

Densovirus en lutte biologique

par Pierre MONSARRAT, Daniel MARIAU & Philippe GENTY

Par leur très grande spécificité et leur caractère non polluant, les virus d'Insectes semblent devoir être une arme de choix dans la lutte contre les ravageurs des cultures. Il aura fallu, toutefois, plusieurs décennies pour que des solutions puissent être apportées à ce qu'écrivait Dufour en 1891 : « Le véritable problème est de déterminer à volonté chez les insectes une véritable épidémie qui se transmette, qui se répande d'elle-même et cela assez rapidement pour que les ennemis de nos cultures soient frappés de mort avant d'avoir pu faire leurs dégâts ».

Le problème ainsi posé est en effet complexe et les solutions possibles dépendent de nombreux facteurs liés soit aux caractéristiques du virus et à son mode d'action, soit aux conditions de l'environnement.

Rappelons que la transmission des virus d'Insecte se fait le plus souvent par

l'alimentation, la voie génétique restant, d'une façon générale et dans l'état actuel de nos connaissances, un phénomène relativement peu fréquent.

Jusqu'à ces derniers temps, les virus utilisés en lutte biologique ont été, pour la plupart, des virus inclus dans des corps protéiniques résistants. Les raisons de ce choix sont multiples mais essentiellement historiques. La relative facilité du diagnostic des maladies virales à inclusions, possible par simple observation au microscope optique, a fait découvrir et décrire de nombreuses maladies de ce type. La taille des inclusions permettait une prépurification du matériel viral avec des moyens relativement modestes. Ce sont les chenilles de Lépidoptères ou les larves de Tenthredinidae qui, par leur facilité d'élevage, ont permis des essais de traitements sur grandes surfaces et, dans certains cas, une production industrielle.

Parmi les virus à inclusions, les Baculovirus de polyédroses nucléaires ont été les plus utilisés. Les essais de pathogénéité sur Vertébrés n'ont été réalisés à ce jour que sur des Baculovirus.

C'est pourtant avec un virus libre, le Baculovirus d'*Oryctes rhinoceros*, qu'a été réussi, dans le Pacifique Sud, le contrôle durable des populations de ce ravageur du Cocotier, après une seule introduction de l'agent pathogène (Hammes 1971, Zelazny 1973, Monsarrat 1974).

La mise en évidence du rôle des virus libres dans de nombreux cas d'épizooties naturelles et les études menées sur ces virus ont apporté d'intéressantes possibilités d'utilisation en lutte biologique. Parmi ceux-ci, le groupe des Densovirus semble être l'un des plus prometteurs.

Les Densovirus, découverts en 1964 par le professeur Vago et son équipe (Vago *et al.* 1964), appartiennent à la famille des Parvoviridae dans laquelle ils forment un genre inféodé aux Insectes (Wildy 1971, Matthews 1979).

Ce sont des virus parasphériques de très petite taille, environ 22 nm. Leur acide nucléique est un ADN. La molécule est linéaire, formée d'un seul brin dont le poids moléculaire varie suivant les virus et les techniques utilisées de 1,5 à 2,2.10⁶ daltons.

Les populations de particules virales de densovirus présentent la particularité de renfermer des molécules positives et négatives d'ADN en nombres égaux. Ceci permet, après libération de l'acide nucléique, l'obtention *in vitro* de molécules d'acide nucléique bicaténares.

Le pourcentage de Guanine + Cytosine est de 37 à 40%.

Les densovirus sont formés de 30 à 40 % d'ADN et de quatre polypeptides dont l'un majeur, représente environ 35 % du total des protéines et est d'un poids moléculaire d'environ 42 000 d.

Il y a entre 62 à 72 molécules de protéines par virion. Ces protéines ne contiennent ni lipides ni hydrates de carbone. La densité des particules virales est située entre 1,38 et 1,46 g/cm³ en chlorure de caesium.

Le coefficient de sédimentation est de 110 à 122 S.

Le poids moléculaire de la particule virale est de l'ordre de 5,5 à 6,2.10⁶ d.

La particule virale a une bonne stabilité vis-à-vis du pH. Elle résiste aux solvants des lipides et est relativement peu sensible à la chaleur.

Au niveau cellulaire, l'infection se traduit par une hypertrophie nucléaire avec accumulation de virions constituant des masses volumineuses dans le

noyau. Les particules virales se forment autour d'un stroma virogène moins dense aux électrons. Dans le cytoplasme, on assiste fréquemment à une hypertrophie et à l'éclatement des mitochondries. A un stade plus avancé de la maladie, les particules virales quittent le noyau et se répandent dans le cytoplasme.

La plupart des tissus peuvent être atteints par l'infection. Certains de ces virus, notamment celui du Limacodidae *Sibine fusca* (Meynadier *et al.* 1977), provoquent des lésions spectaculaires au niveau de l'intestin moyen des chenilles. Les cellules de l'épithélium intestinal sont le siège d'une multiplication active. La paroi s'épaissit considérablement et la lumière intestinale est plus ou moins obturée par des cellules détachées infectées de l'épithélium.

Ce phénomène explique le symptôme de la maladie des chenilles qui consiste en l'émission de sécrétions buccales et anales brunâtres. Ces sécrétions ont un rôle probablement considérable dans la transmission de la maladie et le développement des épizooties dans les populations de chenilles.

La rapidité de l'évolution de la maladie dépend du stade larvaire et de la dose infectante. Le délai entre l'infection et la mort de la chenille varie entre 2 et 15 jours. Toutefois, au laboratoire, on note qu'avec des doses relativement élevées, la mortalité de 80 % des chenilles est obtenue entre le 4^e et le 5^e jour après l'infection.

Des modifications de comportement des larves malades apparaissent peu de temps après l'infection. Les jeunes larves de *Sibine fusca* ne s'alimentent plus et perdent leur comportement grégaire, ce qui contribue à la dissémination de l'agent pathogène.

Un certain nombre de virus appartenant probablement au genre des Densovirus sont connus. Il s'agit des virus de : *Galleria mellonella* (Amargier *et al.* 1965, Boemare 1971, Kurstack 1972, Diallo 1978), *Junonia coenia* (Rivers & Longworth 1972, Spilling 1970, Diallo 1978), *Diatraea saccharalis* (Meynadier *et al.* 1977), *Acheta domestica* (Meynadier *et al.* 1977), *Aedes aegypti* (Lebedeva *et al.* 1973), *Leucorrhina dubia* (Charpentier 1979), *Bombyx mori* (Watanabe *et al.* 1978, Wakagaki *et al.* 1980), *Agraulis vanillae* (Kelly *et al.* 1980), *Pieris rapae* (Sun Folin *et al.* 1981), *Casphalia extranea* (Fediere *et al.* en préparation).

Il ressort de cette liste que ce genre de virus est susceptible d'infecter des hôtes appartenant à des Ordres différents. Il est très probable que, dans un proche avenir, de nombreux virus du même genre seront découverts si une attention particulière est portée à la recherche des Densonucléoses.

Les études sur la spécificité des Densovirus sont encore à leur début. Toutefois, si généralement ces virus semblent avoir une spécificité très stricte comme celui de *Galleria* ou de *Sibine*, certains d'entre eux peuvent présenter une gamme d'hôtes très large. C'est notamment le cas du virus de *Junonia coenia* qui se multiplie chez *Spodoptera littoralis* (Diallo 1978). C'est également le cas du virus d'*Aedes aegypti* qui peut infecter au moins 5 espèces de *Culex* et 1 *Culiseta* (Lebedinets *et al.* 1978).

On peut donc penser que, du point de vue de la spécificité, il peut y avoir deux types de Densovirus possédant des propriétés différentes.

La largeur du spectre d'hôtes de ces virus est un facteur extrêmement positif pour leur utilisation potentielle en lutte biologique. En effet, la production de virus très spécifiques pose parfois des problèmes difficiles à résoudre si

l'Insecte hôte s'élève mal. Dans le cas d'un virus présentant une certaine polyspécificité, la probabilité de trouver un hôte de remplacement s'élevant facilement sera plus grande. Enfin, une production de type industriel est d'autant plus aisément envisageable que le marché est plus vaste. Ces virus présentent donc des potentialités intéressantes dans un axe de production industrielle.

Les virus du groupe à spécificité élevée sont toutefois loin d'être dénués d'intérêt pour la lutte biologique. En effet, une utilisation de type « artisanal » est non seulement parfaitement concevable mais a pu être mise en œuvre dans le cas de *Sibine fusca* (Genty *et al.* 1975). Vingt grammes de chenilles mortes récoltées lors d'épizooties naturelles sont broyées dans 55 ml d'eau. Le broyat, après filtration, est additionné de 220 ml d'eau pour former une suspension mère qui est conservée à 4° C. Les expériences menées sur le terrain montrent qu'après traitement par avion des plantations de Palmier à huile à la dose de 120 ml de solution mère à l'ha, soit 5 à 6 cadavres de chenilles, la mortalité, un mois après, est voisine de 100 %.

Ces traitements ont été réalisés en Colombie sur plusieurs milliers d'hectares (Genty 1981). Les solutions mères, stockées à 4° C conservent leur efficacité pendant plusieurs années.

Ces résultats appellent quelques remarques :

— Des réussites spectaculaires ont été obtenues avec des doses très faibles de virus. Ceci est imputable, en partie, au comportement grégaire des jeunes stades larvaires de *Sibine*. Toutefois, certaines propriétés du virus utilisé semblent prépondérantes dans l'explication des résultats. Sa résistance aux agents extérieurs permet, outre une préparation artisanale, une bonne rémanence du pouvoir pathogène sur le feuillage. L'atteinte de l'intestin moyen et l'émission de sécrétions riches en virus lors de la maladie larvaire est aussi un élément favorable à la dispersion du germe.

— De telles opérations de lutte biologique pourraient être développées dans un certain nombre de cas, notamment dans la lutte contre les chenilles de Limacodidae, importants ravageurs des Palmaceae dans la zone tropicale humide.

Ceci nécessite une prospection des maladies virales sur les espèces présentant un intérêt économique certain.

L'obtention au niveau plantation de matériel viral, sa conservation et son utilisation posent peu de problèmes. Il conviendrait cependant que la pureté bactérienne et le contrôle de l'identité du virus des solutions mères soient réalisés. Ceci pourrait être envisagé au niveau d'un pays ou d'un groupe de plantations.

Enfin, pour dépasser le stade des essais, il serait nécessaire de réaliser les tests de pathogénéité sur des Vertébrés.

Les Densovirus à spectre d'hôte relativement large présentent des potentialités très intéressantes d'un point de vue général.

Il serait souhaitable que soient menées des études tendant à définir l'activité des virus connus contre les principaux ravageurs des cultures. Un travail de sélection de souches portant sur le pouvoir pathogène vis-à-vis de différentes espèces devrait ensuite être entrepris.

Au vu des résultats de terrain obtenus en Colombie et des travaux de

laboratoire sur les différents Densovirus, il apparaît que ce groupe recèle de très intéressantes potentialités d'utilisation en lutte biologique. Nous ne pouvons que souhaiter qu'un programme de recherche sur ces virus, axé sur leur utilisation, soit rapidement mis en œuvre.

REFERENCES

- AMARGIER (A.), VAGO (C.) & MEYNADIER (G.), 1965. — Etude histopathologique d'un nouveau type de virose mis en évidence chez le Lépidoptère *Galleria mellonella* (Arch. Ges. Virusforsch., 15 : 659-667).
- BOEMARE (N.), 1971. — Conséquences physiologiques d'une infection virale sur la métamorphose d'un insecte. Etude de l'action du virus de la densonucléose chez le Lépidoptère *Galleria mellonella* L. Thèse Doct. Spéc., Université Sci. Techn. Languedoc, Montpellier, 163 p. — Document miméographié.
- CHARPENTIER (R.), 1979. — A non occluded virus in nymphs of the dragonfly *Leucorrhina dubia* (Odonata Anisoptera Libellulidae) (*J. Invert. Pathol.*, 34 (1) : 95-98).
- DIALLO (B.), 1978. — Etude de l'infection à densovirus chez le Lépidoptère *Spodoptera littoralis* Boisduval. Thèse Doct. Spéc., Université Sci. Techn. Languedoc, Montpellier, 141 p. — Document miméographié.
- DUFOUR (J.), 1891. — Note sur *Botrytis tenella* et son emploi pour la destruction des vers blancs (*Bull. Soc. Vaud. Sci. nat.*, 28 : 106).
- FÉDIÈRE (G.), DESMIER DE CHENON (R.), MARIAU (D.) & MONSARRAT (P.). — Mise en évidence de maladies à épizootie de type densonucléose chez deux chenilles de Limacodidae phyllophages du palmier à huile et du cocotier en Côte d'Ivoire (*C.R. Acad. Sci.*, Paris, en préparation).
- GENTY (Ph.) & MARIAU (D.), 1975. — Utilisation d'un germe entomopathogène dans la lutte contre *Sibine fusca* (Limacodidae) (*Oléagineux*, 30 (8-9) : 349-354).
- HAMMES (C.), 1971. — Multiplication et introduction d'un virus d'*Oryctes rhinoceros* à l'île Wallis (*C.R. Acad. Sci.*, Paris, série D, 273 : 1048-1050).
- KELLY (D.C.), AYRES (M.D.), SPENCER (L.K.) & RIVERS (C.F.), 1980. — Densonucleosis virus 3 : a recent insect parvovirus isolated from *Agraulis vanillae* (Nymphalidae) (*Microbiologica*, 3 (4) : 455-460).
- KURSTACK (E.), 1972. — Small DNA densonucleosis virus (DNV) (*Adv. Virus Res.*, 17 : 207-241).
- LABADINETS (N.N.), TSARICHKOVA (D.B.), KARPENKO (L.V.), KONONKO (A.G.) & BUCHATSKY (L.P.), 1978. — Study of the *Aedes aegypti* densonucleosis virus effect on preimaginal stages of different species of blood sucking mosquitoes (*Mikrobiol. Zh.*, 40 (3) : 352-356).
- LEBEDEVA (G.B.), KUZNETZOVA (M.A.), ZELENKO (A.P.) & GUDZ-GORDAN (A.P.), 1973. — Investigation of a virus disease of the densonucleosis type in a laboratory culture of *Aedes aegypti* (*Acta Virol.*, 17 : 253-258).
- MATTHEWS (R.E.F.), 1979. — Classification and nomenclature of viruses. S. Karger, Basel, 159 p.
- MEYNADIER (G.), AMARGIER (A.) & GENTY (Ph.), 1977. — Une virose de type densonucléose chez le Lépidoptère *Sibine fusca* Stoll (*Oléagineux*, 32 (8-9) : 357-361).
- MEYNADIER (G.), GALICHET (P.F.), VEYRUNES (J.C.) & AMARGIER (A.), 1977. — Mise en évidence d'une densonucléose chez *Diatraea saccharalis* (Lep. Pyralidae) (*Entomophaga*, 22 (1) : 115-120).

- MONSARRAT (P.), 1974. — Recherches sur *Oryctes rhinoceros* L. Comparaison du niveau des dégâts causés aux cocotiers par *Oryctes rhinoceros* L. avant et après l'introduction de *Rhabdionvirus oryctes* à Wallis (*Cah. ORSTOM, Biol.*, 22 : 92-111).
- RIVERS (C.F.) & LONGWORTH (J.F.), 1972. — A non occluded virus of *Junonia coenia* (Nymphalidae: Lepidoptera) (*J. Invert. Pathol.*, 20 : 369-370).
- SPILLING (C.R.), 1970. — Studies on the process of infection of selected insect virus. Thesis Ph. D., Worcester College of University, Oxford.
- SUN FOLIN & CHENG MING-SHU, 1981. — The isolation and characterization of a new virus of *Pieris rapae*. Extrait du V^e Congrès international de Virologie, Strasbourg : 369.
- VAGO (C.), MEYNADIER (G.) & DUTHOIT (J.L.), 1964. — Etude d'un nouveau type de maladie à virus chez les Lépidoptères (*Ann. Epiphyties*, 15 (4) : 475-479).
- WAKAGAKI (M.) & KAWASE (S.), 1980. — Structural proteins of denso-nucleosis virus isolated from the silkworm *Bombyx mori* infected with the flacherie virus (*J. Invert. Pathol.*, 36 (2) : 166-171).
- WATANABE (H.) & MAEDA (S.), 1978. — Genetic resistance to peroral infection with denso-nucleosis virus in the silkworm *Bombyx mori* (*J. Seric. Sci. Jap.*, Tokyo, 47 (3) : 209-214).
- WILDY (P.), 1971. — Classification and nomenclature of viruses, [in] Monographs in Virology, MELNICK (S.J.L.) ed., S. Karger publ., 81 p.
- ZELAZNY (B.), 1973. — Studies on *Rhabdionvirus oryctes*. III. Incidence in the *Oryctes rhinoceros* population of Western Samoa (*J. Invert. Pathol.*, 22 : 359-363).

(ORSTOM, services scientifiques centraux,
70-74, route d'Aulnay, F-93140 Bondy).

BULLETIN
DE LA
SOCIÉTÉ ENTOMOLOGIQUE DE FRANCE

EXTRAIT

1 AVRIL 1985

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 17217, ex 1

Cote :

B