

FACULTE DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
UNIVERSITE LAVAL

COLLOQUE SUR LA BIOTECHNOLOGIE
EN BIOLOGIE VEGETALE

"BIOTECHNOLOGIE ET PROTECTION DES VÉGÉTAUX:
UN TANDEM DE POINTE DANS UNE GRANDE TRADITION
DE RECHERCHE".

16 FÉVRIER 1988

ORGANISE PAR:

DEPARTEMENT DE PHYTOLOGIE
ET
BUREAU DE L'EXTENSION

La lutte microbiologique contre les insectes nuisibles:
protection des plantes en agriculture et en foresterie

J. Valéro
Centre de Foresterie des Laurentides
Service Canadien des Forêts, Agr. Canada
1000, rue du PEPS
Sainte-Foy, Qc
G1K 7P4

INTRODUCTION

Le concept de l'utilisation de certains micro-organismes entomopathogènes pour réprimer les insectes nuisibles n'est pas une innovation récente, puisque la première suspension commerciale de Bacillus thuringiensis appelée sporéine fut produite avant la Seconde guerre mondiale (Steinhaus, 1963). A cette même époque, White and Dutky démontraient le potentiel de Bacillus popilliae pour la répression de Popillia japonica (Coleoptera: Scarabeidae) (Burgess et Hussey, 1971). Par ailleurs, la capacité de certains virus entomopathogènes pour réprimer des insectes ravageurs fut signalée en 1944, par Balch and Bird, lorsqu'ils constatèrent que le virus de la polyédrie nucléaire (VPN) de Neodiprion sertifer (Hymenoptera: Diprionidae) contrôle efficacement les populations de son hôte. A noter que ce baculovirus avait été accidentellement introduit en Amérique du Nord.

C'est durant cette période que débuta l'âge d'or des insecticides chimiques et la généralisation de l'usage aveugle et irréfléchi de la lutte chimique relégua au second plan le développement de l'application des entomopathogènes. Toutefois, comme chacun sait, différents problèmes majeurs tels que la sélection de souches d'insectes résistants et la toxicité vis-à-vis l'Homme et l'Environnement en général, ont été rapidement mis en évidence en ce qui concerne l'emploi des insecticides chimiques. Ceci a donc conduit la Société à intensifier les recherches afin de mettre au point d'autres moyens pour lutter contre les insectes nuisibles; ces alternatives devant être plus spécifiques et plus sécuritaires que les insecticides chimiques tout en étant au moins aussi efficaces que ces produits. A ce sujet, certains micro-organismes entomopatho-

gènes, en particulier B. thuringiensis et les Baculovirus, possèdent des caractéristiques qui correspondent aux critères d'efficacité et de sécurité cités ci-dessus. C'est pourquoi, tout a été mis en oeuvre, dans le monde entier, durant les trente dernières années, pour développer les possibilités de produire et d'utiliser ces entomopathogènes comme des insecticides microbiens.

C'est dans cette optique que la Section de Microbiologie des Insectes du Centre de Foresterie des Laurentides de Québec, tente à l'aide de la Biotechnologie, de développer des insecticides microbiens qui soient efficaces, économiques et sécuritaires pour réprimer différents insectes forestiers dévastateurs, principalement la Tordeuse des bourgeons de l'épinette, Choristoneura fumiferana Clemens (Lepidoptera: Tortricidae), le plus terrible ravageur des forêts de conifères de l'Est de l'Amérique du Nord.

BREVE DESCRIPTION DES CARACTÉRISTIQUES DE CERTAINS ENTOMOPATHOGENES

Bacillus thuringiensis (Bt)

Depuis sa découverte au début du 20^e siècle par Berliner et Ishiwata, Bt a fait l'objet de recherches intensives dans le monde entier. C'est un sporulé qui produit au cours de la sporulation, un cristal protéinique bipyramidal. Ce cristal appelé δ endotoxine contient des séquences protéiques qui sont toxiques pour divers insectes. Plus de vingt-cinq sérotypes différents de Bt ont été isolés jusqu'à présent et certaines variétés de ce bacille produisent en plus de l' δ endotoxine, diverses toxines (α et β exotoxine; phospholipase, etc...) (Burgess et Hussey, 1971). Récemment, il a été démontré que la synthèse de l'endotoxine est contrôlée par des plasmides de grandes dimensions (40 à 130 Mégadaltons: MDa). De plus, Bt peut héberger jusqu'à 12 à 13 plasmides dont les dimensions varient de 1,4 à 250 MDa; certains ADN extrachromosomiques ayant une forme linéaire ou circulaire ouverte (Carlton et Gonzalez, 1986; Aronson et al. 1986).

Jusqu'à présent, trois sérotypes seulement de Bt sont utilisés comme insecticides biologiques parce qu'ils présentent des caractéristiques intéressantes au point de vue spectre d'activité et sécurité. Ce sont les variétés 3a3b (Kurstakii), Istaelensis et tenebrionis (ou souche San Diego). Il faut par ailleurs noter que Bt ne produit généralement pas d'épidémie bactérienne dans

les populations des insectes cibles, sauf dans des cas très rares (Kurstak et Tijssen, 1982).

Bt 3a3b: Ce bacille est spécifiquement pathogène pour les larves de Lépidoptères. Près de 130 espèces de ces insectes sont sensibles à l'action de Bt 3a3b; l'effet de cet entomopathogène variant selon l'espèce cible. Chez certains, tel Bombyx mori (Lepidoptera: Bombycidae), Bt 3a3b provoque une toxémie, chez d'autres tel Pieris brassicae (Lepidoptera: Pieridae), il cause une entérotoxicose et chez un 3^e groupe, tel C. fulmiferana le complexe cristaux + spores de 3a3b provoquerait une septicémie-entérotoxique (Smirnoff et Valéro, 1970). En fait, le mode d'action de Bt 3a3b chez les Lépidoptères n'est pas encore élucidé. Selon l'hypothèse actuellement retenue, l'endotoxine qui est un dimère de 230 Kilodaltons (KDa), sous l'action du pH alcalin et des enzymes de l'intestin de l'insecte, libère une séquence protéique de 63 à 65 KDa qui agit sur les cellules intestinales de l'hôte soit au niveau des liens N-acétyl galactosamine, N-acétyl glucosamine, soit au niveau de la pompe Na⁺/K⁺ ou de la phosphorylation oxydative (Burgess et Hussey, 1971; Aronson et al. 1986). Toutefois, le site exact de l'action de l'endotoxine chez les Lépidoptères n'a pas encore été réellement défini.

Il a par contre été bien établi que Bt 3a3b n'agit que contre les Lépidoptères et qu'il n'a aucune action contre tous les autres organismes. C'est pourquoi il est utilisé, depuis plus de 20 ans, comme un insecticide biologique sécuritaire (tolérance 0) pour protéger les plantes en Agriculture et en Foresterie et pour préserver les stocks de céréales.

Bt var. israelensis: Ce sporulé isolé par Goldberg et Margalit (1977) est spécifiquement pathogène pour les larves de Diptères. L'action de ce bacille chez ces insectes est due à une séquence protéique de 28 KDa contenue dans l'endotoxine et qui, après libération, agirait sur les membranes cellulaires de l'hôte, au niveau des liens lipidique (Aronson et al. 1986). Grâce aux efforts de l'Organisation mondiale de la santé, Bt var. israelensis a été rapidement commercialisé et il est maintenant couramment employé dans le monde entier pour réprimer les moustiques et les mouches noires soit du point de vue médical (lutte contre les vecteurs de maladies tropicales) soit du point de vue social ou touristique.

Bt var. San Diego ou Tenebrionis : Ce bacille isolé récemment (Krief et al. 1983) est spécifiquement pathogène pour les larves de certains coléoptères, en particulier, le doryphore de la pomme de terre, Leptinotarsa decemlineata (Coleoptera: Chrysomelidae). Ce bacille sera d'ailleurs commercialisé cette année pour son emploi dans la lutte contre le doryphore en question.

DEVELOPPEMENTS BIOTECHNOLOGIQUES FUTURS CONCERNANT BT

La démonstration de l'implication de différents plasmides dans la synthèse de l' δ endotoxine, a promptement ouvert la voie aux manipulations génétiques dans ce domaine. Plusieurs institutions sont ainsi parvenues à cloner les gènes de l' δ endotoxine (Carlton and Gonzalez, 1986) ou à les insérer dans différentes plantes, tel le tabac (Vaek et al., 1987). Toutefois, actuellement, ces travaux sont confrontés à différents problèmes, en particulier la difficulté d'isoler l'endotoxine produite par génie générique ou la crainte de sélectionner des souches d'insectes résistants. Des recherches intensives seront probablement encore nécessaires avant de pouvoir peut-être utiliser les résultats de manipulations génétiques de Bt pour contrôler différents insectes nuisibles..

C'est pourquoi, durant les prochaines années, les recherches concernant l'utilisation de Bt comme un insecticide microbien, devraient tendre à obtenir des préparations de cette bactérie qui soient plus concentrées, plus efficaces, plus disponibles, plus économiques et plus sécuritaires. Dans cette optique, la biotechnologie participera activement à la généralisation de l'usage du Bt.

Baculovirus

Parmi tous les virus isolés jusqu'à ce jour chez les insectes, seuls les baculovirus possèdent les qualités requises pour une utilisation comme insecticides microbiens. Ce sont des virus bacciliformes de 40 - 110 nm x 200-400 nm possédant une molécule d'ADN bicaténaire circulaire torsadée de 70 à 125 Kilobases (58 à 100 KDa). Les virions possèdent de 10 à 15 polypeptides. Les baculovirus sont constitués d'une enveloppe contenant une ou plusieurs capsides qui renferment la molécule d'ADN. Ces virus, en particulier les polyédroses nucléaires (VPN) ne présentent pas de similitudes génomiques avec des virus d'autres organismes. Par ailleurs, dans le cas des VPN, les particules virales sont incluses dans une trame protéique constituée par un

peptide de 25 à 31 KDa; chaque polyèdre contenant de 100 à 300 virions.

Les baculovirus sont très spécifiques; une souche virale n'étant active que sur une espèce d'insectes ou un petit nombre d'espèces voisines (Steinhaus, 1963). Par ailleurs, des tests de pathogénicité des baculovirus sur vertébrés réalisés selon des protocoles OMS dans différents pays, se sont tous avérés négatifs. Par leur grande spécificité, ces virus entomopathogènes ont donc un impact minimal sur l'Environnement en respectant notamment les insectes pollinisateurs ou minimal sur l'Environnement en respectant notamment les insectes pollinisateurs ou entomophages. De plus jusqu'à présent, aucune résistance de l'insecte hôte à un baculovirus n'a pu être mise en évidence au laboratoire ou dans la nature.

De nombreux virus de polyédries nucléaires sont reconnus comme d'excellents régulateurs de populations de Lépidoptères ou de Diptères nuisible en Agriculture et en Foresterie. C'est pourquoi, après des tests rigoureux destinés à confirmer la sécurité de leur utilisation, plusieurs baculovirus ont été enregistrés pour leur emploi comme insecticides viraux pour la répression à court et à long termes de leurs hôtes naturels. Citons, pour l'exemple, les VPN du ver de l'épis de maïs, Heliothis zea B. (Lepidoptera: Noctuidae), de la fausse arpenreuse du chou Trichoplusia ni Hbn (Lepidoptera: Noctuidae), de la Spongieuse Porthetria dispar L. (Lepidoptera: Lymantriidae), de Mamestra brassicae L. (Lepidoptera: Noctuidae), de Spodoptera littoralis H. (Lepidoptera: Noctuidae), de la Chenille à houppes du Douglas Orgyia pseudotsugata Mc.D. (Lepidoptera: Lymantriidae), du Diptère de LeConte Neodiprion lecontei F. (Hymenoptera: Diprionidae) et la granulose de la Chenille à tente estivale Hyphantria cunea D. (Lepidoptera: Arctiidae).

Tout porte à croire que l'emploi de ces virus entomopathogènes va se généraliser dans l'avenir pour la lutte contre certains insectes. Dans cette optique, la biotechnologie jouera un rôle primordial, en particulier en ce qui concerne le mode de détection de ces micro-organismes, l'évaluation de la sécurité de leur application et les possibilités de leur obtention à grande échelle.

Champignons entomopathogènes

Depuis les travaux de Bassi au siècle dernier, de nombreuses recherches ont été accomplies afin de déterminer les possibilités d'employer certains de ces champignons pour la lutte contre les insectes. Toutefois, ces microbes ne sont

généralement pas spécifiques et exigent des conditions très particulières pour se reproduire en nature. De plus, certains champignons entomopathogènes produisent des toxines qui peuvent être allergènes ou tératogènes (Burgess et Hussey, 1971). Jusqu'à présent, seul Beauveria bassiana semble avoir un certain potentiel comme insecticide microbien (Hajek et al. 1987), mais même dans ce cas, le développement de son utilisation se heurte aux nouvelles normes de sécurité relatives à l'épandage des pesticides.

Microsporidies (Protozoaires)

Ces sporozoaires sont les pathogènes les plus fréquemment observés chez les insectes. Généralement, ils peuvent réduire le potentiel physiologique et abaisser la fécondité de leurs hôtes. Les microsporidies participent donc à la régulation des populations de certains insectes. Toutefois, ces microorganismes ne sont pas spécifiques. De plus, ils sont extrêmement sensibles à l'action des conditions environnementales, principalement à l'effet des rayons solaires. Les possibilités d'utiliser les microsporidies comme des agents de lutte contre les insectes nuisibles sont donc, à l'heure actuelle, extrêmement réduites (Burgess et Hussey, 1971; Valéro, 1986).

Ainsi, jusqu'à ce jour, parmi tous les entomopathogènes qui ont été isolés, seuls Bt et quelques baculovirus peuvent être répandus opérationnellement pour contrôler des insectes nuisibles. C'est pourquoi, dans le cadre de la lutte contre C. fumiferana, les recherches accomplies par diverses institutions, en particulier nos travaux, tendent à développer au maximum l'efficacité, la rentabilité et la sécurité de l'emploi de ces deux types d'insecticides microbiens.

LUTTE MICROBIOLOGIQUE CONTRE LA TORDEUSE DES BOURGEONS DE L'EPINETTE (TBE)

La TBE est un Lépidoptère univoltin originaire de l'Est de l'Amérique du Nord et qui cause périodiquement des dégâts considérables dans nos ressources forestières. A ce propos, on estime que l'épidémie actuelle qui a débuté vers 1970, aura provoqué, dans la Province de Québec seulement, la perte de centaines de millions de mètres cubes de bois. Il est donc essentiel que tout soit mis en oeuvre pour réprimer ce ravageur.

Utilisation de Bt 3a3b

Depuis quelques années, grâce aux recherches réalisées par différents établissements, en particulier le Centre de foresterie des Laurentides de Québec en collaboration avec le ministère de l'Énergie et Ressources du Québec, Bt est devenu l'insecticide de choix pour lutter contre la TBE. En fait, 3 périodes ont conduit à ce résultat et ce comme suit:

- De 1960 à 1973: Démonstration que Bt est pathogène pour C. fumiferana et qu'il peut être répandu en forêts pour contrôler efficacement cet insecte;
- De 1973 à 1979: Etablissement des normes de dispersions aériennes de Bt et réalisations de préparations concentrées de cet insecticide dispersable à raison de 4,7 L/Ha tout en épandant la dose requise (20 à 30 x 10⁹ Unités internationales (Ha) (Smirnoff et Morris, 1984). En bref, ces normes de dispersion aérienne de Bt sont les suivantes: Application de Bt avec des systèmes d'arrosage bien calibrés et lorsque les bourgeons de sapins sont pleinement ouverts (la population de TBE étant généralement à cette époque aux 3^o et 4^o âges larvaires). De plus, ces traitements aériens doivent être effectués lorsque le taux d'humidité relative est suffisamment élevé et lorsque la vitesse du vent ne dépasse pas 5 Km/h.
- De 1979 à 1984: Développement de suspensions très concentrées de Bt (Futura) dispersables à raison de 2,5 L/Ha (volume final) tout en répandant la dose requise à l'aide d'avions de diverses capacités (monomoteurs et quadrimoteurs) (Smirnoff et Valéro, 1983); Smirnoff, 1985).

De façon générale, lorsque les normes de dispersions aériennes sont respectées et lorsque les populations de TBE ne dépassent pas 35 à 40 larves/45 cm, l'application de Futura ou d'autres suspensions très concentrées de Bt permet de réduire la population de l'insecte de 90% et de protéger plus de 70% des feuillages de conifères. A ce propos, afin d'évaluer le potentiel réel de Futura, le MERQ a appliqué en 1984, cette préparation à raison de 2,5 L/Ha, à l'aide d'un DC 4 sur un territoire de 4 000 hectares très fortement infestés par la TBE, la population de cet insecte atteignant en moyenne 50 larves/bout de branches de 45 cm. Ce traitement a permis de protéger plus de 55% du feuillage des conifères. (Smirnoff, 1985). C'est la raison pour laquelle le ministère de l'Environnement du Québec a décrété que Bt serait le seul insecticide employé contre la TBE; en 1986, l'Ontario a suivi cet exemple

Depuis 1985, la Section de Microbiologie des insectes de CFL poursuit ses travaux afin de développer encore plus l'emploi de Bt contre la TBE; ces recherches ayant les buts suivants:

- Obtention de suspensions ultra-concentrées de Bt dispersables à raison de 1,5 ou 2,0 L/Ha (volume final). Dans cette optique, il a été constaté qu'une nouvelle suspension de Bt dénommée Futura XLV dispersable à raison de 2,0 L/Ha tout en répandant 25×10^9 U.I./Ha est très efficace pour réprimer la TBE. Cette préparation permet donc de réduire de 20% le volume final qui doit être appliqué, ce qui augmente d'autant la rentabilité des avions d'arrosage. De plus, Futura XLV est prête pour sa dispersion aérienne, il n'est donc pas nécessaire de prévoir un système pour sa préparation sur les aéroports, ce qui réduit la durée et le coût des épandages de Bt. (Valéro 1988 a et b). Ce genre de suspensions de Bt devrait donc être utilisé pour réprimer efficacement et très économiquement la TBE.
- Accroissement de l'efficacité des préparations de Bt, en particulier la mise au point d'adhésifs efficaces permettant au Bt d'adhérer rapidement au feuillage des conifères et recherches de différentes méthodes pour augmenter la photostabilité de ce bacille;
- Possibilité de produire cet insecticide microbien à partir de sources d'azote et de carbone bon marché; ceci pour rendre Bt encore plus disponible et plus économique. A ce propos, nous avons constaté que Bt possède l'équipement enzymatique lui permettant de croître sur des milieux contenant comme seules sources de N² et de C, de la farine de pommes de terre, de la farine de poissons ou des dérivés de lactosérums (Valéro, 1986 a). Des travaux sont en cours afin d'évaluer les possibilités d'employer ces dérivés protéiques pour l'obtention biotechnologique de ce bacille;
- Collaboration au développement de procédés biotechnologiques qui permettront de définir le site d'action moléculaire de Bt.

Perspectives d'appliquer des Baculovirus contre la TBE

Six virus différents peuvent actuellement infecter la TBE, ce sont la polyédrie nucléaire de cet insecte (VPN-TBE), la polyédrie nucléaire (VPN-TC) de la Tordeuse du cerisier Archips cerasivoranus F. (Lepidoptera: Tortricidae), une

granulose, un entomopoxvirus, une polyédrique
virus non classifié de grillon. Jusqu'à présent
les deux VPN possèdent un certain potentiel
insuffisamment pathogènes et infectieux
réprimer cet insecte (Smirnov, 1970); Cependant
nous avons constaté que:

- Le VPN-TBE est pathogène et infectieux pour
- Le VPN-TC est pathogène et infectieux pour
- Ces deux virus infectent en premier lieu
hôtes; tous les tissus sont ensuite virologiquement
sérigènes.
- Ces deux VPN peuvent infecter un même tissu

De plus, au cours d'une double infection
troisième type d'inclusions polyédriques fut
soit une souche sélectionnée, soit un
temporairement VPN-TBE=TC (Valéro, 1986a). Expériences
ont montré que cet entomopathogène est
pathogènes pour la TBE que le VPN-TBE ou la
maladie virale des larves de TBE par le VPN-TC
le début de l'infection, soit 8 jours avant
infection VPN-TBE + VPN-TC ou par infection

Ces résultats nous ont donc incités à
potentiel du VPN-TBE-TC pour le contrôle de
aqueuse contenant 5×10^9 polyèdres/mL a donc
sur 40 sapins et épinettes fortement infestés
larves/45 cm). Ces traitements expérimentaux
Dr L. Jobin du CFL ont révélé que le VPN-TBE
pathogène pour *C. fumiferana* en forêts. En
mortalité de 90% des larves de TBE et perte
feuillage chez les conifères; l'analyse microscopique
du VPN-TBE-TC chez 92% des larves. De plus, 5
TBE étaient infectées par ce virus. Enfin, l'analyse
nucléaire a été relevée chez des adultes
phéromones (Valéro et Jobin: communication personnelle)

Ces résultats
d'estimer le
termes, less and Related
cours afin
diagnostiquer
dessus. Mites and Mites,

CONCLUSION . Patricia C.
e Symposia in
U.S.

Le contrôle
réalité, pu Assessment. In
Canada. 1969-
quement pou

de suspensions, K.D., Ferro,
volumes/ha, of *Beauveria*
potato beetle,
insecticide): An overview
le potentiel. 119: 959-
notamment

les gestionnaires
à unguiculata,
contrôler News. 37: 355-
économiquement

et à long terme
1983: *Bacillus*
rappeler qu'against larvae
tères forest

teuses et modes of
Ed. Microbial
pour contrôler

être intensifié
the cytoplasm
contrôle de
pillar. Can.
Charançon

biotechnologie concentrated
lement et *Choristoneura*
43-444.

le potentiel
microbiens. the *Bacillus*
gical Control
pp. 239-347.

formulation of
a *fumiferana*;

Ces résultats sont fort intéressants et ces travaux se poursuivent afin d'estimer les perspectives d'utiliser ce VPN pour contrôler à court et à long termes, les épidémies de TBE. Par ailleurs, des recherches spéciales sont en cours afin de développer des méthodes biotechnologiques qui permettront de diagnostiquer ce virus et de le différencier des deux autres PVN cités ci-dessus.

CONCLUSION

Le contrôle microbiologique de la TBE n'est donc pas un mythe mais bien une réalité, puisque Bt 3a3b peut être appliqué très efficacement et très économiquement pour réprimer à court terme ce ravageur forestier. De plus, l'obtention de suspensions encore plus concentrées et dispersables à de très faibles volumes/Ha, augmentera considérablement les possibilités d'utilisation de cet insecticide microbien sécuritaire. Par ailleurs, si les tests futurs confirment le potentiel du VPN-TBE-TC pour la répression du lépidoptère en question, notamment la création d'épizooties virales dans les populations de l'insecte, les gestionnaires forestiers posséderont deux insecticides biologiques pour contrôler la TBE, soit Bt pour protéger à court terme des forêts pouvant être économiquement endommagées, soit un virus entomopathogène pour réprimer à court et à long termes les épidémies de C. fumiferana. De plus, il est nécessaire de rappeler que Bt peut être employé efficacement contre la plupart des Lépidoptères forestiers tels que la Spongieuse, les Chenilles à houppes, les Arpen-teuses et les Livrées et que des polyédries nucléaires sont employées au Canada pour contrôler différents Diprions forestiers. Enfin, des recherches devraient être intensifiées afin de mettre au point des insecticides microbiens pour le contrôle de certains insectes suceurs ou de Coléoptères nuisibles tels que le Charançon du Pin blanc. Pour atteindre l'ensemble de ces objectifs, la biotechnologie sera de plus en plus sollicitée autant pour produire industriellement et diagnostiquer ces entomopathogènes que pour évaluer le mode d'action, le potentiel, la rentabilité et la sécurité des préparations d'insecticides microbiens.

BIBLIOGRAPHIE

- Aronson, A.I., Beckman W. and Dunn P. 1986: Bacillus thuringiensis and Related Insect Pathogens - Microbial Reviews 50: 1-24.
- Balch, R.E. and Bird, F.T. 1944: Sci. Agric. 25: 65.
- Burges, H.D. et Hussey, N.W. 1971: Microbial Control of Insects and Mites, Academic Press, New-York.
- Carlton, B.C. and Gonzalez, J. 1986: Biocontrol of insects - dans Biotechnology for Solving Agricultural Problems - Edit. Patricia C. Augustine, H.D. Danforth and Murray R. Baskt - Beltsville Symposia in Agricultural Research; Martinus Nijhoff Publishers, Boston E.U.
- Cunningham, J.C. and Howse G.M. 1984: Viruses: Application and Assessment. In Biological control Programmes against Insect and Weeds in Canada. 1969-1980: p. 248-259. C.A.B.
- Hajek, A.E., Soper, R.S., D.W. Roberts, Anderson, T.E., Bierer, K.D., Ferro, D.N., Lebrun R.A. and Storch R.H. 1987: Foliar applications of Beauveria bassana (Balsamo) Wuillemin for control of the Colorado potato beetle, Leptinotarsa decemlineata (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae): An overview of pilot test results from Northern United States. The Can. Ent. 119: 959-874.
- Goldberg, L.J. and Margalit, J. 1977: A bacterial spore demonstrating rapide larvicidal activity against Anopheles sergentii, Uranotaenia unguiculata, Culex univittatus, Aedes Aegypti and Culex pipiens. Mosq. News. 37: 355-358.
- Krieg. A., Huger, A.M., Langenbruch, G.A. and Schnelter, W. 1983: Bacillus thuringiensis var. tenebrionis, a new pathotype effective against larvae of Coleoptera. Z. Angew. Entomol. 96: 500-508.
- Kurstak, E. and Tijssen P. 1982: Microbial and Viral Pesticides: modes of action, safety and future prospects. pp. 3-32 in Kurstak, Ed. Microbial and Viral Pesticides. Dekker, New York.
- Smirnoff, W.A. 1970: Rhombohedral twisted crystalloids found in the cytoplams of nuclear polyhedrosis infected larvae of the Ugly-nest caterpillar. Can. J. Microbiol. 16: 906-907.
- Smirnoff W.A. and Valéro, J.R. 1983: Characteristics of a highly concentrated Bacillus thuringiensis formulation against Spruce budworm, Choristoneura fumiferana Clemens (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Ent. 115: 443-444.
- Smirnoff, W.A. and Morris, O.N. 1984: Field development of the Bacillus thuringiensis Berliner in Eastern Canada, 1970-1980. In Biological Control Programs against Insect and Weeds in Canada. 1969-1980. pp. 239-347. C.A.B.
- Smirnoff, W.A. 1985: Field tests of a highly concentrated formulation of Bacillus thuringiensis against Spruce budworm (Choristoneura fumiferana; Lepidoptera: Tortricidae). Can. ent. 117: 877-881.

- Steinhaus, E.A. 1963: Insect Pathology, Vol. 1 and 2 - Academic Press, New York.
- Valéro, J.R. 1986a: Contrôle microbiologique des insectes forestiers nuisibles: p. 75 in J.P. Bourassa et al. Eds. Deuxième conférence internationale des entomologistes d'expression française.
- Valéro, J.R. 1986b: Similitudes entre deux polyédries nucléaires de deux Tortridae. Ass. Microbiol. Qué. 10: 12.
- Valéro, J.R. 1988a: Résultats des dispersions aériennes expérimentales de Futura effectuées contre la Tordeuse des bourgeons de l'épinette dans la Province de Québec en 1985. Can. Ent. (sous presse).
- Valéro, J.R. 1988b: Résultats de trois années d'applications aériennes expérimentales de Bacillus thuringiensis à raison de 2,0 L/Ha contre Choristoneura fumiferana C. Can. Ent. (sous presse).
- Vaeck M., Reynaerts, A., Hofte, Jansens, S., De Beuckeleer, M., Dean, C., Zabeau, M., Van Montagu, M. and Leemans J. 1987: Transgenic plants protected from insect attack. Nature. 328: 33-37.