipeuses, de vastes vacuoles renfermant des éléments limités par une membrane unitaire. Certains, encore pourvus de matériel nucléaire et de ribosomes s'hypertrophient et se transforment en un conglomerat de particules ayant 100 m μ de diamètre et dont le centre est peu contrasté. Ces conglomerats par leur taille et leur structure semblent analogues aux sphéroïdes intravacuolaires des cellules adipeuses de *P. saccharicida*. On peut supposer que ces derniers dérivent eux aussi d'éléments de taille plus petite. Ainsi toutes les formes observées dans ces vacuoles représenteraient un même micro-organisme. On doit toutefois remarquer que chez *P. saccharicida* les corpuscules notés dans les sphéroïdes, étant donné leur structure, leur taille régulière et leur contraste, évoquent plus fortement des particules de virus que les éléments rassemblés dans les conglomerats de l'agent de la léthargie.

En ce qui concerne l'origine et la destinée de tous ces éléments il ne nous est pas encore possible de nous prononcer. Nous devons tenir compte de la position particulière de *P. saccharicida* en tant que vecteur et des relations encore peu connues que de tels Insectes peuvent contracter avec différents types d'agents infectieux et notamment des germes pathogènes de plantes.

Les travaux se poursuivent actuellement sur plusieurs plans. Il s'agit de comparer de manière plus approfondie les formes notées chez *P. saccharicida* avec celles caractérisant le développement de l'agent de la léthargie. Il s'agit aussi de déterminer si nous sommes en présence d'un germe propre aux insectes ou d'un germe transmis, l'association obligatoire du micro-organisme et de l'Insecte paraissant exclue en tout état de cause.

FIG. 3, vue d'ensemble d'un sphéroïde. — S : sphéroïde. — C : corpuscules. — R : ribosomes. — F : fibrilles probablement d'origine nucléaire. MG : masse granuleuse dense aux électrons. $\times 37\,500$.

FIG. 4, détail d'un sphéroïde. MU : membrane unitaire; C. : corpuscules. $\times 85\,000$.



SUMMARY

J. GIANNOTTI, P. MONSARRAT, C. VAGO & J. L. DUTHOIT : An unusual type of micro-organism in Homopterous Insect.

The fat body of the Fulgoride *P. saccharicida* captured in the Menarano region of Madagascar presents large vacuola more or less spherical, 10 to 20 μ in diameter. Inside, are seen polymorphic microorganisms, 2 to 5 μ wide, resembling mycoplasma and spherical bodies. These later contain numerous particles, 90 nm in diameter, nuclear fibrills and at their periphery ribosomes. This complexe composition suggests that these spherical bodies could derive from mycoplasma smaller than them. If so, all the elements in the vacuola could originate from a unique type of microorganism. The polymorphism, localisation and developmental cycle of the observed elements strongly recall the bodies already observed in the insect *M. melolontha* suffering from lethargy disease. Their presence in an insect vector of plant diseases rises the problem of their origin. They represent either plant pathogens picked up by the insect either specific pathogens of the insect itself.

BIBLIOGRAPHIE

- GIANNOTTI, J., DEVAUCHELLE, G. & VAGO, C., 1968. — Micro-organismes de type mycoplasme chez une Cicadelle et une plante infectée par la phylloïdie. — *C. R. Acad. Sc.*, **266**, p. 2168-2170.
- GIANNOTTI, J., MONSARRAT, P. & VAGO, C., 1968. — Structure des corps X des tumeurs foliaires de Cannes à sucre atteintes de la maladie de Fidji. — « Études de Virologie » *Ann. Epiphyties*, **19** (HS), p. 31-36.
- GIANNOTTI, J., VAGO, C., MEYNADIER, G., DEVAUCHELLE, G. & LOUIS, C., 1972. — Recherches sur le développement de l'agent de la léthargie de *Melolontha melolontha* L. — Colloque SFME, Nantes, mai 1972.
- GRANADOS, R. R., 1969. — Electron microscopy of plants and insect vectors infected with the corn stunt disease agent. — *Control Boyce Thompson Inst.*, **24**, 173-188.
- HIROYOKI H., KALOOSTIAN, G. H., & SCHNEIDER, H., 1971. — Mycoplasma like bodies in the Pear Psylla vector of Pear Decline. — *Virology*, **43**, p. 34-40.
- HIRUMI, H., GRANADOS, R. R., & MARAMOROSCH, K., 1967. — Electron microscopy of a plant pathogenic virus in the nervous system of its insect vector. — *Virology*, **1** (2), p. 430-444.
- MAILLET, P. L., GOURRET, J. P., & HAMON, C., 1968. — Sur la présence de particules de type Mycoplasme dans le liber de plantes atteintes de maladies du type « jaunisse » (Aster yellow, Phylloïdie du Trèfle, stolbur de la Tomate) et sur la parenté ultrastructurale de ces particules avec celles trouvées chez divers Insectes homoptères. *C. R. Acad. Sc.*, **266**, p. 2309-2311.
- MOERICKE, V., 1963. — Ubervirus artige Körper in Organen von *Myzus persicae* (SULZ). — *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz*, **70**, p. 464-470.
- MAILLET, P. L., & FOLLIOT, R., 1967. — Sur la présence d'un virus dans le testicule chez un Insecte homoptère. — *C. R. Acad. Sc. Paris*, **264**, p. 2828-2831.
- PARRISH, W. B., & BRIGGS, I. D., 1966. — Morphological identification of virus like particles in the corn leaf Aphid, *Rhopalosiphum maidis* (FITCH). — *J. Inv. Pathol.*, **8**, p. 122-123.
- PETER, E. L., 1965. — Viruslike particles in the Salivary glands of apparently virus free Leafhoppers. — *Virology*, **25** (3), p. 471-472.
- SYLVESTER, E. S., & RICHARDSON, J., 1970. — Infection of *Hyperomyzus Lactucae* by Southisthly yellow vein virus. — *Virology*, **42**, p. 1023-1042.
- VAGO, C., GIANNOTTI, J., MEYNADIER, G., DEVAUCHELLE, G., & DUTHOIT, J. L., 1971. — Recherches étiologiques sur la « léthargie » des Coéloptères. — *C. R. Acad. Sc.*, **273**, p. 260-263.

(Station de Recherches cytopathologiques
I.N.R.A.-C.N.R.S., F 30380 St. Christol-les-Alès
et
Services Scientifiques centraux, O.R.S.T.O.M.
70 à 74 route d'Aulnay, F 93140 Bondy.)

- 4 JUNI 1972
Extrait des Annales de la S.E.F. — Tome 9 — 1973

MASSON & C^{ie}, Éditeurs
120, boulevard Saint-Germain, Paris-6^e

Collection de Référence
n° 6204 P. 121