

APPLICATION EXPÉRIMENTALE DE MYCELIUM
D'*ERYNIA NEOAPHIDIS* [ZYGOMYCÈTES : ENTOMOPHTHORALES]
DANS DES POPULATIONS DE PUCERONS SUR LAITUES
EN SERRE MARAÎCHÈRE : ÉTUDE DU SUIVI
DE L'INOCULUM PAR CARACTÉRISATION ENZYMATIQUE

P. SILVIE (1)*, C. A. DEDRYVER (2) & S. TANGUY (2)

(1) Institut Pasteur, Unité de Lutte Biologique Contre les Insectes,
25-28, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France

(2) I.N.R.A., Laboratoire de Zoologie, Domaine de la Motte, 35650 Le Rheu, France

Au cours d'une expérimentation réalisée en serre à Rennes, en 1983, on a éprouvé l'efficacité contre les pucerons de la laitue *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) et *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) d'une biopréparation d'Entomophthorale constituée de mycélium d'une souche de *Erynia neoaphidis* Remaudière & Hennebert. L'étude de l'implantation de cette souche a été entreprise grâce à une technique de caractérisation enzymatique.

Les populations de pucerons implantées expérimentalement en début d'essai sont faiblement attaquées par des mycoses (5 % de mortalité). La caractérisation enzymatique des souches d'Entomophthorales isolées de pucerons trouvés morts au cours de l'expérimentation montre que la souche de *E. neoaphidis* introduite s'est implantée dans les populations aphidiennes, mais qu'elle est par la suite remplacée par un inoculum autochtone de la même espèce. On observe également le développement dès le début de l'expérimentation d'un inoculum de *C. obscurus* qui ne correspond pas à la souche introduite 2 ans auparavant lors d'une précédente expérimentation.

MOTS CLÉS : Aphides, Entomophthorales, caractérisation enzymatique, application (de mycélium), serre, laitue.

L'utilisation de champignons pathogènes d'insectes de l'ordre des Entomophthorales en lutte biologique contre les pucerons, nécessite en particulier la mise au point de méthodes fiables d'évaluation des potentialités épidémiologiques des inoculums introduits dans les populations aphidiennes.

Les essais réalisés en plein champ donnent des résultats souvent difficilement interprétables dans la mesure où l'on ne contrôle pas du tout le climat, mal les densités de populations aphidiennes et où le développement d'un inoculum naturel peut masquer l'effet éventuel de l'inoculum introduit (Wilding, 1981 ; Wilding *et al.*, 1986). En revanche les serres constituent un milieu restreint et clos où une maîtrise partielle du climat et des

(*) Adresse actuelle : Station I.R.C.T., B.P. 1 Anie, TOGO.



infestations en pucerons apparaît possible. Des essais effectués précédemment (**Dedryver**, 1979 ; **Dedryver et al.**, 1979 ; **Rabasse et al.**, 1983) ont montré que des Entomophthorales pouvaient y détruire des populations aphidiennes ou limiter leur croissance. Toutefois dans ces expérimentations il n'y avait pas eu de suivi précis de l'évolution de l'implantation de l'inoculum introduit.

Le présent article traite d'une expérimentation entreprise en serre, en 1983 avec le double but suivant :

— Effectuer une tentative de lutte biologique avec une espèce d'Entomophthorale susceptible de se développer de manière épizootique dans des populations de pucerons, *Erynia neoaphidis* Remaudière & Hennebert, cet essai étant réalisé dans des conditions proches de la pratique horticole, sur culture de salades.

— Evaluer l'efficacité d'une souche d'*E. neoaphidis* apte à être multipliée dans des conditions de production semi-industrielle et reconnue virulente au laboratoire, en caractérisant par électrophorèse enzymatique l'inoculum présent à différentes étapes de l'expérience.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIELS

Les essais sont effectués dans une serre de 200 m² de type « maraîcher », située à l'E.N.S.A. de Rennes et déjà utilisée pour des expérimentations de ce type (**Dedryver**, 1979 ; **Dedryver et al.**, 1979). Des rampes de brumisation situées à 2,5 m de hauteur sont reliées à des sondes de mouillage placées au niveau du feuillage. Elles permettent de dispenser l'eau d'arrosage sous forme d'un fin brouillard en maintenant humide en permanence le couvert végétal. La température et l'humidité relative de l'air sont mesurées en continu et l'état d'humectation du sol et du feuillage est estimé à l'aide de capteurs électroniques.

Les laitues (variété Ravel) sont repiquées le 17 février 1983, sur 50 m² de surface, à la densité de 25 plantes au m².

Jusqu'à l'application du champignon, les cultures font l'objet d'une brumisation d'une durée de 1 mn et d'un traitement fongicide hebdomadaires. Le fongicide employé est le mélange dithane et rovril à 18 g et 15 g/100 m² respectivement.

Après l'introduction du pathogène, on n'effectue plus de traitement fongicide. Une brumisation de 20 s a lieu sur la totalité de la culture dès que l'eau des capteurs est évaporée, ce qui représente de 2 à 15 brumisations par jour.

Deux des espèces de pucerons économiquement importantes sur salades en serre sont introduites dans les cultures une semaine après le repiquage (5 individus de chaque espèce toutes les 5 salades). Il s'agit de *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) et de *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) maintenus en élevage à Rennes sur germes de pommes de terre (**Robert et al.**, 1969). Le niveau moyen des populations de pucerons est de 50 individus par salade au moment de la pulvérisation de l'inoculum.

La souche 1305 (numérotation de la mycothèque de l'unité de lutte biologique de l'Institut Pasteur) de l'espèce *E. neoaphidis* est employée. Il s'agit d'un 2^{ème} réisolement (le 1^{er} étant numéroté 1299) à partir de *Acyrtosiphon pisum* (Harris) de la souche 1295 (64 L de la mycothèque de **G. Latteur**), isolée de *Acyrtosiphon* sp. à Feliz (Brésil) le 27 septembre 1980. Cette souche, d'origine tropicale, se développe bien à 28 °C sur milieu solide. Le mycélium, produit en fermenteur de 20 l (**Silvie**, 1983), est appliqué le 28 mars à raison de 32 g par m² sous forme de pulvérisation aqueuse, sur la moitié de la surface cultivée (25 m²), l'autre moitié constituant un témoin.

Dans une serre adjacente, la souche 1283 (numérotation de la mycothèque de l'unité de lutte biologique de l'Institut Pasteur) isolée de *Macrosiphum rosae* L. à Samoëns (France) le 25 octobre 1979 avait été appliquée selon les mêmes modalités. Aucun puceron mort de mycose n'ayant été observé pendant les 25 jours suivant le traitement, le suivi de l'essai a été abandonné.

MÉTHODES

QUANTIFICATION DES POPULATIONS DE PUCERONS ET DE L'EFFET DES MYCOSES

A partir du jour du traitement, des pieds de salade sont prélevés au hasard chaque semaine. Leur nombre est initialement de 20 par traitement et diminue ensuite en fonction de l'infestation en pucerons jusqu'à 2 à la dernière date d'observation. Un dénombrement de pucerons vivants et morts de mycose est effectué sur ces plants. L'identification des pucerons est faite à la loupe binoculaire, celle des Entomophthorales d'après les critères morphologiques du cadavre (couleur, présence ou absence de rhizoïdes) et observation au microscope de la forme et de la taille des conidies primaires.

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SOUCHES D'ENTOMOPHTHORALES

L'agent responsable de la mycose a été isolé à partir d'un certain nombre de cadavres de pucerons récoltés au cours de l'expérimentation, dans les parties témoin et traitée de la serre. Les méthodes d'isolement utilisées sont celles décrites par **Remaudière et al.** (1976). Les souches mises en culture appartiennent aux espèces *E. neoaphidis* et *Conidiobolus obscurus* (Hall & Dunn) Remaudière & Keller.

La caractérisation des souches est faite par électrophorèse unidimensionnelle selon les techniques utilisées auparavant par **Latgé & Boucias** (1984) dans le cas de *C. obscurus*.

Elles comprennent 2 phases :

Phase 1 : Extraction des protéines intracellulaires.

Les souches isolées sont cultivées en milieu liquide agité (erlenmeyers contenant du glucose et de l'extrait de levure (DIFCO) dans les proportions de 6 % et 2 %) (**Latgé et al.**, 1983). Après 48 h de croissance, le mycélium de chaque souche est récupéré par filtration, rincé à l'eau, puis broyé 1 mn à 4 °C par agitation mécanique avec 25 g de billes de verre de 0,5 à 2 mm de diamètre, dans un flacon de verre (broyeur Braun). Le tampon TRIS(HCl pH 7,2 utilisé contient du polyvinylpyrrolidone (PVP 40) à 1 %, du saccharose à 0,5 M et de l'acide éthylènediamine tétra-acétique (EDTA) à 0,001 M.

Les homogénats sont alors centrifugés pendant 1 h à 4 °C à 18 000 tpm. Le surnageant est récupéré, puis congelé dans l'azote liquide. Les protéines totales sont dosées par la technique Bio-Rad (*).

Phase 2 : Electrophorèse et analyse des résultats.

Des échantillons de 50 µg de protéines sont placés sur un gel de polyacrylamide à 7,5 % (bisacrylamide/acrylamide dans la proportion 1/19) et soumis à un courant d'électrophorèse de 2 mA/gel pendant 4 h.

(*) Bio-Rad Laboratoires, Richmond California, USA.

L'incubation des gels dans différents colorants permet d'identifier les bandes protéiques présentant une activité enzymatique spécifique. Pour les souches étudiées, 6 systèmes enzymatiques ont été éprouvés selon les méthodes de **Steiner & Joslyn** (1979) : α et β estérases, glucose 6-phosphate deshydrogénase (G6PDH), glucose phosphate isomérase (PGI), phosphoglucomutase (PGM), malate deshydrogénase (MDH) et tetrazolium oxydase (TAO). Seul le dernier système n'a pas produit de profils avec des bandes bien définies.

Des coefficients de similarité sont établis entre les souches prises 2 à 2. Un coefficient de similarité est égal au rapport entre le nombre de bandes communes entre 2 isolats et le nombre total de leurs bandes (**Baptist et al.**, 1969). Ils permettent de comparer les mobilités électrophorétiques des isozymes. La distance génétique hypothétique entre les différentes souches est estimée par classification hiérarchique à partir des coefficients de similarité (**Nei**, 1975).

Dans une 1^{re} série d'électrophorèses, on compare les souches de *E. neoaphidis* isolées dans le témoin 4 jours (R1) et 13 jours (R9) après le traitement et celles isolées dans le traité 8 jours (R2 et R3) après le traitement, à la souche initiale 1305 ainsi qu'à la souche 1283. On compare également à la souche 722 de *C. obscurus* appliquée dans la serre 2 ans auparavant (**Rabasse et al.**, 1983) les souches de cette même espèce isolées dans le témoin (R10, R11) et dans le traité (R4, R6, R7, R8).

Dans une 2^e série d'électrophorèses les souches de *E. neoaphidis* isolées dans la partie traitée 27 jours après le traitement (R18, R20) sont comparées à la souche 1305 et aux souches R1 et R9. De même les souches de *C. obscurus* isolées dans la partie traitée 27 jours après le traitement (R12, R13, R14, R15, R16, R17), sont comparées aux souches 722 et R7.

Dans notre étude, nous considérons 2 souches comme différentes si leur distance génétique est supérieure à 0,4, valeur établie pour l'espèce *C. obscurus* (**Latgé & Boucias**, 1984). Seule une étude comparable effectuée sur *E. neoaphidis* permettrait de définir plus précisément la distance génétique limite pour cette espèce.

RÉSULTATS

CONDITIONS CLIMATIQUES DANS LES SERRES

Les conditions de température et d'humidité sont restées très voisines dans les 2 serres. La température journalière moyenne évolue entre 10 et 22 °C et, du fait du programme de brumisation utilisé, le sol et la culture sont maintenus humides en permanence durant toute la période d'expérimentation (mars-avril). Cela a eu pour effet de favoriser le développement du champignon *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary sur les laitues, d'où résulte un effet négatif sur leur état sanitaire.

ESTIMATION DE LA DURÉE DE SURVIE DU MYCELIUM INTRODUIT

Les 7 premiers jours suivant le traitement, des fragments de mycélium sont prélevés sur le feuillage puis déposés au laboratoire sur des morceaux d'ouate de cellulose mouillées placés au-dessus de lames de verre de manière à récolter les conidies projetées. La production de conidies à partir du mycélium déposé sur le sol est appréciée en notant leur présence à la surface inférieure de lames placées à 5 mm du sol et changées toutes les 12 h.

Le mycélium de la souche 1305 survit sur le feuillage humide et sur le sol jusqu'à 5 jours après sa pulvérisation dans les conditions d'humidité de l'expérimentation.

EFFETS DES MYCOSES SUR LES POPULATIONS DE PUCERONS

Les populations de pucerons des zones traitées et témoin évoluent de manière similaire. Les pourcentages de mycose obtenus sont très faibles et n'atteignent jamais 5 % du total des populations (fig. 1).

Dans la zone traitée, on trouve *E. neoaphidis* à J + 7 où il est réparti dans 7 % des pieds de laitue. Par la suite, sa dissémination s'effectue lentement mais complètement jusqu'à J + 39 où 100 % des pieds de salades portent des pucerons tués par cette espèce. Dans la partie témoin, on trouve *E. neoaphidis* à J + 25 dans 50 % des échantillons prélevés contre 70 % dans les traités. Ensuite, l'infestation de la partie témoin est semblable à celle de la partie traitée.

Un inoculum non introduit de *C. obscurus* se développe de manière identique dans les zones traitées et témoin, dès J + 18. Dans les 2 zones 100 % des pieds de salades sont porteurs de pucerons tués par *C. obscurus* à J + 39 et les mortalités enregistrées tant dans la partie traitée avec la souche 1305 que dans la zone témoin sont à cette date essentiellement le fait de *C. obscurus* (fig. 1).

CARACTÉRISATION DES SOUCHES ISOLÉES AU DÉBUT ET À LA FIN DE L'EXPÉRIMENTATION

Les résultats de l'analyse en classification hiérarchique des coefficients de similarité sont représentés figure 2. La position des dichotomies de l'arbre hiérarchique par rapport à la ligne matérialisant la distance limite de 0,4 détermine :

- l'identité des souches lorsque la dichotomie se trouve à droite de cette ligne,
- la différence entre souches ou groupes de souches dans le cas contraire.

E. neoaphidis : La souche R1, isolée en début d'essai dans la partie témoin est très différente de la souche 1305 et représente certainement un inoculum local. Les souches R2, R3 et R9 isolées dans la même serre sont, elles, identiques à la souche introduite et à la souche 1299. La distance génétique entre R3 et R9 d'une part et 1305 d'autre part est égale à 0,6 mais le développement des premières souches est bien observé à 28 °C sur milieu solide en tubes, comme celui de la souche 1305. De ce fait, la distance limite à considérer serait 0,7 (en pointillé sur la fig. 2A) plutôt que 0,4.

L'inoculum appliqué s'est donc bien développé et son passage dans la partie non traitée de la serre est noté 13 jours après la pulvérisation (souche R9).

En revanche, les souches R18 et R20 (fig. 2B) isolées en fin d'expérimentation, sont très éloignées génétiquement de la souche locale R1 et de la souche 1305 (distance génétique de 1). Elles représentent certainement un 2^{ème} inoculum local. La souche 1305, pourtant implantée dans la serre peu après la pulvérisation, ne semble pas s'y être maintenue.

C. obscurus : Les souches de *C. obscurus* isolées dans la serre sont très éloignées génétiquement de la souche 722, appliquée sous forme de spores de résistance 2 ans auparavant (Dedryver & Rabasse, 1982). Elles sont identiques entre elles puisque leurs distances génétiques sont inférieures à 0,4 (fig. 2A & B). Elles représentent un inoculum local de l'espèce *C. obscurus* qui s'est développé dans la serre tout au long de la période d'observation.

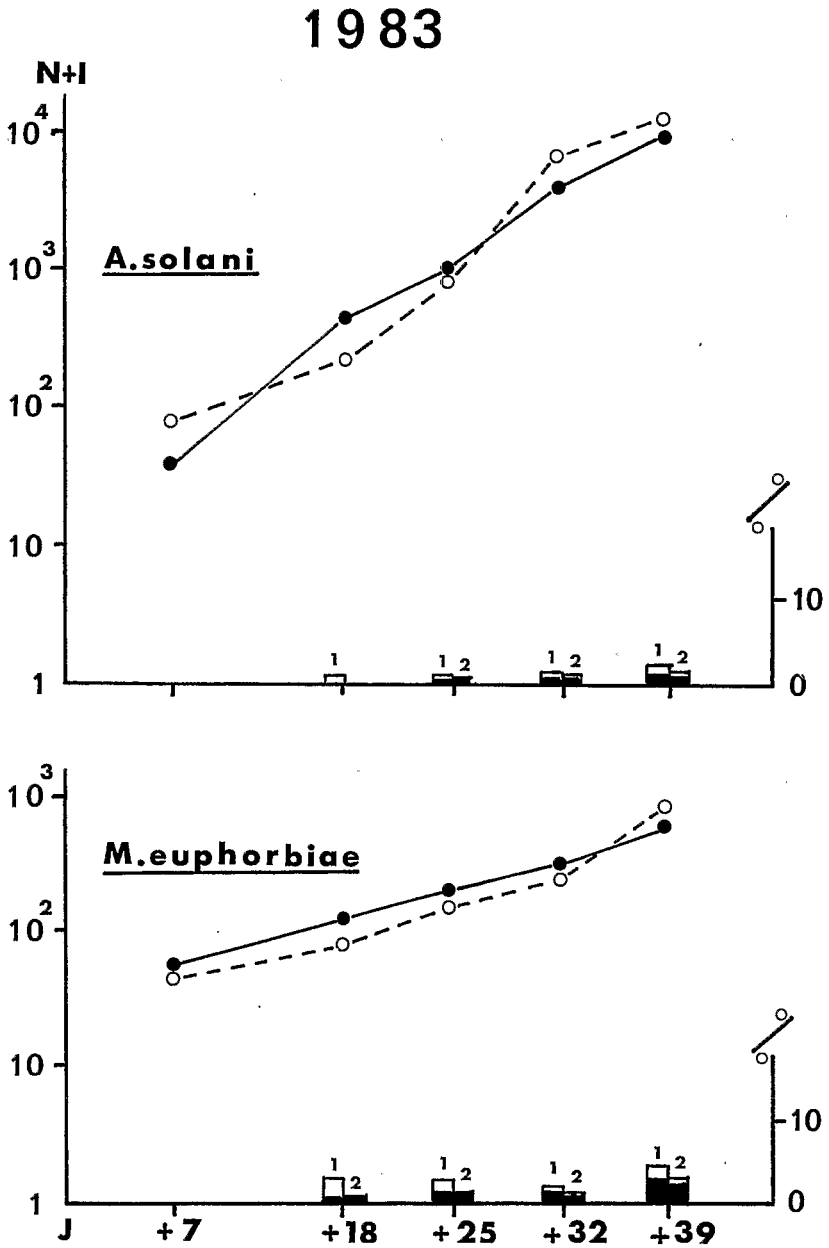


Fig. 1. Evolution du nombre moyen de pucerons par pied de salade et pourcentages de mycose par les différentes espèces en 1983.

En abscisse : nombre de jours après les traitements.

En ordonnée : nombre moyen de pucerons de chaque espèce par pied de salade ● traité ; ○ témoin.

Pourcentages de mycose par *E. neoaphidis* : histogramme blanc.

Pourcentages de mycose par *C. obscurus* : histogramme noir.

Dans la zone traitée : 1.

Dans la zone témoin : 2.

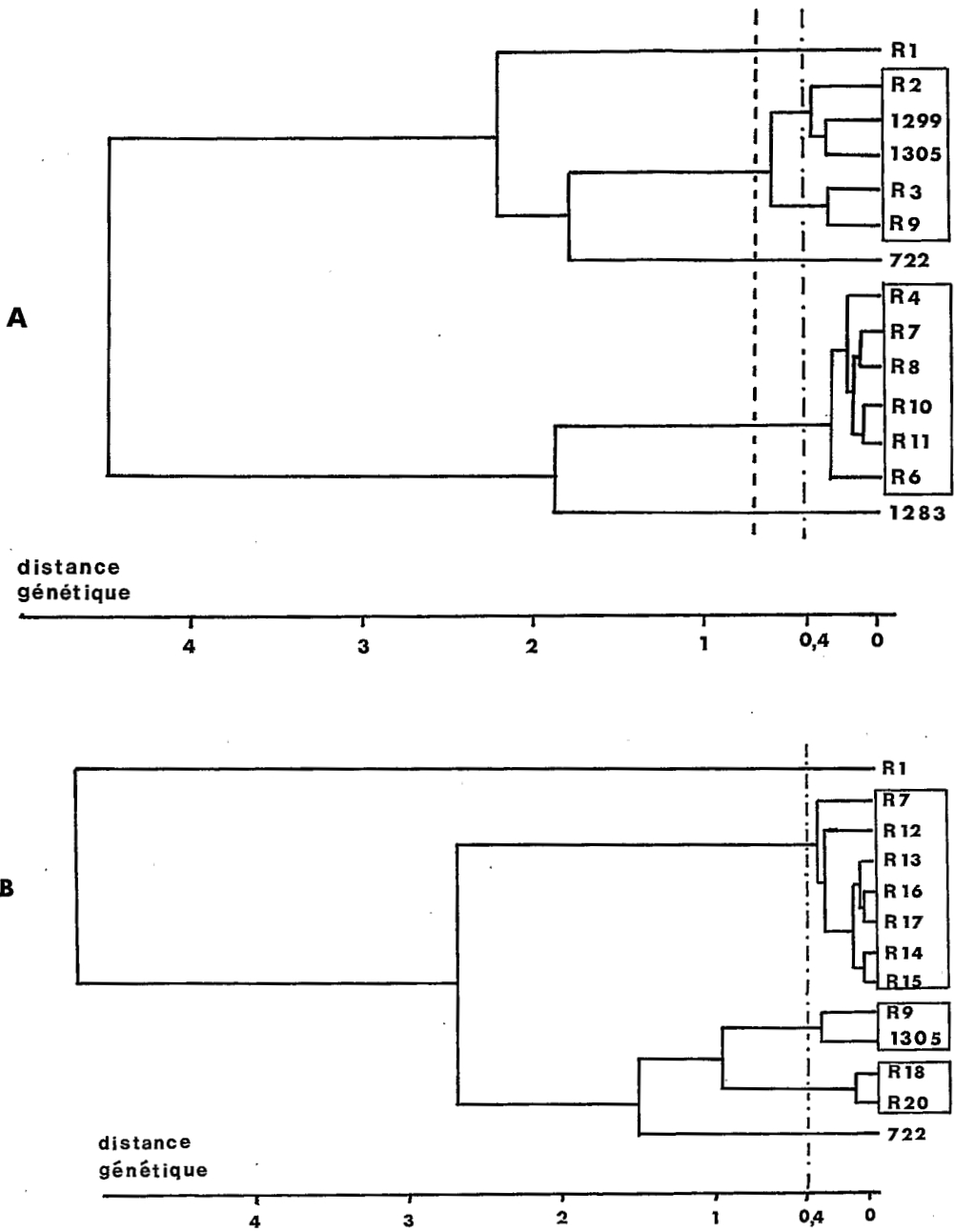


Fig. 2. Analyse en classification hiérarchique montrant les distances génétiques entre les souches de *C. obscurus* et *E. neoaphidis* appliquées ou isolées en début (A) et en fin (B) d'expérimentation. Les calculs sont effectués d'après les extraits protéiques totaux.

DISCUSSION-CONCLUSION

A la suite du travail de **May et al.** (1979) sur *Conidiobolus thromboides* Drechsler (= *Entomophthora virulenta* Hall & Dunn) et sur *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko (= *Entomophthora sphaerosperma* Fresenius) qui n'avait permis de distinguer que de faibles variations intraspécifiques, plusieurs auteurs tels **Milner et al.** (1983) et **Latgé & Boucias** (1984) ont mis en évidence l'intérêt de l'électrophorèse enzymatique comme technique d'étude de la phylogénie et de la systématique des Entomophthorales : les 1^{ers} ont ainsi utilisé le comportement des souches à l'égard de certains systèmes enzymatiques comme critère au niveau interspécifique et les 2^{èmes} ont montré que les relations entre souches de *C. obscurus* paraissaient indépendantes de leur insecte-hôte comme de leur zone géographique d'isolement.

L'intérêt de la caractérisation enzymatique des *Entomophthoraceae* en épidémiologie est souligné par **Milner & Mahon** (1985) qui montrent que cette technique paraît appropriée pour suivre le développement d'une souche israélienne de *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko, introduite en Australie pour lutter contre le puceron *Theorionaphis trifolii* (Monell) *f. maculata*. Cette souche est en effet génétiquement très différente de toutes celles isolées localement.

Notre étude souffre du fait qu'il n'y a pas eu de comparaison systématique entre différentes souches de *E. neoaphidis* de manière à quantifier la variabilité génétique de cette espèce. Elle montre cependant que l'électrophorèse enzymatique est également un moyen de lever toute ambiguïté sur les performances réelles d'un inoculum d'Entomophthorales introduit en serre. Nous avons mis en évidence que la souche 1305 s'implantait dans les populations aphidiennes sur laitues mais que cette implantation n'était pas durable, probablement parce que cette souche produit peu de mycélium dans les pucerons infectés et peu de conidies (**Wilding et al.**, 1986), ce qui réduit sa capacité de dissémination. On peut donner des éléments d'explication similaires concernant la souche de *C. obscurus* 722 introduite en 1981 et non retrouvée 2 ans plus tard (**Rabasse et al.**, 1983) qui, elle, formerait davantage de spores durables que de conidies.

Ces souches introduites disparaissent au profit de souches autochtones qui paraissent être activées par les brumisations périodiques.

Néanmoins les conditions générales de l'essai n'ont pas permis une régulation des populations de pucerons par ces souches locales du fait de la lenteur des processus épizootiques. Celle-ci peut être liée à des conditions climatiques paradoxalement défavorables (trop d'humidité, température temporairement trop élevée) et à une mauvaise coïncidence entre les pathogènes et les pucerons dont les populations, lorsqu'elles sont faibles, sont essentiellement situées à la face inférieure des feuilles.

Une meilleure connaissance de leurs conditions optimales d'efficacité permettraient de mettre à profit ces inoculum autochtones dans le cas de cultures à long cycle végétatif et suffisamment tolérantes à un apport fréquent d'eau par aspersion.

SUMMARY

Experimental application of *Erynia neoaphidis* [Zygomycetes : Entomophthorales] mycelium on aphid populations of lettuces in a commercial glasshouse : study of the inoculum spread by isoenzyme profiles.

The efficiency of a biopreparation of one strain of *Erynia neoaphidis* Remaudière & Hennebert against lettuce aphids was tested in an untreated glasshouse, in Rennes during the spring 1983. The development of the strain was studied by periodic isolation of fungi from killed aphids and determination of their enzyme profile.

The artificially established aphid populations showed a very low percentage of mortality (5%). Isoenzyme profiles of the strains isolated during the experiment showed that the introduced strain of *E. neoaphidis* was established in the populations after spraying but was subsequently replaced by local strains of the same species. From the beginning of the experiment, the development of a local inoculum of *Conidiobolus obscurus* was observed, which was different from a strain introduced in the glasshouse two years before.

KEY-WORDS : Aphids, Entomophthorales, isoenzyme profiles, mycelium application, glasshouses, lettuce.

Reçu le : 21 Mars 1988 ; Accepté le 2 Mai 1989.

BIBLIOGRAPHIE

- Baptist, J. N., Shaw, J. R. & Mandel, M. — 1969. Zone electrophoresis of enzymes in bacterial taxonomy. — *J. Bacteriol.*, 99, 180-188.
- Dedryver, C. A. — 1979. Déclenchement en serre d'une épizootie à *Entomophthora fresenii* sur *Aphis fabae* par l'introduction d'inoculum et régulation de l'humidité relative. — *Entomophaga*, 24, 443-453.
- Dedryver, C. A., Perry, D., Latgé, J. P., Papierok, B. & Remaudière, G. — 1979. Première implantation de *Entomophthora obscura* dans une population de *Rhopalosiphum padi* en serre, à l'aide de spores de résistance produites *in vitro*. In : « Lutte biologique et intégrée contre les Pucerons ». — *Colloque franco-soviétique* (INRA, ed.), Rennes 26-27 sept. 1979, 67-72.
- Dedryver, C. A. & Rabasse, J. M. — 1982. Attempt of biological control of the lettuce aphids in glasshouses with resting spores of *Conidiobolus obscurus* Hall & Dunn and mycelium of *Erynia neoaphidis* Remaud. & Henn. — *Abst. 3rd Int. Coll. Invertebrate Pathol.*, Brighton, p. 103.
- Latgé, J. P., Silvie, P., Papierok, B., Remaudière, G., Dedryver, C. A. & Rabasse, J. M. — 1983. Advantages and disadvantages of *Conidiobolus obscurus* and of *Erynia neoaphidis* in the biological control of aphids. In : *Aphids Antagonists* (R. Cavalloro, ed.), Portici, 143 pp., 19-32.
- Latgé, J. P. & Boucias, D. G. — 1984. Intraspecific variability in *Conidiobolus obscurus*. — *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 30, 135-150.
- May, B., Robert, D. & Soper, R. — 1979. Intraspecific genetic variability in laboratory strains of *Entomophthora* as Determined by Enzyme Electrophoresis. — *Exp. Mycol.*, 3, 289-297.
- Milner, R. J., Mahon, R. J. & Brown, W. V. — 1983. A taxonomic study of the *Erynia neoaphidis* Remaudière & Hennebert [*Zygomycètes : Entomophthoraceae*] group of insect pathogenic fungi, together with a description of the new species *Erynia kondoiensis*. — *Aust. J. Bot.*, 31, 173-188.
- Milner, R. J. & Mahon, R. J. — 1985. Strain variation in *Zoophthora radicans*, a pathogen on a variety of insect hosts in Australia. — *J. Aust. Entomol. Soc.*, 24, 195-198.
- Nei, M. — 1975. Genetic distance between populations. — *Amer. Naturalist*, 106, 283-292.
- Rabasse, J. M., Dedryver, C. A. & Latgé, J. P. — 1983. Potentialités des Entomophthorales pour la lutte contre les pucerons en serre. In : *Faune et flore auxiliaire en agriculture. — Journées d'études et d'informations ACTA*, Paris, 273-277.
- Remaudière, G., Keller, S., Papierok, B. & Latgé, J. P. — 1976. Considérations systématiques et biologiques sur quelques espèces d'*Entomophthora* du groupe *sphaerosperma* pathogènes d'Insectes [*Phycomycètes, Entomophthoraceae*]. — *Entomophaga*, 21, 163-177.
- Robert, Y., Maury Y. & Quemener, J. — 1969. Transmission du virus de l'enroulement de la pomme de terre par différentes formes et stades d'une souche de *Myzus persicae* (Sulz.) [*Homoptera-Aphididae*] : résultats comparés sur *Physalis floridana* Ryberg et *Solanum tuberosum* L. var *claudia*. — *Ann. Phytopathol.*, 1, 167-179.
- Silvie, P. — 1983. Survie expérimentale des corps hyphaux de *Erynia neoaphidis*, Entomophthorale pathogène de pucerons. — *Thèse 3^e cycle, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay*, 65 p.

- Steiner, W. W. M. & Joslyn, D. N. — 1979. Electrophoretic techniques for the genetic study of mosquitoes. — *Mosq. News*, 39, 35-54.
- Wilding, N. — 1981. The effect of introducing aphid-pathogenic *Entomophthoraceae* into field populations of *Aphis fabae*. — *Ann. Appl. Biol.*, 99, 11-23.
- Wilding, N., Mardell, K. S. & Brobyn, J. P. — 1986. Introducing *Erynia neoaphidis* into a field population of *Aphis fabae*: form of the inoculum and the effect of the irrigation. — *Ann. Appl. Biol.*, 108, 373-385.