Répercussions éventuelles de la lutte microbiologique sur les Vertébrés

Cas des insecticides biologiques à base de Virus

par E. KURSTAK

*Département de Microbiologie et Immunologie
Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada*

Résumé

L'emploi d'insecticides à base de virus contre les insectes nuisibles est envisagé par l'industrie. Les premiers échantillons de ces produits biologiques sont déjà disponibles. Cependant, il existe peu d'études affirmant que les virus pathogènes pour les insectes sont rigoureusement spécifiques des Invertébrés. L'auteur considère que la commercialisation d'insecticides à base de virus est prématurée, et donne des exemples de recherches récentes à ce sujet. Il en ressort que, dans certains cas, l'acide nucléique, ou encore le virus lui-même pathogène pour l'insecte, induit la replication du virus dans des cellules de Vertébrés cultivées *in vitro*. Ces résultats sont confrontés avec des travaux des auteurs qui préconisent l'emploi des virus dans la lutte microbiologique.

Summary

The use of insecticides with a compound of viruses against harmful insects is anticipated by the industry. The first samples of these biological products are already available. However, very few studies do exist in order to assert that viruses which are pathogenic for the insects, have specific action against Invertebrates. The author considers that the commercialization of insecticides with a compound of viruses is prematured and gives examples of recent works on this subject. As a result, in certain cases the nucleic acid, or also the virus itself being pathogenic for the insects, induces the replication of the virus in the cells of Vertebrates, cultivated *in vitro*. These results are confronted with researches of authors who advocate the use of viruses in the microbiological struggle.

Travail partiellement subventionné par les octrois A-3746 du Conseil National de Recherches du Canada et MT-2385 du Conseil des Recherches Médicales du Canada.

La lutte biologique contre les insectes nuisibles à l'homme au sens large du terme a été définie théoriquement par plusieurs auteurs (Franz, 1961, Grison, 1962, Beirne, 1963 et D.G.R.S.T., 1965).

Du point de vue pratique, la lutte biologique, quoique peu développée, est prise de plus en plus en considération à cause de l'utilisation massive de différents insecticides chimiques contre les insectes nuisibles et des conséquences nocives pour l'homme et les animaux vertébrés que ces insecticides ont pu avoir dans plusieurs cas (suspension de l'emploi de D.D.T. aux Etats-Unis et en certains pays d'Europe).

De ce fait, la possibilité d'emploi de la lutte microbiologique contre les insectes est donc fortement préconisée, même par l'industrie (Ignoffo, 1968).

Il est certain que ce sont les virus pathogènes pour les insectes qui attirent plus spécialement l'attention. Une terminologie « insecticides vivants à la base de virus » vient d'être créée (Ignoffo, 1968). Cependant, l'idée même d'utilisation en tant qu'insecticides des virus ou des bactéries (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus popilliae*, etc...), des rickettsies (*Rickettsia melolonthae*, etc...), des champignons (*Aspergillus*, *Metarrhizium*, *Beauveria*) et des protozoaires, pose certainement la même question, dont la réponse à amener l'interdiction de certains insecticides chimiques: « Ces micro-organismes sont-ils inoffensifs pour l'homme et les animaux ? »

L'importance de cette question est proportionnelle au nombre élevé d'insectes qu'il faudra détruire à l'aide de micro-organismes, d'où découlera l'énorme quantité de virus ou de bactéries déversés sur les champs et les forêts. J'essaierai donc de discuter la question posée en prenant comme exemple les virus qui sont envisagés en tant que futurs « insecticides vivants » (Heimpel, 1968, Ignoffo, 1968).

Néanmoins, dès à présent, il est nécessaire de noter que la conception d'innocuité pour les mammifères ou les insectes utiles d'un certain nombre de micro-organismes (rickettsies, bactéries, champignons) a évolué grâce aux recherches. C'est le cas de la bactérie *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* dont l'exotoxine s'est avérée toxique pour les abeilles (Cantwell et al., 1964) et de rickettsies de Coléoptères ayant une action mortelle vis-à-vis de la souris (Dumas et Hurpin, 1959). Par ailleurs, on sait que les rickettsies de Coléoptères et d'Orthoptères sont susceptibles de se multiplier dans des cellules de mammifères cultivées « in vitro » (Pourquier et al., 1961) et que diverses rickettsies pathogènes à l'homme et aux mammifères se maintiennent chez les insectes vecteurs de maladies. Donc, ces données incitent certainement à la plus grande prudence.

Les virus des insectes et l'étude de leurs effets.

En ce qui concerne les virus pathogènes pour les insectes, dont certains font actuellement l'objet d'études en vue de leur application en tant qu'insecticides, les travaux publiés relatent la présence d'environ 300 de ces virus. A cette liste, s'ajoutent chaque année de nouveaux virus décrits.

Les différents travaux portent essentiellement sur la virulence d'un tel ou autre virus vis-à-vis de l'insecte-hôte ou d'insectes d'espèces différentes, sur les lésions cytologiques,

le site de replication, sur la morphologie ou les caractéristiques physico-chimiques des virus.

Les premiers résultats ont permis de distinguer deux groupes de virus d'insectes : 1) *les virus inclus dans un corps d'inclusion protéique* (polyèdre, granule, etc...), d'où la dénomination de maladies à virus d'insectes (polyédroses, granuloses) et 2) *les virus non inclus* (exemple type : le virus de la désonucléose).

Etant donné que des revues de virus d'insectes ont été publiées récemment (Smith, 1967, Maramorosch, 1968, Vago et Bergoin, 1968, Ignoffo, 1968), il nous paraît superflu de les décrire ici une fois de plus. Néanmoins, la conception unitaire du monde de virus (Lwoff et Tournier, 1966) comprend également les virus d'insectes dont la spécificité est discutée.

On retrouve en « virologie d'insectes », comme dans le cas d'autres virus, des virions à DNA ou à RNA, de symétrie cubique ou hélicoïdale, dont la capside est composée de sous-unités de structure, etc... Ces virus sont assujettis aux mêmes lois de mutation que d'autres virus, et leur spectre de virulence, leur pouvoir de déterminer une maladie peuvent varier suivant les conditions. Certains auteurs ont proposé même des classifications de virus d'insectes en se basant sur le corps d'inclusion protéique qui entoure le virus. Or, ce corps d'inclusion n'est pas un critère de classification. Par exemple, *Borrelinavirus* (virus inclus dans un polyèdre et se reproduisant dans le noyau). D'autres genres de virus d'insectes ont été ainsi créés comme : *Bergoldiavirus*, *Steinhausiavirus*, *Vagoiavirus*, etc... Ces noms génériques sont encore mentionnés dans certains travaux de classification de virus d'insectes. Il serait souhaitable d'incorporer ces virus, si la somme de renseignements les concernant est suffisante, dans le système de classification proposé par Lwoff, Horne et Tournier (1962) (Système L.H.T.), ce qui d'ailleurs a déjà commencé, et d'abandonner le cloisonnement des virus suivant la profession.

Ceux qui désirent classer les virus d'insectes savent que la conception unitaire des virus est aujourd'hui universellement admise (Lwoff et Tournier, 1966, Première Conférence Internationale de Virologie Comparée, 1969) et que ce sont uniquement les propriétés du virus qui l'expriment.

Ce cloisonnement artificiel des virus d'insectes, qui disparaît rapidement, est probablement la cause directe du manque de données concernant leur spectre de virulence, notamment vis-à-vis des mammifères. Or, ces données sont nécessaires, si l'on désire incorporer certains de ces virus dans les insecticides biologiques.

Cette question est d'autant plus importante que les virus des insectes sont considérés actuellement moins spécifiques qu'on ne le pensait auparavant. Certains virus d'insectes se caractérisent effectivement par un large spectre de virulence vis-à-vis de différentes espèces d'insectes et ces mêmes virus furent considérés il y a quelques années comme étant très spécifiques (Smith et Xéros, 1953, Aizawa, 1962, Steinhaus, 1963).

Il est vrai que dans les dernières années d'utilisations sporadiques de virus d'insectes, aucun cas d'infection des animaux à sang chaud par ces virus n'a été rapporté. Ceci a accentué chez certains pathologistes d'insectes ou entomologistes la conviction que les virus d'insectes sont inoffensifs pour l'homme et les animaux.

PLANCHE I. — Exemple de virus dans un corps protéique appelé polyèdre.

- a) Polyèdres (flèche) dans le noyau du tissu adipeux d'un lépidoptère. ($\times 450$).
- b) Polyèdre isolé. Ombrage au chrome. ($\times 13,500$).
- c) Virus de symétrie hélicoïdale (flèche) inclus dans un polyèdre. Coupe ultrafine; coloration au plomb. ($\times 6,800$).
- d) Virus (flèche) après extraction du polyèdre par traitement avec solution alcaline. Ombrage au chrome. ($\times 21,750$).
- e) Un virion après extraction. Coloration au plomb ($\times 145,500$).

Une telle généralisation n'est-elle pas prématurée, faute de preuves scientifiques suffisantes ? Inoculer au laboratoire pendant plusieurs années des virus d'insectes aux insectes est, bien entendu, inoffensif pour l'homme. Mais ceci n'atteste pas de leur innocuité absolue pour l'homme et les animaux vertébrés.

PLANCHE II. — Exemple d'un virus non inclus : virus de la densovirose. Purification en gradient de densité ; coloration à l'acide phosphotungstique à 2 %. ($\times 341,600$)

Jusqu'à présent, l'utilisation de virus pathogènes pour les insectes a été limitée à quelques expériences dans quatre ou cinq pays (Balch et Bird, 1944, Steinhaus et Thompson, 1949, Bird, 1953, Clark et Thompson, 1954, Biliotti et al., 1956, Tanada, 1956, Grison et al., 1959, Smirnov, 1964, Ignoffo et al., 1965), qui provoquèrent une destruction notable d'insectes nuisibles. De ce fait, l'industrie possède actuellement des échantillons d'insecticides à base de virus, et elle cherche évidemment à obtenir des autorités compétentes le permis de leur commercialisation.

Voici la liste de quelques échantillons-insecticides à base de virus :

Virex (Hayes-Sammons, U.S.A.).

Polyviroid (Indiana Farm Bureau Co-Op. Assoc., U.S.A.),

<i>Biotrol</i> — VPO + <i>Prodenia</i> virus	(Nutrilite Product Inc., — U.S.A.) (International Minerals et Chemical Corp. Chemical Division, — U.S.A.)
<i>Biotrol</i> — VSE + <i>Spodoptera</i> virus	
<i>Biotrol</i> — VTN + <i>Trichoplusia</i> virus	
<i>Biotrol</i> — VHZ + <i>Viron</i> H tm	

En face de ces premiers insecticides viraux, il faut absolument entreprendre des recherches sérieuses et complètes, afin de déterminer dans quelle mesure l'homme et les animaux ne seront pas exposés aux dangers éventuels de l'application massive de ces virus. Nous présentons plus loin les premiers et récents travaux à ce sujet.

En connaissant les relations « virus-cellule », qui sont multiples, les recherches sur les insecticides à base de virus doivent déterminer si ces virus n'auront pas d'effets : pathogène, carcinogène, tératogène, allergique, toxique pour l'homme et les animaux, et prendre en considération les éventuelles infections latentes ou chroniques. Cette opinion est partagée par Heimpel (1968) et Ignoffo (1968).

De ce fait, l'étude de l'action des virus pathogènes pour les insectes doit avoir lieu *in vitro* (sur culture de cellules d'animaux et de l'homme), *in vivo*, (d'abord sur animaux nouveau-nés et d'âges différents), et *in ovo*.

Les recherches en vue d'établir l'innocuité des virus des insectes doivent être effectuées à l'aide de techniques modernes (immunofluorescence, immunoperoxydase, sérologie, histopathologie, autoradiographie, immunohistochimie, immunohistoenzymologie, microscopie électronique, cancérologie, etc...), donc, par des groupes de chercheurs ayant différentes formations scientifiques. Il ne suffit pas d'inoculer un virus d'insecte aux lapins ou aux souris, et après un mois d'attente, de constater l'absence de mortalité et de conclure que ce virus est inoffensif pour les mammifères.

Quelques données sur l'état actuel des travaux.

Les informations favorables à l'innocuité des insecticides à base de virus proviennent des données suivantes :

Récemment (1965) aux Etats-Unis le Dr A. M. Heimpel (Entomology Research Division, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, Maryland) et le Dr C. M. Ignoffo (International Minerals and Chemical Corp. Libertyville, Illinois, U.S.A.) ont présenté des résultats indiquant que le virus de la polyédrie nucléaire de *Heliothis zea* n'est ni pathogène ni toxique pour la souris et le cobaye. Ces animaux avaient reçu une injection intrapéritonéale ou *per os* de virus ou de polyèdres. Sur 53 cobayes ayant reçu le virus, un a succombé de pneumonie. L'observation a duré deux mois. Des résultats similaires sont rapportés (Heimpel, 1966) avec le virus de la polyédrie nucléaire de *Trichoplusia ni*.

On sait que certains virus oncogènes induisent des tumeurs chez les animaux après plusieurs mois et que les animaux nouveau-nés sont souvent plus susceptibles aux virus.

Un protocole semblable d'expérience à celui des auteurs cités a été présenté par Giran (1966) qui conclut que le virus de la densonucléose de *Galleria mellonella* ne provoque pas de mortalité chez les lapins et les souris ayant reçu le virus. Le lecteur voudra bien noter que le spectre de virulence de ce virus ne se limite pas seulement aux insectes, tel qu'exposé plus loin par d'autres auteurs.

Les tentatives d'infection des embryons de poulet (Steinhaus, 1951, Aizawa, 1961) ou de dinde (Cantwell et al., 1967) par les virus de polyédroses ou de granuloses ne semblent pas avoir réussi.

Enfin, Heimpel et Buchanan (1967), ont noté que dix hommes et femmes ont volontairement consommé pendant 5 jours au total 5,82 billions de polyèdres par personne de *Heliothis zea*. Ces polyèdres contenaient des virus. Les examens cliniques de ces personnes effectués 10 et 30 jours après l'absorption de polyèdres n'ont décelé aucun « changement significatif ».

Les auteurs que nous venons de citer semblent être convaincus de l'innocuité pour l'homme et les animaux à sang chaud des virus d'insectes, surtout ceux inclus dans des corps d'inclusion. Il est possible qu'il en soit ainsi, quoique les recherches soient encore insuffisamment développées pour se prononcer sur ce sujet. Ceci d'autant plus que de récents travaux effectués au Canada, au Japon et en U.R.S.S. font ressortir la complexité de la question.

En effet, les auteurs japonais de l'Université de Kyoto (Himeno et al., 1967) ont démontré que le DNA du virus de la polyédrie nucléaire de *Bombyx mori* induit la production de virus et de polyèdres dans des cellules amniotiques FL d'origine humaine. Les virus obtenus ont les mêmes caractères morphologiques et sérologiques que les virus produits chez l'insecte.

D'ailleurs, ces auteurs reproduisent, avec les virus ainsi obtenus en culture de cellules humaines, la maladie virale type chez l'insecte. Ceci leur permet de conclure que les mécanismes moléculaires intracellulaires assurant la production des virus et des protéines du polyèdre sont communs dans le cas de mammifères et de lépidoptères. Ce travail, qui a été publié dans l'importante revue internationale de virologie « Virology », n'est point cité ou discuté par ceux qui préconisent l'emploi de virus d'insectes en tant qu'insecticides.

Les auteurs canadiens (Kurstak et al., 1967, 1968, 1969 a, 1969 b), de la Faculté de Médecine de l'Université de Montréal, ont rapporté pour la première fois qu'un virus d'insectes, le virus de la densonucléose extrait de larves de *Galleria mellonella*, infecte les cellules L de souris cultivées *in vitro*. Ce virus dont la plupart des caractéristiques ont été décrites par le même groupe (Kurstak et al., 1969 c, d) détruit environ 30 % des cellules en question. Dans ces cellules apparaissent trois à quatre jours après l'infection virale, des inclusions intranucléaires basophiles, Feulgen positives, et de fluorescence jaune-vert après coloration à l'orangé d'acridine à pH 3,8. Des virions à DNA sont produits par des cellules ayant ce type de lésions. Ces virus sont indiscernables par leurs caractères morphologiques et sérologiques des virions obtenus chez l'insecte et infectent les larves de *G. mellonella*.

Cependant, le fait très important à retenir est que ce virus d'insecte transforme une partie des cellules L de souris cultivées *in vitro*. Les cellules transformées acquièrent le pouvoir de synthétiser des antigènes de transformation en l'absence de virus. En plus, ces auteurs à l'aide de techniques spécifiques démontrent que ce virus d'insecte est cancérogène pour des cellules cultivées *in vitro* de souris et de hamster (Kurstak et al., 1969 b). Quant à l'étude *in vivo* de ce virus, elle se poursuit actuellement sur différents animaux. On peut déceler donc que le virus de la densonucléose ne semble pas être aussi inoffensif vis-à-vis des cellules de mammifères que pourrait le laisser croire le travail de Giran (1966).

PLANCHE III. — Action de virus de la denonucleose sur les cellules L de souris.

- a) Cellules L de souris saines cultivées *in vitro* ($\times 400$).
- b, c) Cellules L de souris transformées (flèche : foyers de cellules transformées) par le virus de la denonucleose. Aspect 5 et 6 jours après l'infection. (b- $\times 125$, c- $\times 200$).
- d) Cellules L de souris. Lésions nucléaires (flèche) 4 jours après l'infection par le virus de la denonucleose.

Enfin, Alekseenko et Kolomiets ont rapporté au XXI^e Congrès international d'Apiculture (1967) que le virus causant la paralysie de l'abeille se reproduit dans des cellules d'embryon de poulet.

Conclusion :

Il est plus prudent d'envisager que l'emploi massif de virus d'insectes soit soumis à des recherches préalables sur ses répercussions possibles chez les animaux supérieurs et cette question reste à débattre après des recherches approfondies. Car il est probable que certains virus d'insectes seraient effectivement des insecticides biologiques efficaces et sans danger.

En tout état de cause, il ne faut pas oublier que les virus sont sujets à une évolution spontanée ou provoquée : leur affinité pour une espèce animale donnée, leur degré d'apparement antigénique avec d'autres souches, leur pouvoir de provoquer une maladie ou de déterminer l'immunité, les rendent capables de transformation (mutation, sélection, adaptation).

Peut-être que bientôt un risque calculé sera pris et la commercialisation d'insecticides à base de virus aura lieu. Dans ce cas, si déjà en 1964, il a été constaté (Vago, 1964) que l'évolution technique a été sensible dans le domaine de l'application des préparations de virus, pratiquement, tous les moyens d'épandage agricole ont été employés : pulvérisation et poudrage avec des appareils à main ou à dos sur petites parcelles, avec appareils puissants à traction, passant entre les champs de culture ou dans les chemins forestiers, et enfin par avion (Bird, 1950, 1952), par hélicoptères (Grisson, Maury et Vago, 1959) sur des surfaces importantes de forêt ; on a le droit de penser que la technique a progressé depuis et que la dispersion d'insecticides biologiques en grande quantité ne posera pas de difficultés.

Cependant, il ne faudrait pas, après avoir autorisé prématurément les insecticides à base de virus, leur réserver le même sort qui a atteint le D.D.T., le thalidomide, ou les cyclamates, c'est-à-dire interdire leur emploi pour des raisons encore indéterminées mais reliées à la santé publique.

Bibliographie

- AIZAWA (K.), 1961. — Change in shape of silkworm polyhedra by means of passage through chick embryo. *Entomophaga*, 4 : 197-201.
- , 1962. — Infection of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Linnaeus), with the nuclear polyhedrosis virus of the silkworm, *Bombyx mori* (Linnaeus). *J. Insect Path.* 4 : 122-127.
- BALCH (R. E.) et BIRD (F. T.), 1944. — A disease of the European spruce sawfly, *Gilpinia hercyniae* (Htg) and its place in natural control. *Sci. Agr.*, 25 : 65-80.
- BEIRNE (B. P.), 1963. — The meaning and definition of « Biological control ». *Entomophaga*, 8 (4) : 237-244.

- BILIOTTI (E.), GRISON (P.) et MARTOURET (D.), 1956. — L'utilisation d'une maladie à virus comme méthode de lutte biologique contre *Pieris brassicae* L. *Entomophaga*, 1 : 35-44.
- BIRD (F. T.), 1953. — The use of a virus disease in the biological control of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). *Can. Entomol.*, 85 : 437-446.
- CANTWELL (G. E.), KNOX (D. A.), et MICHAEL (A. S.), 1964. — Mortality of Honey Bees, *Apis mellifera* (Linnaeus). Fed Exotoxin of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. *J. Ins. Pathol.*, 6 (4) : 532-536.
- , FAUST (R. M.) et POOLE (H. K.), 1967. — Attempts to cultivate Insect Viruses in Avian Eggs. *J. Invert. Pathol.* : 161-162.
- CLARK (E. C.) et THOMPSON (C. G.), 1954. — The possible use of microorganisms in the control of the Great Basin tent caterpillar. *J. Econ. Entomol.*, 47 : 268-272.
- D.G.R.S.T., 1965. — La lutte biologique. Rapport général de la commission d'études. 119 pages.
- DUMAS (N.) et HURPIN (B.), 1959. — Premières études sur la localisation de la rickettsie de la maladie bleue des *Melolontha*. *C.R. Soc. Biol.*, 153 : 931.
- FRANZ (J. M.), 1961. — Biological control of pest insects in Europe. *Ann. Rev. Entomol.*, 6 : 183-200.
- GIRAN (F.), 1966. — Action de la densonucléose de Lépidoptères sur les mammifères. *Entomophaga*, 11 : 405-407.
- GRISON (P.), VAGO (C.) et MAURY (R.), 1959. — La lutte contre la processionnaire du pin. *Thaumetopoea pityocampa* Schiff dans le massif du Ventoux. Essai d'utilisation pratique d'un virus spécifique. *Rev. Forest. Franc.*, 5 : 353-370.
- , 1962. — Développement et perspectives de la lutte biologique. *Entomophaga*, 7 (4) : 325-335.
- HEIMPEL (A. M.), 1965. — Microbial control of insects. *Wld Rev. Pest Control*, 4 : 150-159.
- , 1966. — Exposure of white mice and guinea pigs to the nuclear polyhedrosis virus of the cabbage looper. *Trichoplusia ni*. *J. Invert. Pathol.*, 8 : 98-102.
- et BUCHANAN (L. K.), 1967. — Human feeding tests using the nuclear polyhedral virus of *Heliothis zea*. *J. Invert. Pathol.*, 9 : 55-57.
- , 1968. — Progress in developing insect viruses as microbial control agents. *Proc. U.S. Japan seminar on Microbial Control of Insects Pests, Fukuoka, April 21-23 1967* : 51-61.
- HIMENO (M.), SAKAI (F.), ONODERA (K.), NAKAI (H.), FUKADA (T.) et KAWADE (Y.), 1967. — Formation of Nuclear Polyhedral Bodies and Nuclear Polyhedrosis Virus of Silkworm in Mammalian Cells Infected with Viral DNA. *Virology*, 33 : 507-512.
- IGNOFFO (C. M.), CHAPMAN (A. J.) et MARTIN (D. F.), 1965. — The nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (Boddie) and *Heliothis virescens* (Fabricius) III. Effectiveness of the virus against field population of *Heliothis* on cotton, corn, and grain sorghum. *J. Invert. Pathol.*, 7 : 27-235.
- et HEIMPEL (A. M.), 1965. — The nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (Boddie) and *Heliothis virescens* (Fabricius) V. Toxicity-pathogenicity of virus to white mice and guinea pigs. *J. Invert. Pathol.*, 7 : 329-340.

- , 1968. — Viruses. Living Insecticides. In *Current Topics in Microbiol. Immun. Springer, Verlag*, 42 : 129-167.
- KURSTAK (E.), CHAGNON (A.), HUDON (C.) et TRUDEL (M.), 1967. — Formation de cellules polynucléées dans un système monocellulaire de la souche L de tissu sous-cutané de souris en contact avec le virus de la densonucléose. *Inst. Lombardo : Fondazione Baselli, Ac. Sci.* : 264-271.
- , COTE (J. R.) et STANISLAWSKI (M.), 1968. — The Polytopic Nature of Densonucleosis Virus. *Intern. Virology*, 1 : 277-278.
- , —, BELLONCIK (S.), GARZON (S.), TRUDEL (M.) et CHAGNON (A.), 1969 a. — Infection des cellules L de la souris par le virus de la densonucléose. *Rev. Can. Biol.*, 28 (2) : 139-141.
- , BELLONCIK (S.) et BRAILOVSKY (C.), 1969 b. — Transformation de cellules L de souris par virus d'invertébrés : le virus de la densonucléose (VDN). *C.R. Acad. Sc., Paris*, 269, 1716-1719.
- et COTE (J. R.), 1969 c. — Proposition de classification du virus de la densonucléose (VDN) basée sur l'étude de la structure moléculaire et des propriétés physico-chimiques. *C.R. Acad. Sc., Paris*, 268 : 616-619.
- , — et BELLONCIK (S.), 1969 d. — Etude de la synthèse et de la localisation des antigènes du virus de la densonucléose (VDN) à l'aide d'anticorps conjugués à l'enzyme peroxydase (nouvelle méthode d'immunoperoxydase). *C.R. Acad. Sci., Paris*, 268 : 2309-2312.
- LWOFF (A.), HORNE (R. W.) et TOURNIER (P.), 1962. — A system of viruses. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 27 : 51-72.
- et TOURNIER (P.), 1966. — The classification of viruses. In : *Annual review of microbiology* (eds. C.E. Clifton, S. Raffel and M. P. Starr), 20 : 45-74.
- MARAMOROSCH (K.), 1968. — Insect Viruses. *Current Top. Microbiol. Immunol.*, 42 : 1-192.
- et KURSTAK (E.), 1969. — Première Conférence Internationale de Virologie Comparée. *Université de Montréal* (2-4 septembre 1969), Canada.
- MARTIGNONI (M. E.), 1964. — Mass production of insect pathogens. In : *Biological control of insect pests and weeds* (P.H. de Bach, ed.), New York : Reinhold Publ. Co. : 579-609.
- SMIRNOFF (W. A.), 1964. — Preparation and application of viral material, in biological control of the jack pine sawfly. *Forestry Chronicle*, 40 : 187-194.
- SMITH (K. M.), 1967. — Insect Virology. *Acad. Press, New York*, 256 pages.
- et XEROS (N.), 1953. — Studies on the Cross-Transmissions of Polyhedral Viruses. *Parasitology*, 43 : 178-185.
- STEINHAUS (E. A.) et THOMPSON (C. G.), 1949. — Preliminary tests using a polyhedrosis virus to control the alfalfa caterpillar. *J. Econ. Entomol.*, 42 : 301-305.
- , 1951. — *Hilgardia*, 20 : 629-678.
- , 1963. — Insect Pathology. *An Adv. Treatise. Vol. I*, 661 pages.

- TANADA (Y.), 1956. — Microbial control of some Lepidopterous pest of crucifers. *J. Econ. Entomol.*, 49 : 320-329.
- VAGO (C.), 1964. — Emploi des virus contre les insectes nuisibles et possibilités d'adaptation de cette méthode à la lutte contre les vecteurs de maladies. *Bull. Org. Mond. Santé*, 31 : 513-517.
- et BERGOIN (M.), 1968. — Viruses of Invertebrates. *Adv. Virus Res.*, 13 : 247-303.
-