

# Une virose à granules chez le Lépidoptère *Argyroploue leucotreta*

par

**A. ANGELINI    A. AMARGIER    P. VANDAMME    J.L. DUTHOIT**

Laboratoire de Cytopathologie, St-CHRISTOL (Gard)  
Section d'Entomologie, Station I.R.C.T. de BOUAKE (Côte d'Ivoire)

Le Lépidoptère *Argyroploue leucotreta* MEYRICQ provoque des dégâts importants dans les cultures cotonnières, au Mali, en Haute Volta, en Côte d'Ivoire, au Togo, au Dahomey. La chenille néonate pénètre le plus souvent dans des fruits déjà bien formés. Le trou d'entrée, invisible à l'œil nu, devient une porte ouverte aux micro-organismes, entraînant rapidement des pourritures capsulaires.

Des cas de mortalité, chez cet insecte, ont été observés dans la nature en Côte d'Ivoire. Outre les cas de polyédrie cytoplasmique intestinale notés par ANGELINI et LE RUMBUR (1962), nous avons remarqué des larves malades aux 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> âges, ayant un aspect différent de celui provoqué par la polyédrie. Nous relatons dans ce travail les caractéristiques externes, les lésions, l'étiologie et la nature de l'agent pathogène de cette nouvelle affection.

## SYMPTOMES

La couleur de ces chenilles passe, pour la partie dorsale, de jaune d'or à blanc crème, tandis que la partie ventrale devient blanc lait. Les larves malades sont molles, gonflées, les téguments distendus, les cadavres se vident au moindre contact.

À la dissection des chenilles malades, on constate que le tissu adipeux, consistant à l'état normal, devient lâche, la couleur translucide se change en un aspect granuleux brillant. À un stade plus évolué de la maladie, le corps gras est fortement liquéfié.

## CYTOLOGIE

Des prélèvements de tissu adipeux ont été examinés en frottis, après traitement par différentes méthodes de coloration.

Les procédés de Loeffler ou de Giemsa n'ont mis en évidence que des cellules fortement lésées et les débris de celles-ci.

Suivant la technique de PAILLOT (1935), nous avons fait agir de la fuschine de Ziehl, chauffée jusqu'à émission de vapeurs. Nous avons observé alors une multitude d'éléments ponctiformes de dimensions inférieures à 0,5  $\mu$ , rappelant ceux présents dans les tissus de *Pieris brassicae*, *Hyphantria cunea*, *Cirphis unipuncta*, etc... atteints de viroses à granules.

De semblables éléments apparaissent après l'application d'une technique utilisée par VAGO (1947) pour l'étude de spirochètes, ainsi que pour la mise en évidence des rickettsies et employés par MEYNADIER (1962) pour la coloration des granules. Elle consiste à faire d'abord agir du dibromoxymercurefluorescéine chauffé et ensuite du violet de cristal, également chauffé jusqu'à émission de vapeurs. Ce procédé a pour effet d'augmenter le volume des granules et de les teinter fortement en violet.

Un essai de coloration de CHVETZOVA (1961) sur les prélèvements étalés, nous a donné également de bons résultats. Après fixation avec le mélange alcool-formol et traitement par la soude, les frottis étaient colorés par la fuchsine de Ziehl. Les corps granulaires apparaissent en rouge avec des contours nets.

D'après ces observations, la maladie présente l'une des caractéristiques principales des viroses à granules : des corps situés à la limite de la visibilité au microscope optique et ne réagissant qu'à certaines méthodes spéciales de coloration.

## HISTOLOGIE

En vue de suivre l'évolution de cette maladie, notre étude a compris également une partie histologique. Des larves atteintes ont été prélevées à différents stades du développement de la granulose. Elles ont été fixées dans le picroformol de Bouin, ensuite déshydratées par l'alcool à 95° et l'alcool butylique. Les coupes ont été exécutées au 1/150 de mm et traitées par la méthode de coloration des polyèdres VAGO-AMARGIER (1963).

Chez les larves peu atteintes, le tissu adipeux, les cellules hypodermiques et trachéales ont déjà subi une transformation : la structure des cellules n'est pas nette, le noyau est hypertrophié, de grosses vacuoles occupent une grande partie du cytoplasme (fig. 1).

À un stade plus avancé, les vacuoles du cytoplasme se sont encore agrandies (fig. 2).

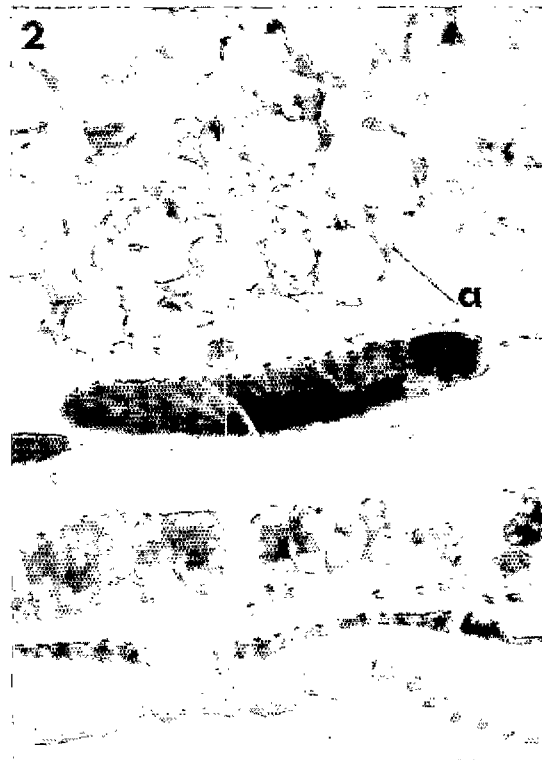
## PLANCHE I

COUPES TRANSVERSALES DE LARVES D'ARGYROFLOCE ATTEINTES DE VIROSE A GRANULES.  
COLORATION VAGOT-AMARGIER



x 170

Fig. 1 — Debut de la maladie  
a = tissu adipeux



x 135

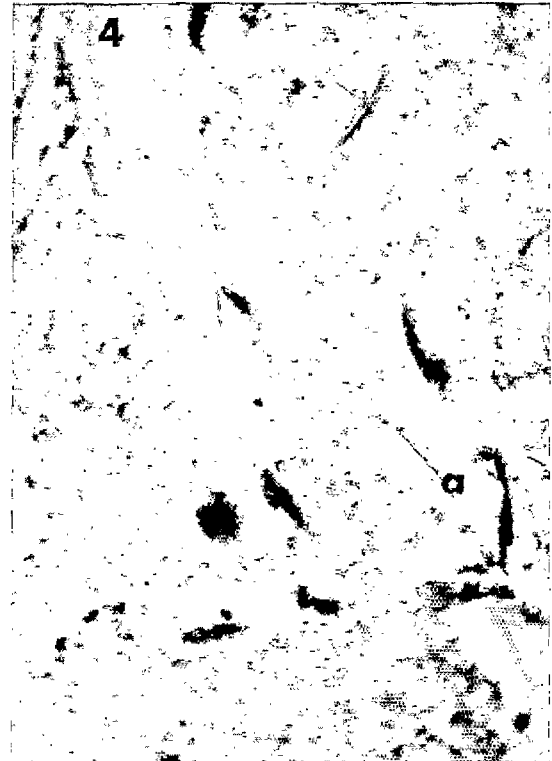
Fig. 2 — Maladie en cours d'évolution  
a = tissu adipeux

## PLANCHE I (suite)

COUPES TRANSVERSALES DE LARVES D'ARGYROPTOCE ATTEINTES DE VIROSE A GRANULES.  
COLORATION VAGOT-AMARGIER

x 270

Fig. 3 — Fin d'évolution de la virose  
a = tissu adipeux



x 135

Fig. 4 — Larve mourante  
a = tissu adipeux

Chez les larves où la maladie est très avancée nous ne retrouvons même plus de limite cellulaire ; le tissu adipeux, les cellules hypodermiques et les cellules autour des trachées sont *totalemment* modifiés, il ne reste que de larges emplacements occupés par de petits éléments très rapprochés et ayant l'aspect d'un étalement granuleux (fig. 3).

Au moment de la mort, le tissu adipeux est entièrement détruit, la cavité générale est remplie de granules (fig. 4).

## MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

En vue de déterminer de plus près la forme et les dimensions des corps granulaires, d'observer leur structure et de rechercher les éléments viraux, nous avons examiné au microscope électronique des suspensions de granules obtenues par centrifugations différentielles à partir d'un broyat de larves fortement atteintes. Pour étudier la morphologie externe

PLANCHE II  
CORPS D'INCLUSION GRANULAIRES PURIFIES VUS AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE

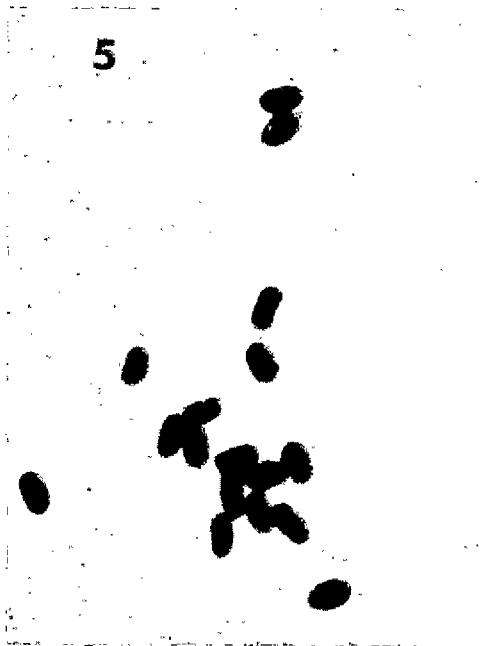


Fig. 5 — Granules intacts.  
Sans ombrage et sans coloration.

x 14 800



Fig. 6 — Granules partiellement dissous  
présentant les emplacements des éléments  
viraux. Sans ombrage et sans coloration.

x 22 200

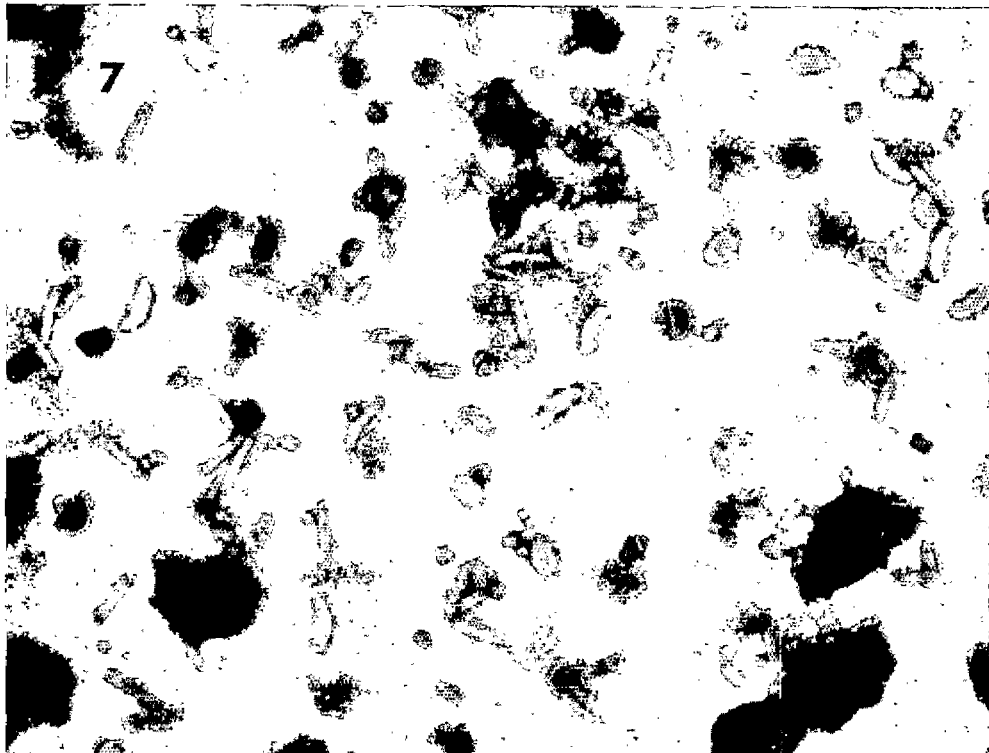


Fig. 7 — Virus libérés à partir des granules traités par la soude. Coloration négative  
à l'acide phosphotungstique.

x 24 000

des granules, une goutte de suspension, déposée sur une grille recouverte de carbone, a été examinée directement ou après ombrage au palladium. Ces corps sont ovoïdes pour la plupart, rarement réniformes, de dimensions  $0,26 \mu \times 0,42 \mu$ , à contours assez nets (fig. 5) très opaques aux électrons.

En vue de l'observation de la structure des granules et des virus, nous avons traité une suspension de granules par une solution de soude N/100, pendant 10 minutes. Ce traitement a été suivi de centrifugations alternées à 7 000 tours par minute, pendant 15 minutes, et à 12 000 tours par minute, pendant 30 minutes. Les contours des éléments ont été soulignés, soit par l'ombrage au palladium, soit par la coloration négative à l'acide phosphotungstique.

Les granules peu touchés par la soude sont seulement étalés, d'autres sont en partie désintégrés et présentent au centre un bâtonnet disposé suivant le plus grand axe du corps d'inclusion (fig. 6).

Enfin, les centrifugations différentielles permettent de séparer les virus entièrement libérés des débris des granules. De tels éléments sont mieux visibles après coloration à l'acide phosphotungstique comme le montre la fig. 7. Les virus sont le plus souvent rectilignes, de dimensions  $0,29 \mu \times 0,05 \mu$ , mais dans de nombreux cas ils prennent une forme légèrement courbe, semblable à celle des virus de polyédrie nucléaire après le même traitement. A certains endroits, cette technique de coloration permet de suivre la sortie des virus de leur poche membraneuse. Il est intéressant de noter qu'on rencontre quelquefois des virus entièrement recourbés, ce qui nous inciterait à nous demander si cette formation n'est pas un effet du traitement plutôt qu'un stade de développement.

Une autre technique de mise en évidence des virus a consisté en la désagrégation des granules sur la grille porte-objet du microscope électronique avec de la soude à concentration donnée plus haut. Dans ce cas, de nombreux éléments viraux deviennent visibles à leurs emplacements d'origine.

## INFECTION EXPÉRIMENTALE

La contamination des larves des 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> stades a été réalisée par contact pendant 24 h avec des graines de coton trempées dans une suspension de granules provenant du tissu adipeux des larves mortes de granuloses.

Une mortalité significative obtenue, allant de 54 à 95% selon les lots, montre la virulence du virus. Toutefois, nous avons remarqué que les taux les plus élevés sont obtenus, lorsque les larves sont déjà porteuses d'une polyédrie cytoplasmique intestinale. L'étude de l'association de ces deux maladies a été poursuivie et donne lieu à un travail à part.

## CONCLUSIONS

L'ensemble des observations cytologiques ultra-microscopiques, ainsi que les essais de transmission montrent l'existence, chez *Argyroplote leucotreta* d'une maladie à virus du type « granulose » connu chez plusieurs Lépidoptères. Le virus isolé et caractérisé (*Bergoldiavirus argyroplotei* n. sp.) est très pathogène aux larves du Lépidoptère *Argyroplote leucotreta* et paraît être dans certaines régions d'Afrique, notamment en Côte d'Ivoire, un puissant facteur de limitation naturelle de cette espèce surtout s'il est associé à une polyédrie cytoplasmique. Vu la forte virulence et la protection des virus par les corps d'inclusion granulaires, ce germe paraît être utilisable aussi dans la lutte microbiologique contre *Argyroplote leucotreta*, ravageur économiquement important en Afrique.

## Résumé

Chez le Lépidoptère *Argyroplote leucotreta* qui provoque des dégâts dans les cultures cotonnières, nous avons observé une maladie que l'étude cytologique et l'observation au microscope électronique ont permis de caractériser comme une virose à granules. L'évolution de la maladie a été suivie en histologie et le virus responsable a été purifié. Ce dernier s'était révélé très infectieux pour l'hôte.

## Bibliographie

- ANGELINI (A.) et LE RUMEUR (C.). — Sur une maladie à virus d'*Argyroplote leucotreta* découverte en Côte d'Ivoire. *Coton et Fibres Tropicales*, 1962, 17, (3).
- BERGOLD (G.H.). — Viruses of Insects. *Handbuch der Virusforschung*, 1958, 4, 59-142.
- CHVETZOVA (O.I.). — Diagnostic de la granulose des insectes nuisibles. *Zaschita Rastenij*, 1961, 3, 50-51.
- VAGO (C.), LEPINE (P.) et CROISSANT (O.). — Mise en évidence du virus de la granulose (psendograsserie) de *Pieris brassicae* L. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 39, 458.
- MEYNADIER (G.). — Coloration des corps d'inclusion du virus de la granulose par la réaction dibrome-oxymercurifluorescéine violet de cristal. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, 102, 753-755.
- PAILLÔT (A.). — Nouvel ultravirus parasite d'*Agrotis segetum* provoquant une prolifération des tissus infectés. *C. R. Acad. Sci.*, 1935, 201, 1062.
- VAGO (C.). — Méthode de coloration pour l'examen microscopique des spirochètes. *J. Suisse de Médecine*, 1947, 77, N° 17, 479.
- VAGO (C.) et AMARGIER (A.). — Coloration histologique pour la différenciation des corps d'inclusion polyédrique de virus d'insectes. *Ann. Epiphyties*, 1963, 14, 269-274.
- VAGO (C.) et CROISSANT (O.). — La structure des virus libres des polyédries nucléaires. (En cours d'impression).

## Summary

In Lepidoptera *Argyroptoe Leucotreta* which induces damages in cotton crops, we have observed a disease that cytological study and observation through the electronic microscope permitted to characterize as a granular virosis. The evolution of the disease has been followed in histology and the responsible virus has been purified. The latter proved very infectious for the host.

## Resumen

Hemos observado en el Lepidóptero *Argyroptoe leucotreta* que provoca estragos en los cultivos algodoneiros, una enfermedad que el estudio citológico y la observación en el microscopio electrónico han permitido caracterizar como una virosis de gránulos. Se ha seguido la evolución de la enfermedad en histología y se ha purificado el virus responsable. Este último se ha manifestado como muy infeccioso para el huésped.

---