

ETUDE HISTOPATHOLOGIQUE ET CYTOPATHOLOGIQUE
D'UNE MICROSPORIDIOSE NATURELLE CHEZ LA COCCINELLE DES
CUCURBITACÉES D'AFRIQUE, *HENOSEPILOACHNA ELATERII*
[COL. : COCCINELLIDAE]

B. S. TOGUEBAYE & B. MARCHAND

Laboratoire de Parasitologie, Département de Biologie Animale,
Faculté des Sciences, Université de Dakar, Sénégal.

La distribution de *Nosema henosepilachnae* Toguebaye & Marchand, 1984 (*Microsporida*, *Nosematidae*) au cours du développement de *Henosepilachna elaterii* Rossi, 1794 a été étudiée en microscopie photonique et électronique. Les insectes ont été récoltés au Sénégal sur plants de melon (*Colocynthis citrullus* L.), puis élevés au laboratoire.

La microsporidie se développe d'abord dans le vitellus des œufs, puis dans les divers tissus des embryons. Chez les larves et les adultes, elle provoque ensuite une infestation généralisée. On trouve de nombreuses spores principalement dans le tissu adipeux, les tubes de Malpighi, les muscles, les gonades et le tissu nerveux.

La transmission se fait très probablement par les voies transovarienne, orale et vénérienne. Cette microsporidiose réduit la fécondité des adultes mais ne provoque pas la mort immédiate de son hôte.

L'inventaire des protozoaires parasites d'insectes ravageurs de cultures au Sénégal nous a permis de mettre en évidence, pour la première fois, chez la Coccinelle des Cucurbitacées, *Henosepilachna elaterii* Rossi 1794, une microsporidiose due à *Nosema henosepilachnae* Toguebaye & Marchand, 1984.

N. henosepilachnae se développe en contact direct avec le cytoplasme des cellules hôtes et présente à tous les stades de son développement 1 ou 2 diplocaryons. Sa sporogonie est disporoblastique et aboutit à la formation de spores fusiformes (5,4 - 6 × 3,2 - 4,2 µm) (fig. 1).

Nous avons étudié, en microscopie photonique, l'incidence de cette microsporidiose sur les divers tissus de la coccinelle, et en microscopie électronique, son évolution au niveau du testicule.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des œufs, des larves et des adultes de *Henosepilachna elaterii* ont été récoltés sur melon (*Colocynthis citrullus* L.) à Dakar et à Savoigne au Sénégal. Les larves et les adultes dévorent l'épiderme des feuilles, qui deviennent grises et se dessèchent. Selon Collingwood *et al.* (1981),

si l'attaque est importante, la plante entière peut dépérir. Des Coccinelles récoltées à Dakar ont été conservées au laboratoire, où elles se sont reproduites régulièrement pendant 1 an. Elles étaient exclusivement nourries avec des feuilles de melon.

En élevage, la totalité des œufs, des larves et des adultes disséqués étaient parasités. Dans la nature, la fréquence du parasitisme est variable. Les fréquences observées à Dakar et à Savoigne sont reportées dans le tableau 1.

TABLEAU 1

Fréquence des Coccinelles, Henosepilachna elaterii, parasitées par Nosema henosepilachnae. Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'individus disséqués

Lieux de récolte	Oeufs	Larves	Adultes ♂♂	Adultes ♀♀
Dakar	100 % (28)	83 % (37)	90 % (21)	72 % (18)
Savoigne	0 % (7)	0 % (5)	33 % (12)	29 % (21)

Microscopie photonique. Les pièces ont été fixées dans le Carnoy, déshydratées successivement par l'éthanol et le butanol, puis incluses dans le paraplast. Des coupes de 5 μ m ont été réalisées, puis colorées à l'Azan de Heidenhain.

Microscopie électronique. Les testicules ont été fixés par le glutaraldehyde et le tetroxyde d'osmium, puis déshydratés par l'éthanol et l'oxyde de propylène. Ils ont ensuite été inclus dans l'épon, selon la méthode précédemment décrite (Toguebaye & Marchand, 1984).

OBSERVATIONS

HISTOPATHOLOGIE

En microscopie photonique, nous avons cherché à caractériser les lésions provoquées par *N. henosepilachnae* dans les différents tissus des embryons, des larves et des adultes de la coccinelle.

Dans les œufs embryonnés, la microsporidie se développe dans les divers tissus de l'embryon, mais en n'entraînant, le plus souvent, que des lésions peu importantes. Chez les larves et les adultes, par contre, elle provoque d'importantes lésions dans presque tous les tissus de son hôte. On trouve ainsi des spores en grand nombre dans le tissu adipeux, les tubes de Malpighi, les muscles, le tissu nerveux, les testicules, les ovarioles, le tube digestif, les trachées et enfin dans l'hypoderme.

Le tissu adipeux est le plus parasité. On assiste à une telle multiplication de *N. henosepilachnae* dans le cytoplasme des adipocytes que, chez les individus très infestés, le tissu adipeux est entièrement remplacé par des spores (fig. 2).

Les tubes de Malpighi sont également très parasités. La microsporidie s'y développe aussi bien dans la gaine musculaire périphérique, que dans les cellules épithéliales. L'éclatement des cellules hôtes libère de très nombreuses spores, qui s'accumulent dans la lumière des tubes (fig. 3).

Les muscles squelettiques sont, eux aussi, le lieu de prolifération de *N. henosepilachnae*. On y observe de nombreux foyers d'infestation caractérisés par la destruction locale des fibres musculaires et leur remplacement par des amas de spores (fig. 4).

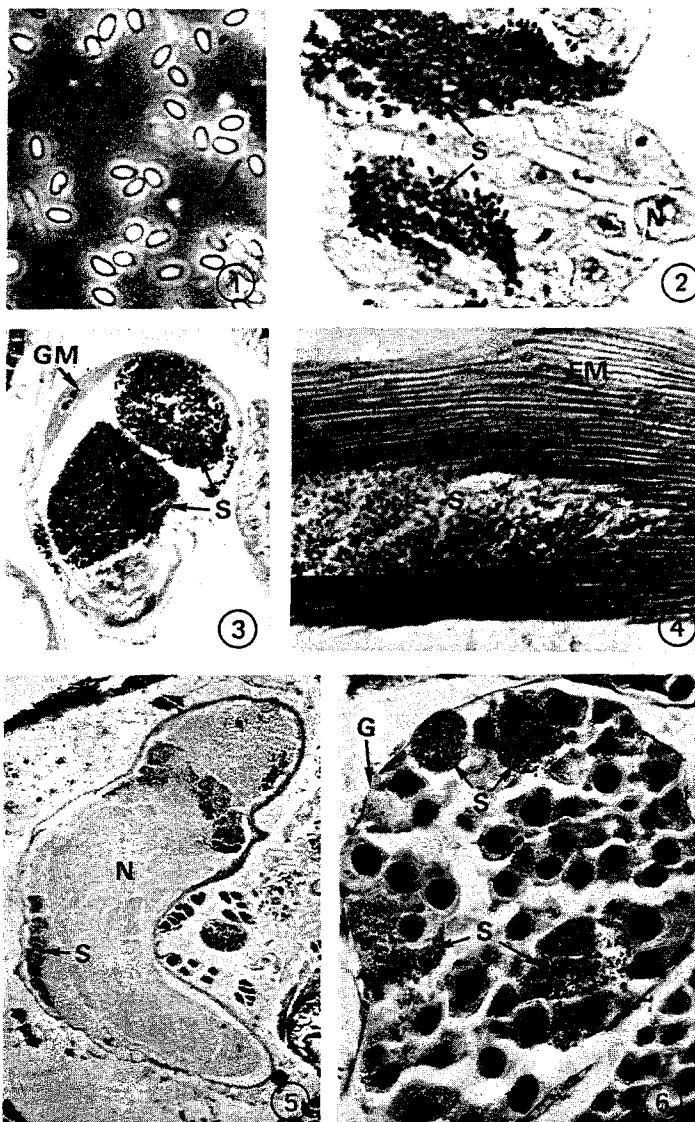


Fig. 1. Frottis frais de spores de *Nosema henosepilachnae*. X 1000.

Fig. 2. Lobes de tissu adipeux d'une larve contenant des spores (S). N = noyau d'un adipocyte. X 450.

Fig. 3. Tube de Malpighi d'un adulte contenant de nombreuses spores (S) dans la lumière du tube et dans la gaine musculaire périphérique (GM.) X 350.

Fig. 4. Muscle thoracique d'un adulte. Les fibres musculaires (FM) sont détruites et remplacées par des amas de spores (S). X 450.

Fig. 5. Ganglions cérébroïdes d'un adulte parasité. N = neuropile, S = amas de spores dans le cortex. X 100.

Fig. 6. Coupe de la région apicale d'une ovariole montrant des spores (S) dans le cytoplasme des cellules germinales. G = gaine de l'ovariole. X 400.

Dans le tissu nerveux, la microsporidie attaque surtout la région périphérique (cortex) des ganglions cérébroïdes et des ganglions de la chaîne ventrale (fig. 5). Lorsque l'infestation est très avancée, le cortex peut être remplacé, dans sa quasi totalité, par les divers stades de développement du parasite.

Dans les ovarioles, *N. henosepilachnae* se multiplie dans le cytoplasme des cellules germinales, qu'elle peut envahir complètement (fig. 6). On trouve ainsi des spores dans le vitellus des ovocytes (fig. 7).

Dans les testicules, on observe des spores dans la paroi des tubes séminifères, dans les cellules germinales jeunes et entre les spermatozoïdes mûrs.

Le tube digestif présente des spores de la microsporidie sur toute sa longueur, mais il est toutefois moins parasité que les organes précédents, et ce, tant chez les larves que chez les adultes. On trouve des foyers d'infestation ponctuels dans la tunique conjonctivo-musculaire périphérique et, plus rarement, dans les cellules épithéliales du tube (fig. 8). Lorsqu'une cellule épithéliale est très parasitée, elle éclate, libérant des spores dans la lumière intestinale (fig. 9).

Les cellules trachéolaires (fig. 10) et les cellules hypodermiques (fig. 11) sont également atteintes, mais elles ne présentent que de rares lésions discontinues.

CYTOPATHOLOGIE

Seules les lésions testiculaires ont été étudiées en microscopie électronique. Cette étude avait pour but de rechercher la présence éventuelle du parasite dans les spermatozoïdes.

Dans les testicules des adultes, comme dans ceux des larves de dernier stade, on trouve les diverses phases de développement et de nombreuses spores de *N. henosepilachnae*. On les observe aussi bien dans les cellules germinales jeunes (spermatogonies, spermatocytes, spermatides), que dans les cellules somatiques réalisant la paroi des tubes séminifères.

Lorsqu'une spermatide est parasitée, elle s'hypertrophie. Dans son cytoplasme apparaissent alors des granulations hétérogènes opaques aux électrons (fig. 12). Elle éclate ensuite, libérant des spores à l'intérieur du cyste. Ces dernières infestent les spermatides voisines. L'infestation se propage ainsi jusqu'à détruire le cyste dans sa totalité. Toutefois, les cellules de la paroi du cyste constituent une barrière, empêchant une propagation rapide d'un cyste à un autre. Il est courant de voir côte à côte un cyste sain et un cyste très parasité (fig. 13).

Dans la vésicule séminale des individus adultes, entre les spermatozoïdes mûrs, on trouve de nombreuses spores libres (fig. 14). Mais, jamais, nous n'avons observé de spores à l'intérieur même d'un spermatozoïde.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'examen histologique des œufs, des larves et des adultes de *H. elaterii* atteints de la microsporidiose à *N. henosepilachnae*, montre que cette microsporidie a un tropisme tissulaire très large. Presque tous les tissus sont atteints.

Le tissu adipeux est le plus infesté ; il est rapidement détruit et remplacé par le parasite. L'évolution de la maladie dans ce tissu semble donc trop rapide pour permettre une régénération compensatrice des adipocytes. Le même phénomène avait déjà été observé chez les coléoptères *Otiorrhynchus equestris* Richter (*Curculionidae*), *Melolontha maelolontha* L. (*Scarabaeidae*), *Hippodamia convergens* Guerin (*Coccinellidae*) parasités respectivement par *Nosema equestris* Hostounsky & Weiser, 1980 *Nosema maelolonthae* Krieg (Kharazi-Pakdel, 1968) et *Nosema hippodamiae* Lipa & Steinhaus, 1959.

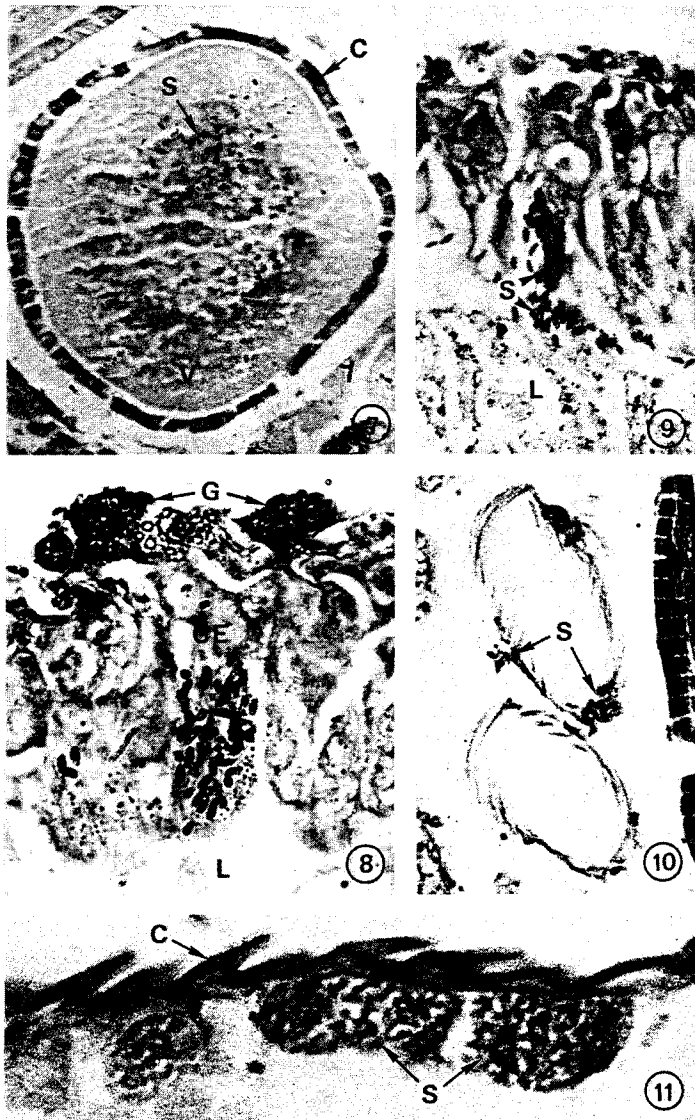


Fig. 7. Coupe d'un ovocyte infesté. C = chorion ; S = spores ; V = vitellus. X 250.

Fig. 8 . Intestin moyen d'un adulte parasité. CE = cellule épithéliale atteinte ; G = gaine musculaire ; L = lumière intestinale. X 450.

Fig. 9. Intestin moyen d'un adulte. Une cellule épithéliale parasitée se désagrège et libère des spores (S) dans la lumière intestinale (L). X 350.

Fig. 10. Trachée d'un adulte parasité. S = spores. X 450.

Fig. 11. Hypoderme d'un adulte contenant des amas de spores (S). C = cuticule. X 450.

L'abondance du parasite dans les tubes de Malpighi avait déjà été signalée dans les larves d'un autre coléoptère *Hypera postica* Gyllenhal infestées par *Nosema hyperae* Youssef, 1974. La lyse des cellules des tubes entraîne très vraisemblablement chez *H. postica* comme chez *H. elaterii*, une importante perturbation de la fonction excrétrice chez les individus microsporidiosés.

N. henosepilachnae détruit également les muscles striés des larves et des adultes de *H. elaterii*, comme cela avait déjà été signalé chez d'autres coléoptères, tels que *Gastroidea polygona* L. (*Chrysomelidae*) parasité par *Nosema gastroideae* (Hostounsky & Weiser, 1973), *Pissodes strobi* Peck (*Curculionidae*) infesté par *Nosema* sp. (Street *et al.*, 1975) et *Anthonomus grandis* Boheman (*Curculionidae*) parasité par *Nosema gastri* (McLaughlin, 1969). Dans chacun de ces cas le tissu musculaire infesté est progressivement lysé et remplacé par les spores du parasite. Nous n'avons pas fait d'expérimentation précise à ce sujet, mais on peut raisonnablement penser que l'activité motrice des individus malades est réduite, comme cela a été observé chez la noctuelle *Heliothis armigera* Hübner parasitée par *Nosema manierae* Toguebaye & Bouix (Toguebaye & Bouix, 1982) et chez *Hypera postica* en présence de *Nosema hyperae* (Youssef, 1974).

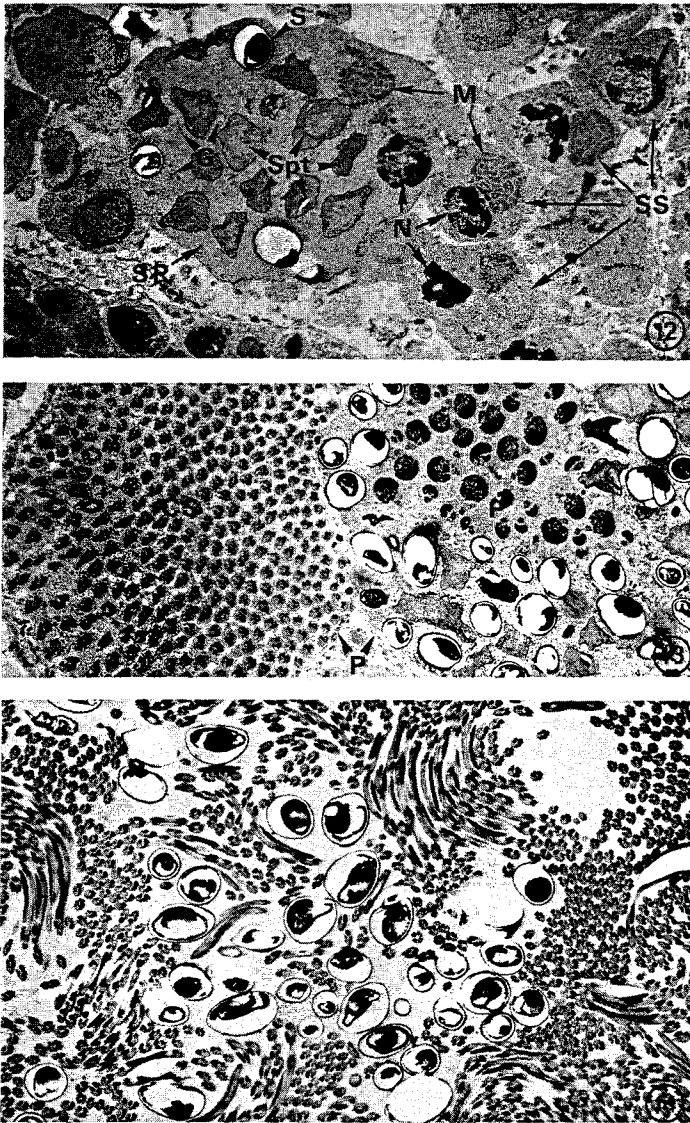
La destruction du cortex des ganglions cérébroïdes et des ganglions de la chaîne nerveuse centrale perturbe très probablement le comportement des individus atteints. Une telle infestation du tissu nerveux avait déjà été signalée chez divers coléoptères comme *Coccinella septempunctata* L. (*Coccinellidae*) infesté par *Nosema coccinellae* (Lipa, 1968). *Oryzaephilus surinamensis* L. (*Cuculiidae*) parasité par *Nosema oryzaephili* (Burges *et al.*, 1971).

Le développement de *N. henosepilachnae* dans les ovarioles de la Coccinelle des Cucurbitacées provoque la destruction d'un certain nombre d'ovocytes, mais il permet néanmoins la formation d'œufs viables ne contenant que peu de spores. Ces œufs parasités assurent donc une transmission transovarienne, comme cela avait déjà été observé par exemple chez *N. heliothidis* Lutz & Splendore (Brooks, 1968) et chez *N. plodiae* Kellen & Lindegren (Kellen & Lindegren, 1971). L'infestation des œufs d'insectes par les microsporidies diminue généralement la fertilité de ces œufs en provoquant la mort de l'embryon (Kellen & Lindegren, 1971 ; Windels *et al.*, 1976). Chez *H. elaterii*, *N. henosepilachnae* ne semble pas tuer beaucoup d'embryons. En effet, dans nos élevages, les œufs parasités donnaient pratiquement tous naissance à des larves, qui naturellement étaient infestées.

Au niveau du tube digestif, la libération des spores dans la lumière intestinale avait déjà été décrite (Jacobs *et al.*, 1978 ; Abe & Fujiwara, 1979). Pour Abe & Fujiwara (1979), les spores de *Pleistophora* sp. libérées dans l'intestin de *Bombyx mori* L. peuvent germer pour réinfester de nouvelles cellules épithéliales. Par contre, nous avons pu observer des spores dans des frottis de crottes de larves et d'adultes. Donc, même s'il y a autoinfestation au niveau de l'intestin, il y a également expulsion de spores dans la nature avec les excréments et donc, une nouvelle possibilité d'infestation par voie orale.

Les cellules trachéolaires et les cellules hypodermiques se sont également révélées sensibles, comme c'est le cas, par exemple, chez les coléoptères *Gastroidea polygona* L. (*Chrysomelidae*) parasité par *Nosema gastroideae* (Hostounsky & Weiser, 1973) et *Coccinella septempunctata* L. infesté par *Nosema coccinellae* (Lipa, 1968). Chez ces 2 insectes, l'infestation des trachées et de l'hypoderme est importante, tandis que chez *H. elaterii* le degré d'infestation est trop faible pour entraîner une perturbation significative de la respiration et de la mue chez les individus atteints.

Enfin, dans les testicules des mâles, on trouve de nombreuses spores de *N. henosepilachnae* entre les spermatozoïdes mûrs, comme cela a déjà été signalé chez *Pityogenes calcaratus* Eichhoff (*Scolytidae*) infesté par *Nosema calcarati* (Purrini & Halperin, 1982) ; mais jamais nous n'avons



- Fig. 12. Coupe transversale en microscopie électronique d'un cyste montrant des spermatides saines (SS) et une spermatide parasitée (SP). La spermatide parasitée augmente considérablement de volume et son cytoplasme contient des granulations opaques aux électrons (G). M = mitochondries des spermatides associées en Nebenkern ; N = noyau des spermatides ; S = spores ; Spt = sporonte. X 4000.
- Fig. 13. Coupe transversale en microscopie électronique d'un tube séminifère parasité. On voit côte à côte un cyste sain (CS) contenant des spermatides âgées et un cyste parasité (CP) contenant des spermatides jeunes. L'infestation se propage rapidement à l'intérieur d'un même cyste en détruisant les cellules germinales, mais la paroi (P) du cyste joue le rôle d'une barrière empêchant la propagation de l'infestation d'un cyste à l'autre. X 4000.
- Fig. 14. Coupe en microscopie électronique de la vésicule séminale d'un adulte parasité. De nombreuses spores libres sont visibles entre les spermatozoïdes mûrs. X 5000.

observé de spores à l'intérieur même d'un spermatozoïde. Les spores contenues dans les testicules proviennent des cellules somatiques limitant les tubes séminifères, mais surtout des spermatozoïdes parasités qui ont dégénéré. Les spermatozoïdes arrivés à maturité sont normaux et proviennent de cystes restés sains grâce à la présence d'une barrière réalisée par les cellules somatiques de leur paroi. Certains cystes produisent ainsi des spermatozoïdes normaux, tandis que d'autres produisent des spores.

La fertilité des mâles parasités est donc diminuée. Mais il reste toujours un certain nombre de cystes sains, qui assurent une production relativement importante de spermatozoïdes normaux. Il y a donc possibilité de fécondation, mais il y a aussi possibilité de transmission vénérienne par l'intermédiaire des spores véhiculées dans le sperme, entre les spermatozoïdes.

Une telle transmission vénérienne avait déjà été notée, par exemple, pour *N. heliothidis* Lutz & Splendore (Brooks, 1968) et pour *N. plodiae* Kellen & Lindegren (Kellen & Lindegren, 1971), mais son étude en microscopie électronique n'avait jamais été réalisée.

L'ensemble de ces observations histologiques et cytologiques montre que *N. henosepilachnae* provoque chez son hôte, *H. elaterii*, une infestation généralisée. Les tissus atteints sont lysés et remplacés par les spores du parasite. Ce phénomène devrait normalement aboutir à la mort des individus parasités dès les premiers stades larvaires, comme cela a été observé, par exemple, chez *Heliothis armigera* Hübner parasité expérimentalement par *N. manierae* Toguebaye & Bouix (Toguebaye & Bouix, 1982), chez *Gastroidea polygoni* L. infesté par *Nosema gastroideae* (Hostounsky & Weiser, 1973) et chez *Tribolium castaneum* Herbst parasité par *Nosema whitei* Weiser (Milner, 1972). En fait, si cette microsporidiose diminue vraisemblablement la longévité des coccinelles parasitées, elle ne provoque cependant pas une mort rapide. Dans nos élevages, où tous les individus étudiés étaient parasités, nous n'avons enregistré qu'une très faible mortalité larvaire. La quasi totalité des individus parasités deviennent adultes et se reproduisent. La fertilité de ces insectes est très certainement réduite par la présence du parasite dans les cellules germinales, mais elle reste néanmoins suffisante pour assurer, au moins en élevage, le maintien d'une population relativement stable tout au long de l'année.

SUMMARY

Histological and cytological study of a natural microsporidiosis in an African ladybird, *Henosepilachna elaterii* [Col. : Coccinellidae]

The distribution of *Nosema henosepilachnae* Toguebaye & Marchand, 1984 (*Microsporida*, *Nosematidae*) during development of *Henosepilachna elaterii* Rossi, 1794, has been studied by light and electron microscopy. Insects were collected in Senegal, on melon (*Colocynthis citrullus* L.), then bred in laboratory.

The microsporidia develops first in the egg vitellus, then in various tissues of the developing embryo. In larvae and adults it causes a general infection. Numerous spores were found in adipose tissue, Malpighian tubules, muscles, gonades and nervous tissue.

Obviously this microsporidiosis is transovarially, venery and perorally transmitted. It reduces adult fecundity, but does not cause immediately the death of its host.

BIBLIOGRAPHIE

- Abe, Y. & Fujiwara, T. — 1979. Mode of multiplication of Protozoan *Pleistophora* sp. [*Microsporida* : *Nosematidae*] in the midgut epithelium of silkworm larvae. — *J. Sericult. Sci. Japan*, 48, 19-23.
- Brooks, W.M. — 1968. Transovarian transmission of *Nosema heliothidis* in the corn earworm, *Heliothis zea*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 11, 510-512.
- Burges, H.D., Canning, E.U. & Hurst, J.A. — 1971. Morphology, development and pathogenicity of *Nosema oryzaephili* n. sp. in *Oryzaephilus surinamensis* and its hosts range among granivorous insects. — *J. Invertebr. Pathol.*, 17, 419-432.
- Collingwood, E.F., Bourdouxhe, L. & Defrancq, M. — 1981. Les principaux ennemis des cultures maraîchères au Sénégal. — *A.G.C.D.*, Bruxelles.
- Hostounsky, Z. & Weiser, J. — 1973. *Nosema gastroideae* sp. n. [*Nosematidae*, *Microsporidia*] infecting *Gastroidea polygoni* and *Leptinotarsa decemlineata* [*Coleoptera*, *Chrysomelidae*]. — *Acta Entomol. Bohem.*, 70, 345-350.
- Hostounsky, Z. & Weiser, J. — 1980. A microsporidian infection in *Otiorrhynchus equestris* [*Coleoptera*, *Curculionidae*]. — *Vest. Cs. Spoloc. Zool.*, 44, 160-165.
- Jacobs, F.J., Kellner, N. & van der Vorst, E. — 1978. Development, diagnosis and control of *Nosema* disease in honeybees (*Apis mellifera* L.). — *Vlaams Diergeneesk Tijds*, 47, 242-251.
- Kellen, W.R. & Lindegren, J.E. — 1971. Modes of transmission of *Nosema plodiae* Kellen & Lindegren, a pathogen of *Plodia interpunctella* (Hübner). — *J. Stored Prod. Res.*, 7, 31-34.
- Kharazi-Pakdel, A. — 1968. Recherches sur la pathogénie de *Nosema melolonthae* Krieg. — *Entomophaga*, 13, 289-317.
- Lipa, J.J. — 1968. *Nosema coccinellae* sp. n., a new microsporidian parasite of *Coccinella septempunctata*, *Hippodamia tredecimpunctata* and *Myrrha octodecimguttata*. — *Acta Protozool.*, 5, 375-380.
- Lipa, J.J. & Steinhaus, E.A. — 1959. *Nosema hyppodamiae* n. sp., a microsporidian parasite of *Hippodamia convergens* Guerin [*Coleoptera* : *Coccinellidae*]. — *J. Insect Pathol.*, 1, 304-308.
- McLaughlin, R.E. — 1969. *Glugea gasti* sp. n., a microsporidian pathogen of the boll weevil *Anthonomus grandis*. — *J. Protozool.*, 16, 84-92.
- Milner, R.J. — 1972. *Nosema whitei*, a microsporidian pathogen of some species of *Tribolium*. III. Effect on *T. castaneum*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 19, 248-255.
- Purrini, K. & Halperin, J. — 1982. *Nosema calcarati* n. sp. [*Microsporidia*], a new parasite of *Pityogenes calcaratus* Eichhoff [*Col.* : *Scolytidae*]. — *Z. Angew. Entomol.*, 94, 87-92.
- Street, D.A., Sprague, V. & Herman, D.M. — 1975. Brief study of microsporidian pathogen in the white pine weevil *Pissodes strobi*. — *Chesap. Sci.*, 48, 32-38.
- Toguebaye, B.S. & Bouix, G. — 1982. Etude pathologique de l'infestation expérimentale d'*Heliothis armigera* (Hübner) [*Lepidoptera*, *Noctuidae*] par *Nosema manierae* (Toguebaye & Bouix) [*Microsporidia*, *Nosematidae*]. — *Cot. Fib. Trop.*, 32, 211-222.
- Toguebaye, B.S. & Marchand, B. — 1984. Etude ultrastructurale des stades de développement et de la mitose sporogonique de *Nosema henosepilachnae* n. sp. [*Microsporidia*, *Nosematidae*] parasite de *Henosepilachna elaterii* (Rossi, 1794) [*Coleoptera*, *Coccinellidae*]. — *Protistologica*, 20, 165-179.
- Windels, M.B., Chiang, H.C. & Furgala, B. — 1976. Effects of *Nosema pyrausta* on pupa and adult stages of European corn borer *Ostrinia nubilalis*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 27, 239-242.
- Youssef, N.N. — 1974. Biology and pathogenicity of the microsporidian *Perezia hyperae* sp. n. a pathogen of the alfalfa weevil, *Hypera postica*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 24, 282-292.