

**AFPP – 8^{ème} CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 5 ET 6 DÉCEMBRE 2006**

**ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ BIOLOGIQUE D'UN GRANULOVIRUS POUR LE CONTRÔLE
DE LA TEIGNE GUATÉMALTEQUE DE LA POMME DE TERRE *TECIA SOLANIVORA*,
POVOLNY (1973)**

F. REBAUDO^{1,2}, O DANGLES^{1,2}, X. LERY³, M. LOPEZ-FERBER⁴, J-L. ZEDDAM^{1,2}

¹: IRD, Whymper 442 y Coruña, Apartado 17-12-857, Quito, Equateur

²: PUCE, Av. 12 de Octubre 1076 y Roca, Apartado 17.01.2184, Quito, Equateur

³ IRD, Laboratoire de Pathologie, 158, Av. Charles de Gaulle, 30380 Saint-Christol-les-Alès, France

⁴ LGEI, 6, Avenue de Clavières, 30319 Alès, France

RÉSUMÉ :

La teigne guatémaltèque de la pomme de terre *Tecia solanivora* Povolny (1973) est un ravageur introduit en 1996 dans le Nord de l'Equateur et qui, depuis, s'est répandu dans toutes les zones de production de pommes de terre du pays. Diverses institutions mènent des travaux sur la lutte intégrée contre ce ravageur. Un virus entomopathogène, le granulovirus de *Phthorimaea operculella*, PhopGV, est un candidat potentiel pour la formulation d'un biopesticide. Dans ce travail, les activités biologiques de deux isolats de PhopGV, PoGV-1346 (référence d'origine tunisienne) et JLZ9f (souche équatorienne) ont été comparées au moyen d'une méthode de nébulisation efficace, précise et répétable (homogénéité de nébulisation de 94% et répétitivité de 95,8%). Chez les larves néonates de *T. solanivora*, la CL50 obtenue pour l'isolat JLZ9f a été de 9,98 granules/mm² (IC_{95%} = [5,82; 16,03]) soit 6 fois inférieure à celle de l'isolat PoGV-1346 pour lequel a été établie une CL50 de 60,67 granules/mm² (IC_{95%} = [39,03 ; 99,44]).

Mots clés: Bio-essais, virus entomopathogène; variants viraux; Equateur.

SUMMARY :

**BIOLOGICAL EFFICACY OF A GRANULOVIRUS FOR THE CONTROL OF THE
GUATEMALA POTATO TUBER MOTH *TECIA SOLANIVORA*, POVOLNY (1973)**

The Guatemala potato tuber moth *Tecia solanivora* Povolny (1973) is an invasive pest which entered into Ecuador in 1996. It has now colonized all the potato growing areas of the country and it seriously impacts the production. Several institutions are carrying out works in order to promote an integrated pest management of the pest. The entomopathogenic virus *Phthorimaea operculella* granulovirus (PhopGV) is a potential candidate for being used in a biopesticide formulation. In the present study, the biological activity of two strains of PhopGV, PoGV-1346 (reference strain from Tunisia) and JLZ9f (Ecuadorian strain) were compared using a nebulization device. This technique was efficient, precise and repeatable (94% of nebulization homogeneity and 95,8% of repeatability). In *T. solanivora* neonates, the LC50 calculated for the JLZ9f strain (9,98 OB's/mm²; IC_{95%} = [5,82; 16,03]) was six times lower than the one of the reference PoGV-1346 (60,67 OB's/mm²; IC_{95%} = [39,03; 99,44]).

Key-words: Bio-assays; entomopathogenic virus; viral strains; Ecuador.

INTRODUCTION

Ces dernières années, les agriculteurs équatoriens ont été confrontés à l'introduction de nombreux ravageurs exotiques (Ojasti 2001). Le contrôle de ceux-ci constitue l'un des défis majeurs de l'agriculture nationale. L'une des espèces invasives de grande importance socio-économique est la teigne guatémaltèque de la pomme de terre *Tecia solanivora* Povolny (1973) (*Gelechiidae*, *Lepidoptera*), arrivée en Equateur en 1996 et aujourd'hui considérée comme le principal insecte ravageur de cette culture qui mobilise près de 30 % de la population agricole. Cette espèce s'est implantée dans la zone andine équatorienne mais avait aussi colonisé antérieurement le Venezuela, la Colombie et, plus récemment, les Iles Canaries. *T. solanivora* fait partie du complexe des teignes de la pomme de terre qui comprend également *Phthorimaea operculella* Zeller (1873), *Symmetrischema tangolias* Turner (1919) et *Tuta absoluta* Meyrick (1917). Les agriculteurs, dépourvus de toute autre solution technique, font un usage irraisonné et massif de produits phytosanitaires inefficaces contre *T. solanivora*, et, de plus, hautement toxiques pour l'environnement et l'utilisateur, dans les conditions actuelles d'utilisation.

Dans ce cadre, la recherche d'une méthode de contrôle biologique alternative à l'emploi massif de produits phytosanitaires apparaît de première importance. L'objectif est de développer un biopesticide viral pouvant être utilisé dans le cadre d'une lutte intégrée. Une telle stratégie s'est révélée particulièrement fructueuse pour contrôler *P. operculella*. L'application d'une formulation dans lequel l'agent biologique est le granulovirus PhopGV (Reed, 1969), isolé de *P. operculella*, s'est révélée particulièrement efficace pour contrôler cette teigne au niveau des stockages traditionnels de pomme de terre (Das *et al.*, 1992 ; Ben Salah *et al.*, 1992; Kroschel *et al.*, 1996). Différents isolats de PhopGV ont été trouvés en Equateur sur *T. solanivora* qui est également susceptible à ce pathogène (Zeddami *et al.*, 2003a). Celui-ci se présente donc comme un candidat prometteur en tant qu'agent de lutte biologique contre la teigne guatémaltèque.

L'objectif de cette étude a été de caractériser biologiquement un nouvel isolat équatorien de granulovirus (JLZ9f), candidat potentiel au contrôle de *T. solanivora*. Cette caractérisation s'est basée sur la quantification de la virulence via la détermination de la Concentration Létale Médiane (CL50) de l'isolat JLZ9f en comparaison à celle de l'isolat de référence, PoGV-1346.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

ELEVAGE DE *T. SOLANIVORA*

L'élevage de *T. solanivora* a été établi dans l'insectarium du Laboratoire d'Entomologie Appliquée de la Pontificia Universidad Católica del Equateur (PUCE), à Quito, à partir d'adultes capturés dans la province de Bolivar (Centre de l'Equateur). Afin de limiter la dérive génétique, l'élevage a été régulièrement réapprovisionné en adultes sauvages provenant de différentes provinces d'Equateur. Compte tenu des conditions et contraintes techniques locales, il n'a pas été possible de disposer d'un élevage totalement sain. Un virus non-inclus (virus Anchilibi) est en effet présent à bas bruit dans cet élevage de *T. solanivora*.

MATÉRIEL VIRAL

Deux souches du granulovirus de *Phthorimaea operculella* ont été utilisées. La souche de référence, PoGV-1346 (GenBank n° AF499596), isolée de *P. operculella* est d'origine tunisienne (Carrera *et al.*, 2002). La seconde souche, JLZ9f, provient d'Equateur (Province de Carchi) et a été isolée en 2003 à partir d'une larve de *S. tangolias*.

MULTIPLICATION, PURIFICATION ET QUANTIFICATION VIRALE

Pour la multiplication massive de la souche JLZ9f, des oeufs de *T. solanivora* ont été déposés sur des pommes de terre enduites au pinceau d'une suspension virale préparée à partir de 5 µL de larves de *T. solanivora* infectées par le virus, homogénéisées dans 5 mL d'eau distillée. Environ 20 oeufs ont ensuite été déposés sur chaque pomme de terre placée ensuite à l'obscurité à température ambiante (20-23°C). Environ trois semaines plus tard, les larves infectées ont été récoltées et le virus purifié selon Matthiessen *et al.*, 1978. La souche PoGV-1346 a été multipliée de façon identique mais sur un élevage de *P. operculella* initié à partir de chrysalides d'Egypte et maintenu au Laboratoire de Pathologie de Saint-Christol-les-Alès (Carrera *et al.*, 2003).

La quantification du virus (nombre de granules par mL) a été réalisée par dilution de la suspension virale purifiée dans de l'eau distillée et lecture au spectrophotomètre (Helios β®) de l'absorbance à 450 nm. La relation suivante a été utilisée (Zeddami *et al.*, 2003a):

$$\text{Nombre de granules/mL} = a * (\text{DO}_{450} \text{ du diluat}) * (\text{facteur de dilution})$$

avec $a = 679,9 * 10^6$ (rapport entre le comptage effectué au moyen d'un hémacytomètre type Neubauer et l'absorbance à 450 nm)

Ainsi l'isolat purifié de JLZ9f titrait à $5,04 * 10^{10}$ granules/mL (Gr/ml) et l'isolat PoGV-1346 titrait à $7,5 * 10^{10}$ Gr/ml.

BIO-ESSAIS

La contamination des tubercules par le virus a été réalisée par nébulisation (Carrera *et al.*, 2002 ; Carrera, 2003; Zeddami *et al.*, 2003b). Le système utilisé est constitué 1) d'un nébuliseur médical Pulmo Aid Box Sunrise, DeVilbiss, modèle 5650 dans lequel la suspension virale est introduite et 2) de tubes de PVC constituant la tour de pulvérisation dans laquelle les aérosols générés circulent jusqu'à leur cible.

Le calibrage du système a été réalisé d'abord pour déterminer la quantité de suspension virale réellement déposée sur la surface du tubercule et ensuite pour s'assurer de l'homogénéité et de la répétitivité de la pulvérisation. Pour cela, 2,5 mL d'une solution à 0,5 g/L de bleu de Coomassie Brillant Blue R-250 (simulant la solution virale) ont été nébulisés sur 5 cache-objets cylindriques de 16 mm de diamètre disposés à la base de la tour de pulvérisation. Chaque cache-objet sur lequel s'est déposé l'aérosol a ensuite été lavé dans 200 µL d'eau distillée et l'absorbance de la solution obtenue lue à 556 nm. La quantité de colorant présent sur chaque cache-objet et, par conséquent, le volume d'aérosol déposé par unité de surface ont ainsi pu être quantifiés.

Les doses de virus utilisées pour les bio-essais ont été choisies en tenant compte des concentrations létales médianes rapportées dans la littérature pour *P. operculella* (Carrera *et al.*, 2002 ; Carrera, 2003). Pour l'isolat PoGV-1346, les doses utilisées ont été 0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 ; 10 ; 50 ; 100 ; 500 et 1000 granules/mm². Au vu des premiers résultats obtenus et en fonction des contraintes techniques locales, les doses testées pour l'isolat JLZ9f ont été 0 ; 1 ; 5 ; 10 ; 50 ; 100 et 1000 granules/mm².

Pour chaque nébulisation, 2 pommes de terre d'environ 50 g chacune de la variété Superchola (la plus représentée en Equateur avec la variété Gabriela) ont été utilisées. Les pommes de terre ont été préalablement nettoyées à l'eau courante puis rincées à l'eau distillée. Elles ont été ensuite séchées à l'air libre et enduites de papier aluminium et de ruban adhésif sur leur face inférieure (partie non pulvérisée) afin d'empêcher les larves de consommer cette partie non contaminée. La pulvérisation a été effectuée de la même manière qu'explicitée précédemment pour le calibrage.

Dix oeufs de *T. solanivora* ont ensuite été déposés sur chaque tubercule. Cinq répétitions par dose de virus ont été réalisées.

Les pommes de terre contaminées ont été déposées, par paire, dans des boîtes closes ($\varnothing = 105$ mm de diamètre; h = 60 mm). Les boîtes ont été maintenues à l'obscurité dans une

étuve à 18°C, température optimale pour l'éclosion et la croissance des larves de *T. solanivora* (Notz, 1995).

Une vérification journalière a permis de déterminer la date d'éclosion. Quatre semaines après éclosion, l'expérimentation a été arrêtée. Les larves et pupes mortes ont été comptabilisées, la cause de la mort a été déterminée par l'aspect général de la larve et, en cas de doute, par migration sur gel de polyacrylamide des protéines contenues dans les homogénats larvaires (Laemmli, 1970). Les larves vivantes mais blanchâtres, symptomatiques de l'infection par le PhopGV, ont été comptabilisées comme infectées et les larves d'aspect normal ainsi que les adultes et les pupes vivantes comptabilisés comme sains. Les larves infectées par le virus Anchilibi, présent naturellement dans l'élevage, ont également été identifiées et comptabilisées.

ANALYSES STATISTIQUES

La formule d'Abbott (1925), classiquement utilisée pour corriger la mortalité naturelle dans ce type d'essais, n'a pu être appliquée dans notre étude. L'élevage de *T. solanivora*, malgré son renouvellement, est en effet resté légèrement contaminé par le virus Anchilibi. Les variations observées dans le niveau de multiplication du virus Anchilibi en fonction de la dose de granulovirus ingérée par les insectes ne permettaient pas d'effectuer ce type de correction puisqu'elle aurait dû alors être appliquée de manière systématique et indifférenciée à toutes les doses de granulovirus utilisées.

Les courbes doses-réponses ont été établies en utilisant une régression logistique (Carrera *et al.*, 2002 ; Carrera, 2003; Sporleder *et al.*; 2005) et la méthode du maximum de vraisemblance a permis d'ajuster les courbes aux résultats obtenus pour chaque répétition. La détermination des CL50 ainsi que les régressions ont été réalisées par analyse Probit (Finney, 1971) avec le programme POLO PC (LeOra Software, 1987).

RESULTATS

CALIBRATION DU SYSTEME

Les résultats de la calibration ont mis en évidence une homogénéité de $94 \pm 0,06$ % (représentant la variabilité dans les quantités de solution de bleu de Coomassie retrouvées sur chaque porte-objet lors d'une même pulvérisation) et une répétitivité de $95,8 \pm 0,04$ % (représentant la variabilité de la quantité moyenne par pulvérisation retrouvée sur les porte-objets entre les différentes répétitions). Il n'a été trouvé aucune différence significative entre les répétitions (test de Kruskal Wallis, $Kc = 9,3447$, $n = 5$, $P = 0,09608$). Dans les conditions du laboratoire (Quito se trouvant à environ 2850 m d'altitude), la pulvérisation d'un milligramme de bleu de Coomassie s'est traduite par la récupération de 9,216 ng de bleu/mm², soit un rendement de 10,4% pour le pulvérisateur. C'est-à-dire que sur 1 mm² du disque formant la base de la tour de pulvérisation, on a retrouvé 8,065 ng du milligramme déposé dans le nébuliseur soit 9 % de rendement.

Il a été mis en évidence au Laboratoire de Pathologie de Saint-Christol-les-Alès (Léry; communication personnelle) que le bleu de Coomassie et les granules de la suspension virale présentaient un comportement analogue dans leur dispersion par le pulvérisateur mais à un facteur 10 près. La concentration de bleu qui se dépose sur le tubercule ou le porte-objet est en effet 10 fois plus élevée que celle des granules.

BIO-ESSAIS

Le taux de mortalité observé chez les larves de *T. solanivora* élevées sur les tubercules contaminés par les différentes doses de virus est présenté en Figure 1.

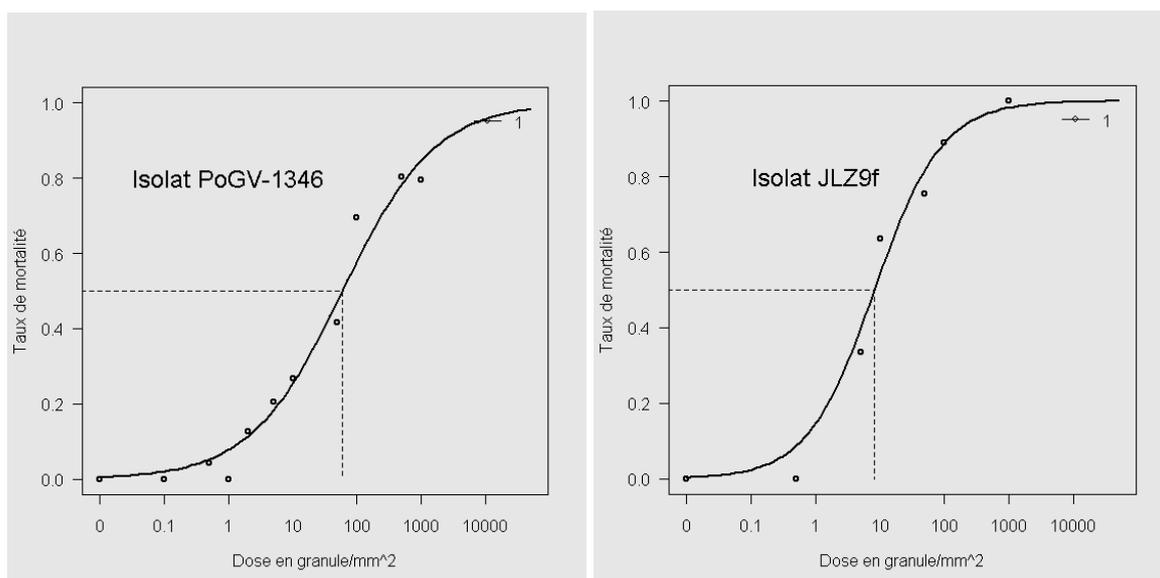


Figure 1 : Courbes dose-réponse de *T. solanivora* aux deux isolats viraux PoGV-1346 et JLZ9f. Les droites en pointillés permettent d'estimer les CL50.

T. solanivora dose-response curve for viral strains PoGV-1346 and JLZ9f. Dotted lines represent CL50.

La qualité de l'ajustement des estimations des équations de régression pour chaque isolat viral est présentée dans le Tableau I. La comparaison des deux régressions montre que les courbes obtenues pour chaque isolat viral sont significativement différentes ($\chi^2 = 35,88$; $n = 3$; $P < 0,005$). Avec une CL50 de 9,98 granules/mm², l'isolat JLZ9f est apparu comme six fois plus efficace que l'isolat PoGV-1346 (CL50 = 60,67 Gr/mm²).

Isolats	Régression		Test Chi2 de l'ajustement	CL50 Gr/mm ²	IC95%
PoGV1346	Y=0,86x-1,53	a	Chi2=56,4 ; ddl=45	60,67	[39,03 ; 99,44]
JLZ9f	Y=1,29x-1,29	b	Chi2=16,2 ; ddl=21	9,98	[5,82 ; 16,03]

Tableau I: Paramètres de régression des courbes dose-réponse des bio-essais et résultats de l'analyse Probit.

Regression parameters of the dose-response curves of the bio-assays and results of Probit analysis.

INTERACTION VIRUS-VIRUS

Les données obtenues lors des bio-essais ont également permis de comparer l'évolution du taux de la mortalité due au virus Anchilibi en fonction de la dose de granules de PhopGV testée (isolat PoGV-1346). Les résultats montrent que pour des concentrations en PoGV-1346 supérieures à 100 Gr/mm² la mortalité liée au virus Anchilibi devient nulle (Figure 2).

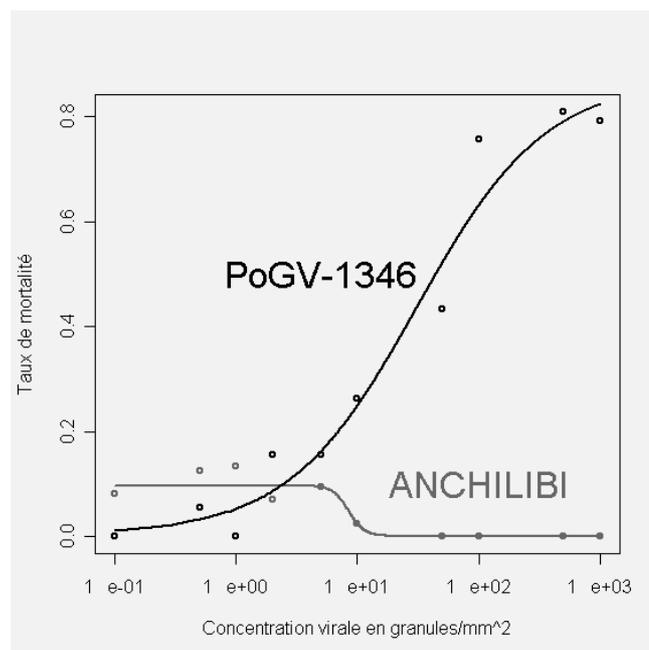


Figure 2 : Taux de mortalité causé par le virus Anchilibi en fonction de la dose de granulovirus (isolat PoGV-1346) appliquée.

Variation in *T. solanivora* mortality rate caused by the virus Anchilibi in relation to the granulovirus (strain PoGV-1346) dose applied.

DISCUSSION

DETERMINATION DE LA CL50

L'absence de milieux artificiels pour *T. solanivora* fait que, pour la réalisation des bio-essais, le virus ne peut être déposé qu'à la surface du tubercule ou des oeufs, la contamination des larves se faisant par ingestion. Pour cette étude, trois techniques de contamination étaient utilisables: 1) la méthode d'immersion des tubercules dans une solution virale puis dépôt d'œufs sur les tubercules contaminés, 2) la méthode d'immersion d'œufs dans une solution virale puis récupération des larves émergentes et dépôt sur des tubercules sains, et 3) la méthode de pulvérisation virale sur des tubercules présentée dans cette étude. Cette dernière a été retenue comme étant la plus adaptée aux objectifs fixés.

La technique de contamination la plus utilisée est la méthode par immersion des tubercules dans une solution virale. Celle-ci est simple et rapide mais induit de nombreux biais expérimentaux. En particulier, les granulovirus sédimentent très rapidement (quelques minutes) et lors du trempage comme de l'égouttage, ils se concentrent sur la face inférieure de la pomme de terre, induisant une contamination hétérogène. Les biais rendent donc difficile la comparaison de résultats émanant d'études différentes, et de plus, la technique de bio-essais par immersion requiert beaucoup de matériel viral (rendement très faible de l'ordre de 1 pour 10^6 – Carrera, 2003).

La technique de pulvérisation des pommes de terre semble donc la plus adaptée. Il n'a pas été utilisé de tour de Potter, classiquement employée pour tester l'efficacité de préparations phytosanitaires. En effet, l'achat de cette tour est onéreux et son utilisation fastidieuse, réduisant donc son intérêt pour des travaux ponctuels conduits dans les pays en voie de développement (Carrera *et al.*, 2002; Carrera, 2003).

L'importance de la valeur de la CL50 dans l'utilisation des virus en méthode de contrôle est déterminante et la technique statistique utilisée ici est en accord avec la littérature consultée (Figueiredo *et al.*, 1999; Carrera *et al.*, 2002; Carrera, 2003; Arakawa *et al.*, 2005; Cory *et al.*, 2005). Elle s'en distingue cependant car les données n'ont été corrigées ni par la formule

de Abbott (1925) ni par la prise en compte de la mortalité non due au traitement. Bien que les CL50 déterminées dans cette étude permettent la comparaison entre souches du virus, il convient toutefois de prendre en considération les biais suivants:

Premièrement, certaines larves arrivent à pénétrer dans le tubercule en passant sous le ruban adhésif; d'autres utilisent le trou effectué par une larve précédente (biais mis en évidence par observation). Dans les deux cas ces larves n'ingèrent pas le virus et ne sont donc pas contaminées. Cela peut expliquer que les plateaux des deux régressions n'atteignent pas le seuil de 100 %. L'hétérogénéité de la contamination pourrait également expliquer la variance du taux de mortalité des larves, croissante avec la dose, pour l'isolat PoGV-1346.

Deuxièmement, l'élevage utilisé a été réapprovisionné avec des populations originaires de plusieurs régions d'Equateur afin de maintenir un élevage suffisamment important et, également, de limiter la dérive génétique. Or, il est possible qu'il existe une variabilité dans la résistance au virus entre les populations de *T. solanivora*. Cela pourrait expliquer la variance de mortalité observée pour les deux isolats. La présence de différentes populations de *T. solanivora* en Equateur ayant potentiellement des résistances différentes, constitue une donnée importante à prendre en compte dans la détermination des doses de pathogène qui devront être finalement appliquées.

Les CL50 obtenues lors de cette étude sont cohérentes avec celles de travaux antérieurs utilisant le même protocole pour la réalisation des bio-essais. En effet, chez les néonates de *T. solanivora* traitées avec l'isolat PoGV-1346, la CL50 est proche de 61 Gr/mm². Carrera *et al.* (2002) avaient déterminé une CL50 d'environ 9 Gr/mm² chez des néonates de *P. operculella* exposées au même isolat. Cette différence pourrait être en partie due à la plus grande taille de *T. solanivora* et/ou à une moindre susceptibilité de cette espèce-hôte au pathogène.

INTERACTION VIRUS-VIRUS

La contamination initiale d'une partie des lots de larves néonates par le virus Anchilibi (sans doute transmis verticalement) pourrait être également un facteur explicatif de la variance observée lors des bio-essais avec l'isolat PoGV-1346. Les résultats obtenus seraient alors la résultante d'une interaction virus-virus (López-Ferber *et al.*, 2003). Dans le cas de cette étude, il semble que la contamination par des doses élevées du PoGV-1346 limiterait fortement ou inhiberait la multiplication du virus Anchilibi (Figure 2). Cette observation reste à confirmer par une expérimentation spécifique.

CONCLUSION

La contamination virale au moyen de la technique utilisant un pulvérisateur (Carrera *et al.*, 2002; Carrera, 2003; Zeddani *et al.*, 2003b) se révèle être un outil précis et répétable. Elle peut être utilisée tant pour la comparaison de virulence comme pour d'éventuels contrôles de qualité, même si certains biais restent à éviter. En raison de sa facilité d'utilisation et de son faible coût, cette technique de nébulisation représente pour l'instant l'outil le plus adapté aux pays en voie de développement lorsqu'il s'agit de réaliser des bio-essais sur des systèmes hôtes-virus présentant des caractéristiques analogues à celles du couple teignes de la pomme de terre-granulovirus.

L'isolat JLZ9f, par comparaison à l'isolat de référence PoGV-1346, apparaît comme un meilleur candidat potentiel pour le contrôle de *T. solanivora*. Sa virulence semble en effet six fois plus forte que celle de l'isolat PoGV-1346. Des travaux futurs permettront d'établir si cette différence d'activité biologique se retrouve lorsque les isolats sont testés sur *P. operculella*, l'autre espèce de teigne de la pomme de terre susceptible au PhopGV.

Pour progresser dans la sélection de la (ou des) souche(s) de PhopGV la (les) plus adéquate(s) pour le développement d'un biopesticide, les virulences des autres isolats natifs disponibles au laboratoire seront comparées, seuls ou en mélange (la virulence étant

généralement supérieure à celle observée avec un seul isolat - Moscardi *et al.*, 1997). Ce travail sera ensuite suivi par une comparaison de l'efficacité des formulations virales dans les stockages traditionnels. En parallèle, il s'avère indispensable d'identifier les populations de *T. solanivora* présentes en Equateur et de comparer leur susceptibilité relative au biopesticide.

REMERCIEMENTS

F Rebaudo tient à remercier Patricia Nel (Chercheur Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire d'Entomologie; Enseignant-chercheur INA P-G, service Protection des Plantes), son tuteur de stage, pour avoir soutenu son projet et répondu à ses questions, la PUCE pour l'avoir accueilli et permis de réaliser cette étude, Kathy Orbe et Betty Yangari, pour le support technique au laboratoire et la partie biologie moléculaire et toute l'équipe du laboratoire de Biochimie (Gaby, Melany, Karla, David, et Betty, Kathy) pour son accueil.

BIBLIOGRAPHIE

Abbott, W. S. 1925 - A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.

Arakawa, T., Nozawa, M. 2005 - A sensitive bioassay for a nucleopolyhedrovirus using silkworms, *Bombyx mori* L., previously treated with a chitin synthesis inhibitor. *Applied Entomology and Zoology*, 40 (1): 105–111.

Ben Salah, H., Aalbu, R. 1992 - Field use of granulosis virus to reduce initial storage infestation of the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) in North Africa. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 38:119-126

Carrera M-V., Zeddani, J-L., Léry, X., Pollet, A., López-Ferber, M. 2002 - Evaluation of the biological activity of *Phthorimaea operculella* granulovirus, Tunisian 95 strain. *Abstracts of AFPP's Sixth International Conference on Pests in Agriculture, Montpellier, 4-6 December*, 447-452.

Carrera, M-V., 2003 - Evaluation de l'activité biologique de différents isolats de la granulose de *Phthorimaea operculella*. *Diplôme d'études approfondies de parasitologie, Université des sciences et techniques du Languedoc*.

Cory, J. S., Green, B. M., Paul, R. K., Hunter-Fujita, F. 2005 - Genotypic and phenotypic diversity of a baculovirus population within an individual insect host. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89: 101–111.

Das, G. P., Magalolona, E. D., Raman, K. V., Adalla, C. B. 1992 - Effects of different components of IPM in the management of the potato tuber moth in storage. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 41, 321-325.

Figueiredo, E., Muñoz, D., Escribano, A., Mexia, A., Vlak, J. M., Caballero, P. 1999 - Biochemical identification and comparative insecticidal activity of nucleopolyhedrovirus isolates pathogenic for *Heliothis armigera* (Lep., Noctuidae) larvae. *Journal of Applied Entomology*, 123, 165-169.

Finney, J. R. 1971 - Probit Analysis, 3rd edn.. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK.

- Kroschel, J.; Kaack, H. J.; Fritsch, E., Huber, J. 1996 - Biological control of the potato tuber moth (*Phthorimaea operculella* Zeller) in the republic of Yemen using granulosis virus: Propagation and effectiveness of the virus in field trials. *Biocontrol Science and Technology*, 6:217-226
- Laemmli, U. K. 1970 - Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227:680-685.
- LeOra. 1987 - POLO-PC SOFTWARE. A user's manual for Probit or Logit analysis. LeOra Software, Berkeley, California.
- López-Ferber M., Oihane S., Williams T., Caballero P. 2003 - Defective or effective? Mutualistic interactions between virus genotypes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, 270, 2249-55
- Matthiessen, J. N., Christian, R. L., Grace, T. D. C., Filshie, B. K. 1978 - Large-scale field propagation and purification of the granulosis virus of the potato moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (*Lepidoptera: Gelechiidae*). *Bulletin of Entomological Research*, 68, 385–391.
- Moscardi, F. 1999 - Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 44, 257–289.
- Ojasti, J. 2001 - Estudio sobre el estado actual de las especies exóticas, Biblioteca digital andina. 220 p.
- Reed, E. M. 1969 - A granulosis virus of potato moth *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Australian Journal of Sciences*, 31, 300-301.
- Sporleder, M., Kroschel, J., Huber, J., Lagnaoui, A. - 2005. An improved method to determine the biological activity (LC50) of the granulovirus PoGV in its host *Phthorimaea operculella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 116 (3), 191-197.
- Zeddám, J-L., Vasquez Soberon, R. M., Vargas Ramoz, Z., Lagnaoui, A. 2003a - Producción viral y tasas de aplicación del granulovirus usado para el control biológico de las polillas de la papa *Phthorimaea operculella* y *Tecia solanivora* (*Lepidoptera: Gelechiidae*). *Boletín de Sanidad Vegetal – Plagas*, 29, 657-665.
- Zeddám, J-L., Carrera, M-V., Barragán, A., Mollet, A., Lopez-Ferber, M., Léry, X. 2003b - Los virus entomopatógenos para el control de las polillas de la papa: Nuevas perspectivas en el manejo de *Tecia solanivora* (*Lepidoptera: Gelechiidae*). *Memorias del III Taller Internacional sobre la polilla Guatemalteca de la papa Tecia solanivora. Cartagena de Indias, Colombia. Centro Internacional de la Papa*, 67-78.

Rebaudo F., Dangles Olivier, Léry Xavier, Lopez-Ferber M.,
Zeddoum Jean-Louis (2006)

Étude de l'efficacité biologique d'un granulovirus pour le
contrôle de la teigne guatémaltèque de la pomme de terre
Tecia solanivora, Povolny (1973)

In : Comptes-rendus de la 8ème conférence internationale
sur les maladies des plantes

Paris : AFPP, 826-834

Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, 8.,
Tours (FRA), 2006/12/05-06