

IV<sup>e</sup> - CONGRÈS SUR LA PROTECTION DE LA SANTÉ HUMAINE  
ET DES CULTURES EN MILIEU TROPICAL

2 - 3 - 4 Juillet 1986

Marseille (France)

LUTTE MICROBIOLOGIQUE PAR VIRUS ENTOMOPATHOGENES  
CONTRE DEUX LEPIDOPTERES LIMACODIDAE RAVAGEURS  
DU PALMIER A HUILE ET DU COCOTIER

G. FÉDIERE<sup>(1)</sup>, P. MONSARRAT<sup>(1)</sup>, D. MARIAT<sup>(2)</sup> et M. BERGOIN<sup>(3)</sup>

(1) ORSTOM, 01. BP. V-51, Abidjan (Côte d'Ivoire)

(2) IRHO - CIRAD, BP. 5035, 34032 - Montpellier (France)

(3) INRA - CNRS, 30380 - Saint-Christol-les-Alès (France)

RESUME

Deux larves de Lépidoptères Limacodidae, *Latoia viridissima* et *Casphalia extranea*, pullulent périodiquement sur les plantations industrielles de Palmaceae en Côte d'Ivoire.

Des virus libres, responsables d'épizooties naturelles, ont été mis en évidence, caractérisés et multipliés au laboratoire. Il s'agit d'un Picornavirus chez *L. viridissima* et d'un Densovirus chez *C. extranea*.

Des essais de traitement au champ par pulvérisation de suspensions virales ont permis le contrôle à 90% en quinze jours des populations de ravageurs. Ces deux virus présentent donc de réelles potentialités d'utilisation en lutte biologique.

SUMMARY

BIOLOGICAL CONTROL WITH ENTOMOPHAGOUS VIRUSES OF TWO  
LEPIDOPTERA LIMACODIDAE, PESTS OF OIL AND COCONUT PALM

Larvae of two species of Lepidoptera Limacodidae, *Latoia viridissima* and *Casphalia extranea*, periodically occur abundantly in industrial plantations of palms in Ivory Coast.

The presence of free viruses, responsible for the occurrence of natural epizooties has been demonstrated and their biochemical and biophysical characteristics determined. Both viruses were multiplied in the laboratory. Viruses concerned are a Picornavirus on *L. viridissima* and a Densovirus on *C. extranea*.

Field trials in which virus suspension were sprayed in badly infected plantations resulted in a 90% control of the insects in two weeks. Potentially, both viruses offer great prospects as biological control agents.

## INTRODUCTION

Les palmeraies et cocoteraies sont des biotopes relativement stables qui abritent des populations d'insectes ravageurs, sujettes à d'importantes fluctuations. Un des facteurs de contrôle naturel semble être les virus entomopathogènes. Notre étude a porté sur la caractérisation et l'utilisation de deux virus libres de Limacodidae, Lépidoptères représentés sur Palmaceae dans toute la zone intertropicale.

## I. MATERIEL ET METHODES

### A. Caractérisation des virus

Parmi les défoliateurs les plus importants du palmier à huile et du cocotier en Côte d'Ivoire, deux espèces de Limacodidae pullulent périodiquement sur les plantations industrielles. Il s'agit de *Latoia viridissima* et de *Casphalia extranea*.

Les virus que nous avons mis en évidence chez ces deux ravageurs ont été purifiés à partir de larves malades ou mortes récoltées aux champs lors d'épizooties naturelles. Les extraits d'insectes, utilisés aussi bien pour les essais aux champs que pour la caractérisation du virus, sont préparés par broyage des larves dans un tampon Tris 0,05 M à pH 7,8 additionné de 0,5% de SDS. Le broyat est filtré sur mousseline et le filtrat est centrifugé à 8.000 g pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu constitue la solution mère. Cette suspension est mise au culot qui est dispersé aux ultrasons puis clarifié 10 minutes à 8.000 g. Le surnageant est déposé sur des gradients de saccharose 15% - 45% (Poids - Poids) et centrifugé à 7°C pendant 2 h à 200.000 g. Pour l'examen en microscopie électronique, les suspensions de virus purifiés sont contrastées négativement à l'acétate d'uranyl à 2%.

La nature de l'acide nucléique du virion est déterminée par la réaction à la diphénylamine pour l'ADN (GILES et MYERS, 1965) et par la méthode à l'orcinol selon MEJBAUM (1939) pour l'ARN.

Le spectre d'absorption des suspensions virales est obtenu dans le proche U.V. (220 à 320 nm).

Le nombre et le poids moléculaire des protéines virales ont été déterminés par électrophorèse en gel de polyacrylamide - SDS selon la méthode de WEBER et OSBORN (1969).

Des antisérums spécifiques ont été préparés à partir de lapins pour chacun des deux virus. Nous avons pratiqué des tests sérologiques en gel d'agarose (OUCHTERLONY, 1948) pour mettre en évidence des parentés immunologiques entre ces nouveaux virus et des virus connus : le Picornavirus du criquet (CRPV) (REINGANUM, 1973), le Picornavirus de la drosophile (DCV) (JOUSSET et al., 1977), le Densovirus de

*Galleria mellonella* (MEYNADIER et al., 1964) et le Densovirus de *Junonia coenia* (RIVERS et LONGWORTH, 1972).

## B. Essais de traitement en plantation

### 1) Virus de *L. viridissima*

Une parcelle (F52) de la Station IRHO de palmier à huile de La Mé présentait un petit foyer bien localisé de ce ravageur. Dans ce bloc, les palmiers étaient âgés de 3 ans, hauts de 4 m et ne possédaient pas un volume foliaire important. Le traitement a été réalisé par voie terrestre à l'aide d'un pulvérisateur mécanique à dos à jet projeté. Cet appareil à pression préalable permet d'avoir un débit constant par palme et de déduire la dose à l'hectare (PHILIPPE et al., 1983).

Sur les lignes 1, 5, 9, 13, 17 et 21 nous avons considéré les 5 arbres au nord de la parcelle. Sur chacun des palmiers, nous avons compté les larves sur les palmes des niveaux 25, 17 et 9. Ce contrôle a été réalisé avant le traitement puis 1 et 2 semaines plus tard.

Les lignes 5, 13 et 21 servent de témoin.

Les lignes 1, 9 et 17 ont été traitées avec une suspension virale aux doses respectives de 425 g chenilles mortes/ha, 1.902 g/ha et 3.704 g/ha.

### 2) Virus de *C. extranea*

Une pullulation de *C. extranea* se déclencha sur la plantation industrielle PALMINDUSTRIE d'Eloka (palmier à huile) en août 1985 sur les blocs C5 et D5 de 80 ha chacun. La surface attaquée étant supérieure à 100 ha il a été décidé d'un traitement aérien par hélicoptère.

Deux parcelles (A et B) de 10 ha chacune furent traitées avec une suspension virale aux doses respectives de 50 g chenilles mortes/ha et 100 g/ha. Une parcelle adjacente (C) de 10 ha est utilisée comme référence et le reste des blocs (D) est traité par un insecticide chimique : Deltametrine, 9 g. matière active/ha.

## II. RESULTATS ET DISCUSSION

### A. Caractérisation des deux virus

#### 1) Le Picornavirus de *L. viridissima*

L'examen de la suspension virale purifiée révèle des particules sans enveloppe, de forme icosaédrique, mesurant 30 nm de diamètre. Le spectre d'absorption dans le

proche ultraviolet est caractéristique de nucléoprotéines avec des rapports  $D.0_{260} / D.0_{280} = 1,72$  et  $D.0_{260} / D.0_{240} = 1,41$ . Pour déterminer la nature de l'acide nucléique, nous avons obtenu une réaction positive à l'orcinol et négative à la diphénylamine. Le génome de ce virus est donc constitué d'ARN. La densité apparente déterminée après centrifugation en gradient de chlorure de césium est de 1,34 pour ce virus. La composition polypeptidique de ce virus consiste en deux protéines majeures de faible poids moléculaire, PV<sub>1</sub> : 30.000 daltons (55 %) PV<sub>2</sub> : 31.000 daltons (20 %), et en trois protéines mineures (PV<sub>3</sub>, PV<sub>4</sub> et PV<sub>5</sub>) dont les poids moléculaires sont respectivement : 39.000 (8 %), 44.000 (8 %) et 51.000 (9 %). Les études sérologiques indiquent l'absence de parenté antigénique entre ce virus et les deux Picornavirus, CRPV et DCV, de référence. Le virus de *L. viridissima*, par ses propriétés biophysiques, biochimiques et immunologiques se rapproche véritablement des Picornavirus d'insectes les mieux connus.

## 2) Le Densovirus de *C. extranea*

Le virus, icosaédrique, sans enveloppe, mesure 22 nm de diamètre. Le spectre d'absorption présente des rapports  $D.0_{260} / D.0_{280}$  et  $D.0_{260} / D.0_{240}$  respectivement de 1,50 et 1,40. La densité apparente est de 1,38. Le génome viral est un ADN. La capsid virale est constituée de quatre polypeptides (PV<sub>1</sub>, PV<sub>2</sub>, PV<sub>3</sub> et PV<sub>4</sub>) dont les poids moléculaires sont respectivement 49.000 (59 %) 54.000 (6 %) 74.000 (27 %) et 82.000 (8 %).

Les études sérologiques indiquent l'absence de parenté immunologique entre ce virus et les Densovirus de *G. mellonella* et de *J. coenia*. Par l'ensemble de ses propriétés, le virus de *C. extranea* présente les caractéristiques du genre Densovirus (Parvoviridae).

## B. Essais de traitement en plantation

### 1) Pulvérisation du Picornavirus de *L. viridissima*

|  | Ligne 1<br>425 g/<br>ha | Ligne 5<br>Témoin | Ligne 9<br>1902 g/<br>ha | Ligne 13<br>Témoin | Ligne 17<br>3704 g/<br>ha | Ligne 25<br>Témoin |
|--|-------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|
| Pourcentage de mortalité une semaine après le traitement | 11                      | 7,8               | 44,2                     | 40,9               | 61,4                      | 49,2               |
| Deux semaines après le traitement                        | 83,5                    | 85,4              | 96,6                     | 99,5               | 97,2                      | 97,1               |

Il est intéressant de noter une semaine après le traitement un gradient de mortalité augmentant de 11 à 61% selon la dose utilisée. Deux semaines après la pulvérisation du virus, l'épizootie causa la mort de 92 % des larves sur la parcelle traitée.

La mortalité observée sur les lignes témoins provient d'une rapide dispersion de l'infection virale. Les virus répandus par les larves malades ou libérés du cadavre des insectes morts pourront être dispersés par le vent, la pluie ou la faune associée.

Le nombre de chenilles durant la génération suivante sur cette parcelle fut presque nul ; le virus pouvant rester infectieux plusieurs mois, dans le corps des hôtes qui adhère à la plante et dans le sol.

Il est maintenant nécessaire de déterminer la dose minimum de virus requise.

2) Pulvérisation du Densovirus de *C. extranea*

| PARCELLES  | A         | B           | C          | D   |
|--|-----------|-------------|------------|-----|
| Nombre de chenilles par palme, un jour avant le traitement | 25        | 26          | 25         | 28  |
| Une semaine après le traitement<br>(% mortalité)           | 7<br>(72) | 5<br>(80)   | 18<br>(28) | 1   |
| Deux semaines après le traitement                          | 2<br>(92) | 2<br>(92,3) | 5<br>(80)  | 0,1 |

Deux semaines après le traitement, l'épizootie causa la mort de 92 % des larves sur les parcelles traitées A et B. La parcelle C, adjacente à A et B, fut progressivement envahie par le virus, et le déclin de la population d'insectes fut plus lent. L'effet de la Deltaméthrine fut presque instantané, mais son coût élevé et certains inconvénients comme sa non spécificité doivent être pris en compte pour comparer les différents résultats.

BIBLIOGRAPHIE

- GILES K.W. et MYERS A. 1965. An improved. Diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*, London, 206, 93.
- JOUSSET F.X., BERGOIN M. et REVET B. 1977. Characterization of the *Drosophila* C. virus. *J. gen. Virol.*, 34, 269-285.
- MEJBAUM W.Z. 1939. über die Bestimmung kleiner Pentosemengen, insbesondere in derivaten der adenylsaure. *Z. physiol. chem.*, 258, 117-120.
- MEYNADIER G., VAGO C., PLANTEVIN G. et ATGER P. 1964. Virose d'un type inhabituel chez le Lépidoptère *Galleria mellonella*. *Rev. Zool. agric. appl.*, 63, 207-208.
- PHILIPPE R., de BERCHOUX C. et MARIAN D. 1983. Les techniques de traitements dans les plantations de palmiers à huile en Côte d'Ivoire : méthodes et appareillages. *Oléagineux*, 38, 349-363.
- OUCHTERLONY O. 1948. Antigen antibody reaction in gels. *Arch. Keni. miner. Geol. B*, 26, 16.
- REINGANUM C. 1973. Studies on a monoccluded virus of the field cricket *Teleogryllus* spp. M. Sc. Thesis, Monash Univ., Melbourne, Australia.
- RIVERS C.F. et LONGWORTH J.F. 1972. A monoccluded virus of *Junonia coenia*, Nymphalidae : Lepidoptera. *J. Invertebr. Pathol.*, 20, 369-370.
- WEBER K. et OSBORN M. 1969. The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244, 4406-4412.

Fédière Gilles, Monsarrat Pierre, Mariau D.,  
Bergoin M. (1986).

Lutte microbiologique par virus  
entomopathogènes contre deux lépidoptères  
Limaconidae du palmier à huile et du cocotier.

In : Congrès sur la protection de la santé  
humaine et des cultures en milieu tropical.  
Marseille : Chambre de Commerce et  
d'Industrie de Marseille, 363-368.

Protection de la Santé Humaine et des  
Cultures en Milieu Tropical : Congrès, 4.,  
Marseille (FRA), 1986/07/02-04.