

LA PATHOGÉNÈSE DES INFECTIONS SIMULTANÉES  
A *ADELINA MELOLONTHAE* ET A *NOSEMA MELOLONTHAE*  
CHEZ *MELOLONTHA MELOLONTHA*

PAR

A. KHARAZI-PAKDEL & A. AMARGIER

Faculté d'Agronomie, Karadj, Iran  
Station de Recherches Cytopathologiques I.N.R.A.-C.N.R.S., 30-Saint-Christol, France

---

L'infection par deux protozoaires *Adelina melolonthae* TUZET-VAGO et *Nosema melolonthae* KRIEG a été réalisée chez des larves de *Melolontha melolontha* L. au 3<sup>e</sup> âge.

Les deux parasites se développent dans le tissu adipeux, mais dans des zones différentes.

Dans la partie la plus extérieure seul *A. melolonthae* envahit le tissu adipeux qui prend l'aspect de feuillets ou de cordons. On trouve aussi différents stades de développement de ce parasite dans les cellules hypodermiques et les cellules péri-cardiales. Autour de l'intestin, *N. melolonthae* forme avec les lobes qu'il parasite des masses volumineuses.

*A. melolontha* et *N. melolonthae* ne coexistent jamais dans un même lobe.

L'existence chez les Invertébrés de syndromes pathologiques causés par les actions successives ou simultanées de plusieurs affections a été montrée. Le mécanisme des complexes de maladies ont été décrits et les relations entre les processus pathologiques ont été établis.

Les pathogénèses d'interactions de maladies à virus, bactéries, ou maladies physiologiques sont données en détail (VAGO, 1956, 1963). Nous étudions ici le cas du développement simultané de deux protozoonoses dans des larves de *Melolontha melolontha* L. (Coléoptère, *Scarabaeidae*).

#### Agents pathogènes participant au complexe

Les parasites ont été déjà étudiés séparément chez les larves de *M. melolontha*. Il s'agit d'une coccidie du genre *Adelina* décrite par TUZET *et al.* (1966) et d'une microsporidie du genre *Nosema* dont HUGER (1964) a défini les caractéristiques.

Les ookystes d'*Adelina melolonthae* TUZET-VAGO ont de 30 à 35  $\mu$  de diamètre, ils contiennent de 6 à 14 sporocystes de 11  $\mu$  de diamètre, renfermant chacun 2 sporozoïtes. Les sporozoïtes, éléments infectieux venus de l'intestin, pénètrent dans les hémocytes ou le tissu adipeux et s'y développent.

*Nosema melolonthae* KRIEG parasite les cellules du tissu adipeux. Les spores introduites dans le tube digestif s'ouvrent, émettent un filament polaire et un sporoplasme qui traverse la paroi intestinale et devient successivement, dans le sang et le tissu adipeux, schizontes, sporontes, sporoblastes. Ces derniers reforment des spores ovoïdes de 4 à 7  $\mu$  de long et 2,5 à 3  $\mu$  de large. (KHARAZI, 1968.)

Ces deux protozoaires se développant dans les mêmes tissus, il était intéressant de voir comment ils se répartissent.

### Matériel et méthodes

Nous avons utilisé des larves de *M. melolontha* du 3<sup>e</sup> stade naturellement infectées par *A. melolonthae* à un stade assez précoce de la maladie pour que les symptômes ne soient pas apparents.

Ces larves ont été réparties en deux lots : les unes ont été maintenues en élevage à 25°C sans traitement, les autres ont été soumises à l'ingestion forcée de 1/10 ml de suspension de *N. melolonthae* avec  $16 \times 10^6$  spores par larve. Les insectes ainsi traités ont été remis en élevage à 25°C.

Les larves atteintes à la fois par *A. melolontha* et *N. melolonthae* présentent les symptômes dus à chacune des maladies. Elles ont une coloration légèrement grisâtre et un aspect granuleux, ce qui traduit l'infection par *A. melolonthae* et de plus des taches blanches sous la peau, réparties irrégulièrement dans tout le corps, ce qui correspond au parasitisme par *N. melolonthae*.

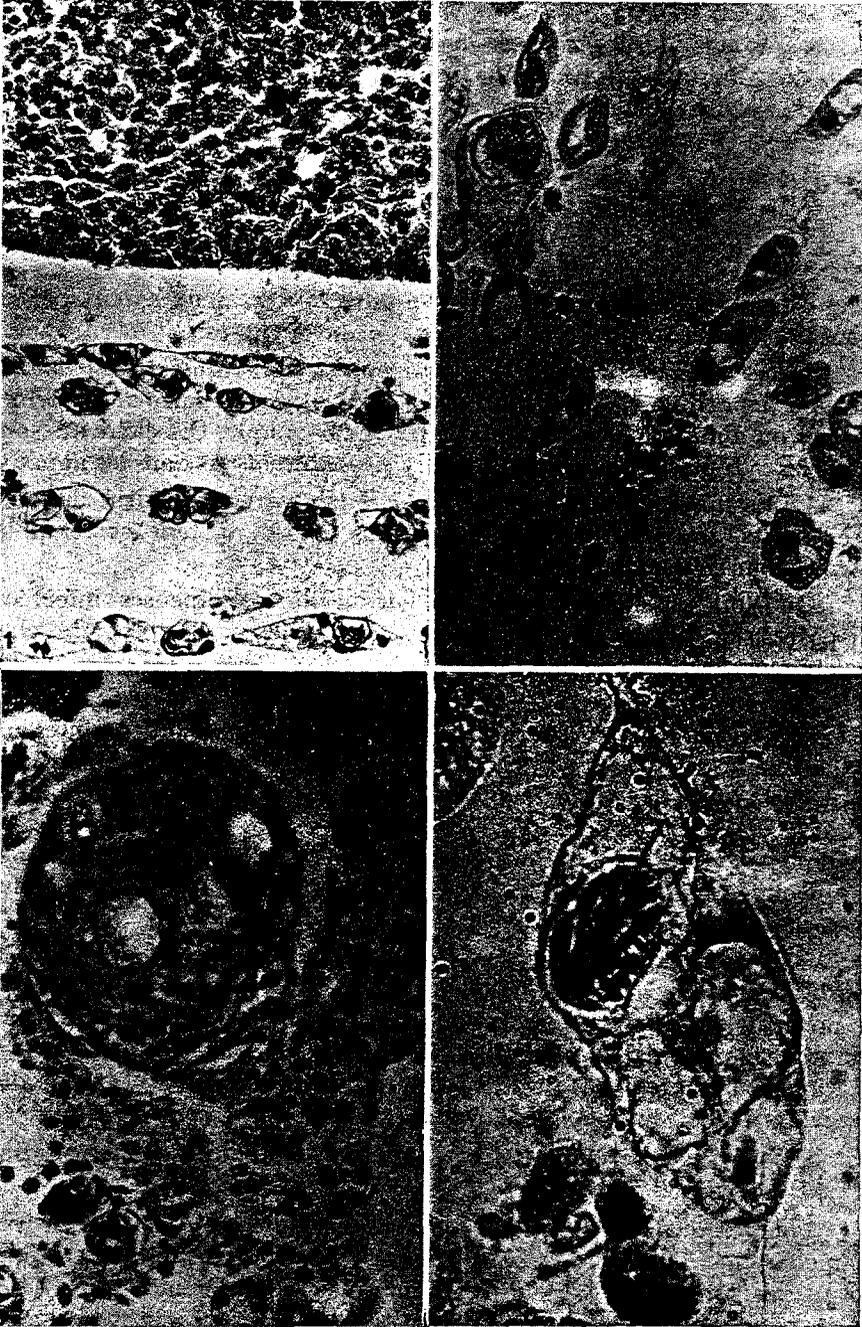
Les larves de 3<sup>e</sup> stade montrent une faible sensibilité à *N. melolonthae*. La mortalité due à ce parasite seul varie de 30 à 80 % suivant leur âge dans ce stade (KHARAZI, 1968). Les symptômes apparaissent environ deux mois après l'infection.

FIG. 1. Fragments de lobes de tissu adipeux. Celui qui est parasité par *N. melolonthae* est compact. Ceux qui sont infectés par *A. melolonthae* sont formés de lignes de cellules parallèles. Coloration VAGO-AMARGIER  $\times 300$ .

FIG. 2. Cellules péricardiales : l'une est parasitée par *A. melolonthae*, d'autres sont vacuolisées. Coloration VAGO-AMARGIER  $\times 450$ .

FIG. 3. Hémocytes autour d'ookystes d'*A. melolonthae* formant un granulome. Coloration VAGO-AMARGIER  $\times 340$ .

FIG. 4. Microschizogonie avec schizozoïtes d'*A. melolonthae* dans une cellule péricardiale. Coloration VAGO-AMARGIER  $\times 1380$ .



En vue d'une étude histologique, des larves infectées naturellement par *A. melolonthae*, ayant subi l'ingestion forcée de *N. melolonthae* et montrant les symptômes des deux maladies, ont été fixées dans le Duboscq. Après déshydratation et inclusion, les larves ont été coupées transversalement. Les sections de 6  $\mu$  d'épaisseur ont été colorées par la méthode VAGO-AMARGIER (1963) et par l'hémalun picroindigocarmin.

### Étude histologique

L'examen des différents tissus montre que les deux agents pathogènes se répartissent dans deux zones concentriques.

Dans l'hypoderme et le tissu adipeux périphérique *A. melolonthae* occupe les cellules souvent sous forme d'ookystes, parfois de formes isolées ou d'autres formes d'évolution schizogonique. Ces éléments sont dans les cytoplasmes des cellules, mais ne pénètrent pas dans les noyaux.

Le tissu adipeux parasité par *A. melolonthae* est constitué de lobes très petits, souvent séparés, quelquefois réunis de telle sorte qu'ils forment un réseau lâche.

On voit aussi sur les coupes, des cellules adipeuses infectées, disposées en lignes et les ookystes leur donnent l'aspect de cha-pelets (fig. 1).

En plus du tissu adipeux périphérique et de l'hypoderme envahi par la coccidie, nous avons observé des cellules péricardiales contenant un élément d'*A. melolonthae*. Parfois aussi les cellules péricardiales sont lésées sans contenir d'agent pathogène, elles sont vacuolisées (fig. 2.) Près du vaisseau dorsal nous avons remarqué la présence de quelques nodules (fig. 3) formés d'hémocytes qui entourent soit un seul ookyste, soit plusieurs ookystes, soit encore des stades d'évolution du parasite (fig. 4).

L'examen des coupes révèle que les diverses formes d'*A. melolonthae* se trouvent dans la zone la plus périphérique de la larve : hypoderme, cellules péricardiales, lanières les plus externes du tissu adipeux. Toutefois, nous avons pu voir dans quelques cas des formations nodulaires près de la basale de l'intestin constituées par des éléments d'*A. melolonthae* environné de nombreux hémocytes.

Les muscles et le tissu nerveux ne sont pas atteints par *A. melolonthae*.

Pour la prolifération de la microsporidie, le tissu adipeux situé immédiatement autour de l'intestin est le plus favorable. Elle transforme les lobes de tissu adipeux en amas volumineux (fig. 5) qui correspondent aux taches blanches que l'on voit sur les insectes vivants grâce à la transparence de la peau. Ces amas ont des tailles variables de l'ordre de plusieurs millimètres. Ils sont constitués en partie par

le parasite : spores libres et agrégats de sporoblastes entassés dans les cytoplasmes des cellules, et en partie par les restes des cellules parasitées : en particulier, les noyaux des cellules qui ne sont jamais détruits.

Dans ces masses on note une forte cohésion des différents éléments : spores et noyaux, leur répartition est variable; cependant on retrouve de façon à peu près constante une plus grande quantité de noyaux à la périphérie des amas.



FIG. 5. Lobe de tissu adipeux devenu un amas de spores et de noyaux cellulaires. ta : tissu adipeux, i : intestin, tm : tube de Malpighi. Coloration VAGO-AMARGIER  $\times 125$ .

Il ne semble pas que la forte densité des noyaux dans le tissu adipeux atteint par *N. melolonthae* soit une conséquence de la multiplication cellulaire. Nous pensons plutôt qu'elle résulte de l'appauvrissement des cellules adipeuses en substances de réserves, qui provoque une diminution du volume des cytoplasmes. Ainsi, le volume total du tissu adipeux est diminué bien que le nombre de cellules reste constant.

Par ailleurs, les larges espaces laissés vides autour des amas font aussi penser à une contraction du tissu adipeux. Ceci s'était manifesté

de la même façon lorsque les larves étaient infectées par *N. melolonthae* seul (KHARAZI, 1968).

En dehors des cellules adipeuses *N. melolonthae* se répand peu dans les autres tissus. Nous avons observé quelques spores dans le vaisseau dorsal et dans la paroi de l'intestin. Dans ces derniers cas, il s'agit de spores isolées ou de groupes de 4 à 5 spores au maximum.

### Conclusion

L'examen de larves de *M. melolontha* atteintes de deux protozooses simultanées montre que les deux parasites se développent dans le tissu adipeux, mais tandis que *A. melolonthae* occupe les cellules adipeuses périphériques, les cellules de l'hypoderme et quelques cellules péricardiales, *N. melolonthae* s'installe plus particulièrement dans les lobes situés autour de l'intestin.

Nous n'avons jamais remarqué la présence des deux agents pathogènes à la fois dans les mêmes cellules, pas même dans des cellules d'un même lobe. Alors que chez *Galleria mellonella* nous avons observé lors d'une double infection virale (AMARGIER, MEYNADIER & VAGO, 1968) le développement de la polyédrie nucléaire et de la densonucléose dans des cellules voisines, nous n'avons pu retrouver une répartition semblable chez les larves de *M. melolontha* infectées par deux protozoaires.

### SUMMARY

Pathogenesis of simultaneous infections by *Adelina melolonthae* and *Nosema melolonthae* for *Melolontha melolontha*

Larvae of *Melolontha melolontha* L. at the 3rd stage were infected with two protozoans *Adelina melolonthae* TUZET-VAGO and *Nosema melolonthae* KRIEG.

The two parasites developed in different areas of the fat body. The fat body of the outer part was invaded by *A. melolonthae* alone, taking the aspect of thin sheets or cords. Various stages in the development of the parasite were shown in hypodermic and pericardial cells. *N. melolonthae* formed a heavy mass round the gut with the parasitized lobes.

*A. melolonthae* never coexisted with *N. melolonthae* in the same lobe.

### BIBLIOGRAPHIE

- AMARGIER, A., MEYNADIER, G. & VAGO, C. — 1968. Un complexe de viroses : polyédrie nucléaire et densonucléose chez le Lépidoptère *Galleria mellonella* L. — *Mikroskopie*, **23**, 245-51.
- HUGER, A. — 1964. Entwicklungskreis und Pathologie einer Mikrosporidiose durch *Nosema melolonthae* (KRIEG) comb. nov. bei Engerlingen von *Melolontha melolontha* (L.) [Col. Melolonthidae]. — *Entomophaga, Mem. hors série* 2, 83-90.
- KHARAZI-PARKDEL, A. — 1968. Recherches sur la pathogénie de *Nosema melolonthae* KRIEG. — *Entomophaga*, **13**, 289-317.

- TUZET, O., VAGO, C., ORMIERES, R. & ROBERT, P. — 1966. *Adelina melolonthae* n. sp. coccidie parasite des larves de *Melolontha melolontha*. — *Arch. Zool. exper.*, **106**, 513-521.
- VAGO, C. — 1956. L'enchaînement des maladies chez les insectes. — *Ed. spec. Comm. Seric. intern.*, 181 pp.
- 1963. Predispositions and interrelations in insect diseases. In : *Insect Pathology* (E. A. STEINHAUS, éd.), vol. 1, *Acad. Press*, New York & London, 339-379.
- VAGO, C. & AMARGIER, A. 1963. Coloration histologique pour la différenciation des corps d'inclusion polyédriques de virus d'insectes. — *Annls. Epiphyt.*, **14**, 269-274.