

Maisons-Alfort, le 31 juillet 2020

AVIS
**de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail**
**relatif à une demande d'autorisation d'introduction dans l'environnement
d'un macro-organisme non indigène utile aux végétaux**

**Souche non indigène de *Heterorhabditis downesi*
de la société E-NEMA Gmbh**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a notamment pour mission l'évaluation des dossiers de produits phytopharmaceutiques et de demande d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes. Les avis formulés par l'agence comprennent :

- L'évaluation des risques que l'utilisation de ces produits peut présenter pour l'homme, l'animal ou l'environnement ;
 - L'évaluation de leur efficacité et de l'absence d'effets inacceptables sur les végétaux et produits végétaux ainsi que celle de leurs autres bénéfices éventuels ;
 - Une synthèse de ces évaluations assortie de recommandations portant notamment sur leurs conditions d'emploi.
-

PRESENTATION DE LA DEMANDE

Dans le cadre des dispositions prévues par l'article L 258-1 et 2 du code rural et de la pêche maritime, et du décret n° 2012-140 du 30 janvier 2012¹, l'entrée sur le territoire et l'introduction de macro-organismes non indigènes sont soumis à autorisation préalable des ministres chargés de l'agriculture et de la protection de la nature, sur la base d'une analyse du risque phytosanitaire et environnemental que cet organisme peut présenter.

L'Agence a accusé réception le 27 juin 2019 d'une demande d'autorisation d'introduction dans l'environnement d'une souche non indigène du macro-organisme *Heterorhabditis downesi*, Stock, Griffin & Burnell, 2002 de la part de la société E-NEMA Gmbh. Conformément au code rural et de la pêche maritime, l'avis de l'Anses est requis.

Le présent avis porte sur l'évaluation du risque phytosanitaire et environnemental lié à l'introduction dans l'environnement d'une souche non indigène du macro-organisme *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin & Burnell, 2002, un nématode entomopathogène, dans le cadre d'une lutte biologique augmentative ciblant les larves de diverses espèces de coléoptères se développant dans le sol dans des cultures telles que la vigne, l'arboriculture fruitière, les cultures légumières et ornementales ainsi que dans des situations telles que les terrains de golf et de sports, le gazon et la forêt.

Il est fondé sur l'examen par l'Agence du dossier de demande déposé par E-NEMA Gmbh pour ce macro-organisme, conformément aux dispositions du décret n° 2012-140 du 30 janvier 2012 et à l'annexe II de l'arrêté du 28 juin 2012² relatifs à la constitution du dossier technique.

Le territoire concerné par cette demande d'introduction dans l'environnement est la France métropolitaine continentale.

- 1 Décret no 2012-140 du 30 janvier 2012 relatif aux conditions d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique.
- 2 Arrêté du 28 juin 2012 relatif aux demandes d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique (JORF N°0151 du 30 juin 2012 page 10790).

ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Les données prises en compte sont celles qui ont été jugées valides par l'Anses. L'avis présente une synthèse des éléments scientifiques essentiels qui conduisent aux recommandations émises par l'Agence et n'a pas pour objet de retracer de façon exhaustive les travaux d'évaluation menés par l'Agence.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « substances et produits phytopharmaceutiques, biocontrôle ». L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Macroorganismes utiles aux végétaux ». Le résultat de cette expertise a été présenté au CES ; le présent avis a été adopté par ce CES réuni le 07/07/2020.

L'Anses prend en compte les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

SYNTHESE DE L'EVALUATION

CARACTERISTIQUES DU MACRO-ORGANISME

Identification taxonomique du macro-organisme et méthodes d'identification

En l'état des connaissances, la taxonomie est la suivante :

Classe : Secernentea

Ordre : Rhabditida

Famille : Heterorhabditidae

Genre : Heterorhabditis

Espèce : *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin & Burnell, 2002

L'identification du macro-organisme faisant l'objet de cette demande a été confirmée par un certificat d'identification moléculaire sur la base d'analyses réalisées par un prestataire.

Les nématodes entomopathogènes vivent en symbiose avec des bactéries qui sont responsables de l'activité entomopathogène. Deux « entités taxonomiques » de bactérie, historiquement dénommées *P. temperata* subsp. *temperata* et *P. temperata* subsp. *cinerea*, sont capables de vivre en symbiose avec *H. downesi*. Comme les noms le suggèrent, ces deux entités ont longtemps été considérées comme deux sous-espèces mais des travaux plus récents (Machado *et al.*, 2018) suggèrent qu'il s'agit de deux espèces bien distinctes. Le demandeur indique que la bactérie symbiotique de la souche de *H. downesi* objet de la demande est *P. temperata* subsp. *temperata* (ancienne classification) / *P. temperata* (classification de Machado *et al.* 2018). Une caractérisation moléculaire de cette bactérie symbiotique a été réalisée et attestée par un certificat d'identification moléculaire sur la base d'analyses réalisées par un prestataire.

Conformément à l'article 4 de l'arrêté du 28 juin 2012, un échantillon d'individus de référence devra être déposé au Centre de Biologie et de Gestion des Populations (CBGP).

Description, biologie, écologie, origine et répartition du macro-organisme

L'espèce *H. downesi* est un nématode entomopathogène parasite obligatoire d'insectes et strictement inféodé au sol. L'espèce se développe principalement dans les sols sablonneux et côtiers à texture fine et aérée et dans lesquels le taux d'humidité est élevé.

Les juvéniles infectieux de *H. downesi* pénètrent leurs hôtes par leurs orifices naturels. Les nématodes libèrent alors, par leurs bouches, les cellules bactériennes de *P. temperata* directement à l'intérieur de l'hôte. Chaque nématode contient 100 à 500 bactéries.

La bactérie se multiplie au sein de l'hôte et libère des toxines entraînant la mort de l'hôte en 24 à 48 heures. Les nématodes se multiplient et se nourrissent du cadavre de l'insecte contenant les bactéries. Plusieurs générations de nématodes vont se succéder dans le cadavre. Dès que les ressources nutritives du cadavre sont épuisées, une nouvelle génération de juvéniles infectieux émerge de l'insecte. Ces derniers se réassocient spécifiquement avec leur bactérie symbiotique : *P. temperata*. Le complexe némato-bactérien nouvellement formé part ensuite à la recherche d'un nouvel hôte. Les premières émergences de ce complexe apparaissent 12 à 14 jours après l'infection de l'hôte. La bactérie est stockée dans les intestins du nématode jusqu'à la pénétration d'un nouvel hôte. Il est à noter que *P. temperata* n'a jamais été isolée en dehors de son partenaire *H. downesi*. Cette bactérie n'est pas en mesure de vivre seule dans le sol.

Les espèces du genre *Heterorhabditis* sont présentes sur tous les continents habitables. L'espèce *Heterorhabditis downesi* est aujourd'hui signalée uniquement dans des pays européens : Irlande, Royaume-Uni, Hongrie, Danemark, Allemagne, Italie. Aucune information n'est disponible quant à l'éventuelle présence de l'espèce *H. downesi* en France métropolitaine continentale.

Les nématodes entomopathogènes présentent un large spectre d'action en laboratoire : jusqu'à 250 espèces appartenant à 11 ordres différents pour le nématode entomopathogène *Steinernema carpocapsae*. Dans une étude de laboratoire, *H. downesi* a montré une capacité d'infecter les quatre espèces testées qui appartiennent à trois ordres d'insectes. Ceci laisse supposer un spectre d'action bien plus large (Maher, 2014). Cependant, en conditions naturelles, seules quelques espèces de coléoptères sont mentionnées en tant que cibles : *Otiorhynchus sulcatus*, *Otiorhynchus ovatus*, *Otiorhynchus armadillo*, *Phyllopertha horticola*, *Melolontha melolontha* et *Hylobius abietis*.

L'origine géographique de la souche à l'origine de l'élevage a été décrite. La localisation de l'élevage a également été précisée.

Utilisation et cible du macro-organisme

Ce macro-organisme sera introduit dans le cadre d'une lutte biologique augmentative ciblant les larves de plusieurs espèces de coléoptères, en particulier :

- Les larves de charançon (*Otiorhynchus sulcatus*, *O. ovatus*, *O. armadillo*) dans les pépinières, les vergers et les jardins potagers,
- Les larves de hannetons (*Phyllopertha horticola*, *Hoplia philanthis*, *Melolontha melolontha*) sur les gazons et terrains de golf et de sports,
- Les larves de charançon du pin (*Hylobius abietis*) dans les forêts de pin.

Contrôle de la qualité du produit

Les procédures relatives au contrôle qualité ont été décrites et sont considérées comme satisfaisantes.

EVALUATION DU RISQUE LIÉ À L'INTRODUCTION DU MACRO-ORGANISME DANS L'ENVIRONNEMENT

Etablissement et dispersion du macro-organisme dans l'environnement

D'après la littérature, l'espèce *H. downesi* est établie en Irlande, au Royaume-Uni, en Hongrie, au Danemark, en Allemagne et en Italie. Compte tenu de la répartition de ces signalements, il est probable que l'espèce soit présente également dans des zones limitrophes de ces pays, dont la France métropolitaine continentale.

D'après une publication sur la persistance de diverses espèces de nématodes entomopathogènes après application, la population de nématodes introduite décline rapidement. Des pertes considérables sont observées au moment même de l'application. Il existe de grandes différences entre les souches d'une même espèce en termes de conditions pédoclimatiques optimales.

Lorsque des nématodes entomopathogènes sont appliqués dans des conditions pédoclimatiques qui diffèrent grandement de celle du lieu de collecte, la probabilité de survie dans ce nouvel habitat est réduite (Leij, 1995). Les nématodes sont affectés par la dessiccation et les UV. Ils sont confrontés à de nombreux antagonistes : acariens prédateurs du sol, collemboles, tardigrades, virus, bactéries et champignons (Leij 1995 ; Kerry, 1995). Diverses publications indiquent une persistance de plusieurs semaines. Si des hôtes potentiels sont présents et que les conditions pédoclimatiques sont favorables, la population de nématodes peut persister plusieurs années à faible niveau (Mráček, 2003). En ce qui concerne *H. downesi*, il a été retrouvé à des faibles niveaux de population jusqu'à cinq ans après application sur souche en forêt de pin (Dillon *et al.*, 2008).

Les capacités de dispersion naturelle de l'espèce *H. downesi* ne sont pas documentées. Il apparaît néanmoins que les nématodes ont une très faible capacité intrinsèque de déplacement, de l'ordre de quelques mètres par an. Les déplacements indirects *via* des hôtes infectés ou *via* les eaux de ruissellement représentent le seul moyen naturel de dispersion.

Compte tenu de ces informations, la probabilité d'établissement et de dispersion en France métropolitaine continentale peut être considérée comme modérée.

Néanmoins, l'espèce ne se développant préférentiellement que sur des sols sableux et côtiers, l'établissement pérenne éventuel et la dispersion du macro-organisme objet de la demande, suite à son application, seraient limités aux zones françaises présentant ces caractéristiques.

Risque potentiel pour la santé humaine et/ou animale

Plusieurs études n'ont montré aucune pathologie suite à l'administration de nématodes entomopathogènes ou de leurs symbiotes à diverses espèces de mammifères telles que le cochon d'inde, le rat, la souris, le lapin, la poule et le singe excepté des ulcères de la peau sur la souris lorsque *S. carpocapsae* a été administré en sous cutanée à 2.10^4 nématodes. Aucun effet n'a été rapporté à 10^3 nématodes dans ces mêmes conditions.

En l'état actuel des connaissances, les nématodes entomopathogènes et leurs symbiotes ne sont pas connus pour transmettre des pathogènes spécifiques de l'homme ou de l'animal et pour avoir des effets sensibilisants à l'exception de la bactérie *Photorhabdus asymbiotica*. En effet, cette espèce peut entraîner, chez l'homme, une infection des tissus mous et une bactériémie (Gerrard & Stevens, 2017). Elle semble être la seule espèce de *Photorhabdus* capable d'infecter l'homme. En l'état actuel des connaissances, *Photorhabdus asymbiotica* est strictement associée à *Heterorhabditis gerrardi* (Pitchka *et al.*, 2009). Une éventuelle association entre *P. asymbiotica* et *H. downesi* n'a jamais été observée. Il est à noter que *P. asymbiotica* présente une température maximale de développement de 38°C alors que celle de *P. temperata* est de 34°C (Boemare, 2002). Une étude de génomique comparée a montré que l'espèce *P. asymbiotica* possède des facteurs de virulence spécifiques qui pourraient jouer un rôle dans la pathologie humaine (Wilkinson, 2009). A ce jour, ces facteurs de virulence n'ont jamais été identifiés chez d'autres espèces de *Photorhabdus*. L'espèce *P. temperata* est phylogénétiquement éloignée de *P. asymbiotica*. Ces espèces sont facilement discriminées. Par ailleurs, le complexe nématobactérien *H. megidis*-*P. temperata* est déjà commercialisé sur le territoire de la France métropolitaine continentale depuis les années 1980 sans qu'aucun effet négatif n'ait été rapporté.

Le risque potentiel pour la santé humaine ou animale est donc considéré comme négligeable.

Risque potentiel pour la santé des végétaux

Les nématodes entomopathogènes ne sont pas connus pour avoir un comportement phytophage ni pour causer de dégâts aux végétaux. Le risque potentiel pour la santé des végétaux est donc considéré comme négligeable.

Risque potentiel pour l'environnement et la biodiversité

Risque pour les arthropodes non cibles

En ce qui concerne les arthropodes non cibles, les nématodes entomopathogènes présentent une polyphagie certaine au laboratoire. Par exemple, Poinar rapporte en 1979 que *S. carpocapsae* est capable d'infecter 250 espèces appartenant à 75 familles de 13 ordres différents.

Cependant, plusieurs études au champ n'ont montré aucun impact significatif négatif sur les populations de plus de 20 familles d'arthropodes non cibles du sol suite à l'utilisation de nématodes entomopathogènes comme *S. carpocapsae*, *S. feltia*, *H. megidis* et *H. bacteriophora* dans des cultures telles que le maïs, le chou ou la canneberge et des situations telles que les forêts, les vergers ou les gazons de golf (Georgis *et al.*, 1991, Buck & Bathon 1993, Koch & Bathon, 1993).

Dans une étude réalisée en forêt, des applications de *H. downesi* pour lutter contre le coléoptère ravageur *Hylobius abietis* ont montré qu'*H. downesi* était capable de s'attaquer à *Rhagium bifasciatum*, un coléoptère saproxylique non cible. Cependant, le niveau d'infection obtenu en forêt (aucune infection à faible dose en nématode et 70 % d'infection à forte dose en nématodes) était inférieur à celui observé en laboratoire (jusqu'à 62 % à faible dose et supérieur à 90 % à forte dose). De plus, des échantillonnages dans des zones non traitées ont montré une cohabitation entre *H. downesi* et *R. bifasciatum* sans infection de la part du nématode sur l'espèce non cible (Harvey *et al.*, 2012). Une autre étude réalisée en forêt a montré que des applications de *H. downesi* n'avait aucun effet significatif négatif sur l'abondance et la diversité de 65 espèces de coléoptères non cibles sur 2 années (Dillon *et al.*, 2012).

D'après la littérature, une phase initiale de forte densité de population de nématodes entomopathogène est observée à un niveau local après application. La taille de la population se réduit rapidement à un très faible niveau et présente une distribution en tâches reflétant la distribution des hôtes potentiels présents. Dans ces conditions, une pullulation incontrôlée des nématodes introduits dans le sol apparait donc hautement improbable. L'exposition des arthropodes non cibles à ces nématodes sera donc réduite.

Il est à noter que peu de données scientifiques sont disponibles sur l'impact des nématodes entomopathogènes sur les arthropodes non cibles. De nouvelles données sur ce sujet devraient être produites par la communauté scientifique afin de compléter les connaissances disponibles à ce jour.

Risques pour les autres organismes non cibles

En ce qui concerne les espèces non cibles autres que les arthropodes, *S. carpocapsae* et *H. heliothidis* ont entraîné la mort de têtards de la rainette du Pacifique *Pseudacris regilla* et du xénope lisse *Xenopus laevis* en laboratoire (Poinar & Thomas, 1988 ; Kermarrec *et al.*, 1991) dans des conditions de contact forcé et à dose élevée comparée aux conditions réelles d'exposition. Cette mortalité était due à l'entrée de bactéries étrangères, autres que le symbiote, via l'ouverture créée par la pénétration du nématode sur la paroi intestinale des jeunes têtards. Aucun effet négatif sur les adultes n'a été rapporté. Néanmoins, aucun impact sur les jeunes têtards n'a été observé lors d'essais réalisés en aquariums à fond sableux à des doses similaires (Jung, communication personnelle dans Elhers & Peters, 2003). Dans ces conditions plus réalistes d'exposition les nématodes sédimentent immédiatement dans la couche sableuse et n'affectent pas les têtards.

De plus, l'exposition des espèces de batraciens aux nématodes entomopathogènes est limitée aux eaux de ruissellement et à la dérive de pulvérisation. Compte tenu des caractéristiques biologiques et comportementales des nématodes entomopathogènes et du fait que les batraciens ne sont pas des hôtes naturels des nématodes entomopathogènes, la probabilité de contact entre ces organismes peut être considérée comme faible. Dans ces conditions, il paraît peu probable que des effets négatifs sur ces espèces non cibles puissent intervenir.

Conclusion relative aux risques potentiels pour l'environnement et la biodiversité

Les nématodes entomopathogènes sont utilisés sur tous les continents depuis le milieu des années 1980 (Poinar & Grewal, 2012). Aucun impact négatif sur l'environnement et la biodiversité n'a été rapporté.

En l'état actuel des connaissances, aucun effet néfaste pour l'environnement et la biodiversité n'est attendu.

Efficacité et bénéfices du macro-organisme

Le pétitionnaire a fourni les résultats de plusieurs essais permettant d'évaluer l'efficacité de *H. downesi* sur les charançons du genre *Otiorhynchus* :

- Un essai réalisé en Irlande sur fraisiers en sacs a montré une efficacité de 51 %, 77 % et 88 % pour le contrôle de *Otiorhynchus sulcatus* après respectivement 1, 2 ou 3 applications de *H. downesi* à la dose de 25.000 individus par plante.
- Dans un essai réalisé en chambre climatique, 20 larves de diverses espèces d'*Otiorhynchus* ont été placées dans des pots avant application de *H. downesi*. Cette étude a montré une efficacité de 93 %, 99 % et 100 % pour les contrôles respectifs de *Otiorhynchus dieckmanii*, *Otiorhynchus salicola* et *Otiorhynchus armadillo* 3 semaines après application à une dose de 2500 individus de *H. downesi* par pot.

Plusieurs publications permettent d'évaluer l'efficacité de *H. downesi* sur d'autres espèces cibles :

- Des essais en forêt évoqués précédemment montrent un niveau d'efficacité de 63 à 80 % sur *Hylobius abietis* (Dillon *et al.*, 2012).
- Des observations sur dunes enherbées ont montré qu'*H. downesi* était capable d'infecter les larves de *Phyllopertha horticola* sans qu'un niveau d'efficacité n'ait été rapporté (Griffin, communication personnelle dans Maher 2014).
- Des données de laboratoire ont montré une efficacité de 80 % sur *Melolontha melolontha* à une dose de 500 individus par gramme de sol (Lakatos & Toth, 2006).

Les bénéfices potentiels de l'utilisation du macro-organisme objet de la demande ont été argumentés. Cependant, aucune donnée permettant d'évaluer l'intérêt de *H. downesi* sur *Hoplia philanthus* n'a été fournie.

CONCLUSIONS

Compte tenu des éléments disponibles et en l'état actuel des connaissances :

- La probabilité d'établissement et de dispersion du macro-organisme, objet de la demande, sur les territoires de la France métropolitaine peut être considérée comme modérée.
- Les risques pour la santé humaine et animale sont considérés comme négligeables.
- Le risque pour la santé des végétaux est considéré comme négligeable.
- Aucun effet néfaste pour l'environnement et la biodiversité n'est attendu.
- Les bénéfices potentiels de l'utilisation du macro-organisme, objet de la demande, en tant qu'agent de lutte biologique, ont été argumentés.

Considérant l'ensemble des données disponibles, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet un avis favorable à la demande d'autorisation d'introduction dans l'environnement de l'agent de lutte biologique non indigène *Heterorhabditis downesi* de la société E-NEMA GmbH sur le territoire de la France métropolitaine continentale.

Conformément à l'article 4 de l'arrêté du 28 juin 2012, un échantillon d'individus de référence devra être déposé au Centre de Biologie et de Gestion des Populations (CBGP).

Il conviendrait de mettre en place un suivi relatif aux bénéfices et aux risques suite à l'introduction dans l'environnement du macroorganisme objet de la demande.

Il est à noter que peu de données scientifiques sont disponibles sur l'impact des nématodes entomopathogènes sur les arthropodes non cibles. De nouvelles données sur ce sujet devraient être produites par la communauté scientifique afin de compléter les connaissances disponibles à ce jour.

Mots-clés : *Heterorhabditis downesi*, Nématodes EntomoPathogènes, NEP, EntomoPathogenic Nematodes EPN, agent non indigène, macro-organisme, lutte biologique, lutte augmentative, coléoptères ravageurs, France métropolitaine continentale.

BIBLIOGRAPHIE

Dans le cadre de cet avis, l'Anses a identifié les publications pertinentes suivantes :

Boemare N. (2002) Biology, Taxonomy and Systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* dans Gaugler R. (Ed.) Entomopathogenic Nematology. pp. 35-56. Wallingford, CABI Publishing.

Buck M. & Bathon H. (1993). Auswirkungen des Einsatzes entomopathogener Nematoden (*Heterorhabditis* sp.) im Freiland auf die Nichtzielfauna, 2. Teil: Diptera. Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz, 66, pp. 84–88.

Dillon A. B., Rolston N., Meade C. V., Downes M. J., and Griffin C. T. (2008). Establishment, persistence, and introgression of entomopathogenic nematodes in a forest ecosystem Ecological Applications, 18(3), pp. 735–747.

Dillon A.B., Foster A., Williams C.D. & Griffin C.T. (2012). Environmental safety of entomopathogenic nematodes – Effects on abundance, diversity and community structure of non-target beetles in a forest ecosystem, Biological control 63, pp. 107-114.

Elhers R.U. & Peters A. (2003). Entomopathogenic nematodes in biological control: feasibility, perspectives and possible risks dans Hokkanen H.M.T. & Lynch J.M. (Ed.) Biological Control: Benefits and Risks. pp. 119-137. Cambridge University Press.

Georgis R., Kaya H.K. & Gaugler R. (1991). Effect of steinernematid and heterorhabditid nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) on non-target arthropods - Environmental Entomology, 20 (3), pp. 815-822.

Gerrard J.G. & Stevens R.P. (2017). A Review of Clinical Cases of Infection with *Photorhabdus asymbiotica* - Current Topics in Microbiology and Immunology 402, pp. 179-191.

Harvey C.D., Alameen K.M. & Griffin C.T. (2012) The impact of entomopathogenic nematodes on a non-target, service-providing longhorn beetle is limited by targeted application when controlling forest pest *Hylobius abietis*, Biological control 62. pp. 173-182.

Kermarrec A. , Mauléon H., Sirjusingh H., Baud L. (1991) Etude expérimentale de la sensibilité de vertébrés hétérothermes tropicaux (crapaud, grenouilles, lézards) à diverses souches de nématodes entomoparasites des genres *Heterorhabditis* et *Steinernema*. Colloques INRA n°58 Rencontres Caraïbes en Lutte Biologique, Guadeloupe, 5-7 novembre 1990, Ed. INRA Paris.

Kerry B. (1995). The potential impact of natural enemies on the survival and efficacy of entomopathogenic nematodes dans Griffin, C. T., Masson, J. P. and Gwynn, R. L. (ed.) Ecology and transmission strategies of entomopathogenic nematodes. Report COST 819. European Commission, Luxembourg. pp. 7-13.

Koch U. & Baton H. (1993). Auswirkungen des Einsatzes entomopathogener Nematoden im Freiland auf die Nichtzielfauna, 1. Teil: Coleoptera. Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz 66:65–68.

Lakatos T. & Toth T (2006). Biological control of European cockchafer larvae (*Melolontha melolontha* L.)– preliminary results, Journal of Fruit and Ornamental Plant Research Vol. 14 (3). pp. 73-78.

Leij F.A.A.M. (1995). Survival of entomopathogenic nematodes in soil dans Griffin, C. T., Masson, J. P. and Gwynn, R. L. (ed.) Ecology and transmission strategies of entomopathogenic nematodes. Report COST 819. European Commission, Luxembourg. pp. 1-6.

Machado R.A.R., Wüthrich D., Kuhnert P., Arce C.C.M., Thönen, L., Ruiz C., Zhang X. Robert C.A.M., Karimi J., Ma J., Bruggmann R. & Erb M. (2018). Whole-genome-based revisit of *Photorhabdus* phylogeny: proposal for the elevation of most *Photorhabdus* subspecies to the species level and description of one novel species *Photorhabdus bodei* sp. nov., and one novel

subspecies *Photorhabdus laumondii* subsp. *clarkei* subsp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 68. pp. 2664-2681.

Maher A.M.D. (2014). Co-existence and niche separation of two subspecies of *Photorhabdus temperata* associated with *Heterorhabditis downesi* in a dune grassland, thèse de doctorat National University of Ireland, Maynooth.

Mráček, Z. (2003). Use of Entomoparasitic Nematodes (EPANs) in Biological Control dans Upadhyay, R. K. (Ed.) Advances in Microbial Control of Insect Pests. pp. 235-264. Kluwer Academic Plenum, Dordrecht.

Plichta K.L., Joyce S.A., Clarke D., Waterfield N., Stock S.P. (2009) *Heterorhabditis gerrardi* n. sp. (Nematoda: Heterorhabditidae): the hidden host of *Photorhabdus asymbiotica* (Enterobacteriaceae: gamma-Proteobacteria). Journal of Helminthology, 83(4), pp. 309-20.

Poinar G. O. Jr. (1979). Nematodes for Biological Control of Insect, CRC Press, Boca Raton. Florida, 277.

Poinar G. O. Jr. & Thomas G.M. (1988). Infection of frog tadpoles (Amphibia) by insect parasitic nematodes (Rhabditida). Experientia 44, pp. 528–531

Poinar G. O. Jr. & Grewal P. S. (2012). History of entomopathogenic nematology. Journal of Nematology, 44(2), pp. 153-161

Wilkinson P., Waterfield N.R., Crossman L., Corton C., Sanchez-Contreras M., Vlisidou I., Barron A., Bignell A., Clark L., Ormond D., Mayho M., Bason N., Smith F., Simmonds M., Churcher C., Harris D., Thompson N.R., Quail M., Parkhill J. & Constant R.H. (2009). Comparative genomics of the emerging human pathogen *Photorhabdus asymbiotica* with the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*. BMC Genomics, 10, pp. 302.