

BURKINA FASO
UNITE-PROGRES-JUSTICE

**MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL



MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

en vue de l'obtention du

DIPLOME D'INGENIEUR DU DEVELOPPEMENT RURAL
OPTION : AGRONOMIE

Evaluation de la toxicité de deux delta endotoxines (Cry1Ac et Cry2Ab) de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) sur les populations de *Helicoverpa armigera* (Hübner) au laboratoire et de l'efficacité biologique du cotonnier transgénique BOLLGARD II sur les lépidoptères en milieu réel au Burkina-Faso.

Présenté par : **BALBONE Saïdou**



MENTION BIEN

Maître de stage : **M. Omer S.A. HEMA**

Directeur de mémoire : **M. Bégué DAO**

TABLE DES MATIERES

<i>DEDICACE</i> -----	<i>i</i>
<i>REMERCIEMENTS</i> -----	<i>ii</i>
<i>LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS</i> -----	<i>iii</i>
<i>LISTE DES TABLEAUX</i> -----	<i>iv</i>
<i>LISTE DES FIGURES</i> -----	<i>v</i>
<i>LISTE DES PHOTOS</i> -----	<i>vi</i>
<i>RESUME</i> -----	<i>vii</i>
<i>ABSTRACT</i> -----	<i>vii</i>
<i>INTRODUCTION GENERALE</i> -----	<i>1</i>

***PREMIERE PARTIE : GENERALITES*----- 3**

CHAPITRE 1: LE COTONNIER ET SES RAVAGEURS----- 3

1.1. LE COTONNIER.-----	3
1.1.1. Botanique-----	3
1.1.2. Morphologie du cotonnier.-----	3
1.1.3. Cycle biologique.-----	3
1.1.4. Séquence parasitaire du cotonnier.-----	4
1.2 LES PRINCIPAUX RAVAGEURS DU COTONNIER.-----	4
1.3 LE RAVAGEUR, <i>HELICOVERPA ARMIGERA</i> .-----	5
1.3.1. Systématique-----	5
1.3.2. Description morphologique-----	6
1.3.2.1. Les adultes-----	6
1.3.2.2. Les œufs-----	6
1.3.2.3. Les larves-----	6
1.3.2.4. Les chrysalides-----	6
1.3.2.5. Cycle biologique-----	7
1.3.2.6. Les plante-hôtes.-----	8

CHAPITRE 2 : PROTECTION PHYTOSANITAIRE DU COTONNIER CONTRE LES RAVAGEURS.----- 9

INTRODUCTION-----	9
2.1 LES PRINCIPALES FAMILLES D'INSECTICIDES-----	9
2.1.1. Les organochlorés-----	9
2.1.2. Les organophosphorés et les carbamates-----	9
2.1.3. Les pyrèthri-noïdes-----	9
2.1.4. Les autres familles d'insecticides-----	10
2.2. MODE D'ACTION DES INSECTICIDES-----	10

2.3 LES PRINCIPALES METHODES DE LUTTE.-----	10
2.3.1. La lutte culturale -----	11
2.2.3. La lutte biologique -----	11
2.2.4. La lutte chimique-----	11
2.2.5. La lutte intégrée -----	12

CHAPITRE 3 : LA RESISTANCE DES INSECTES ET ALTERNATIVE A

L'UTILISATION DES PESTICIDES CHIMIQUES. -----	13
INTRODUCTION-----	13
3.1. PHENOMENE DE RESISTANCE AUX INSECTICIDES CHIMIQUES. -----	13
3.1.1. Notion de résistance -----	13
3.1.2. Mécanismes de résistance-----	14
3.1.3. Les résistances croisées, multiples et multipliées -----	15
3.1.4. Résistance aux insecticides chimiques. -----	15
3.2. FACTEURS DE DEVELOPPEMENT DES PHENOMENES DE RESISTANCE. -----	16
3.2.1. La sélection par les insecticides. -----	16
3.2.2. La base génétique -----	17
3.2.3. Les facteurs écologiques -----	17
3.3. IMPACTS DE L'USAGE DES INSECTICIDES CHIMIQUES -----	17
3.3.1. Les organismes non cibles -----	17
3.3.2. Les problèmes de résidus -----	18
3.4 ALTERNATIVE A L'UTILISATION DES PESTICIDES CHIMIQUES. -----	18
3.4.1. Les pesticides bactériens <i>Bacillus thuringiensis</i> -----	18
3.4.2. Le cotonnier transgénique <i>Bt</i> -----	19
3.4.3. Problème de résistance aux toxines de <i>Bacillus thuringiensis</i> . -----	19
3.4.4. La gestion de la résistance -----	20

CHAPITRE 4 : LA BACTÉRIE *BACILLUS THURINGIENSIS* (BERLINER) ET LES

DELTA-ENDOTOXINES. -----	21
4.1. LA BACTERIE <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> (BERLINER). -----	21
4.1.1. Description de la bactérie. -----	21
4.1.2. Cycle de vie de <i>Bacillus thuringiensis</i> . -----	22
4.2. LES DELTA-ENDOTOXINES DE <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> -----	23
4.2.1. Classification -----	23
4.2.2. Structure des delta-endotoxines-----	24
4.2.3. Modes d'action des delta endotoxines-----	24

***DEUXIEME PARTIE : TESTS DE SENSIBILITES* ----- 26**

CHAPITRE 5 : ÉLEVAGE DE *HELICOVERPA ARMIGERA* ET TEST DE

SENSIBILITE A LA DELTAMETHRINE. -----	26
INTRODUCTION-----	26
5.1. ÉLEVAGE DE L'INSECTE. -----	26
5.1.1. La récolte des souches soumises à l'élevage.-----	26
5.1.2. Les conditions externes -----	27
5.1.3. La conduite de l'élevage. -----	27

5.1.3.1. Les adultes -----	27
5.1.3.2. Éclosion des oeufs -----	28
5.1.3.3. Les larves -----	28
5.1.3.4. La nymphe -----	28
5.1.4. Méthode de désinfection des oeufs. -----	28
5.1.5. Méthode de désinfection des chrysalides. -----	29
5.1.6. Difficultés de l'élevage de masse -----	29
5.2. TEST DE SENSIBILITÉ DE <i>H. ARMIGERA</i> A LA DELTAMETHRINE. -----	29
5.2.1. Matériel. -----	29
5.2.1.1. Matériel biologique -----	29
5.2.1.2. Matériel technique. -----	30
5.2.2. Méthodes. -----	30
5.2.2.1. Préparation des solutions insecticides -----	30
5.2.2.2 Pesée des larves. -----	31
5.2.2.3 Constitution des lots expérimentaux de larves. -----	31
5.2.2.4 Traitement insecticide avec le micro-applicateur Arnold. -----	32
5.2.2.5 Mise en observation et comptage de mortalité. -----	32
5.2.2.6 Analyse statistique. -----	32
5.3. RESULTATS -----	33
5.4. DISCUSSION -----	35
CONCLUSION PARTIELLE -----	36

CHAPITRE 6 : ETUDE DE L'EFFICACITÉ BIOLOGIQUE DE DEUX DELTA-ENDOTOXINES (Cry1Ac et Cry2Ab) SUR LES SOUCHES LOCALES DE *H.*

<i>ARMIGERA</i> (HUBNER). -----	37
INTRODUCTION -----	37
6.1. MATERIEL ET MÉTHODES. -----	37
6.1.1. Matériel. -----	37
6.1.1.1. Matériel biologique; -----	37
6.1.1.2. Matériel technique. -----	37
6.1.2. Méthodes -----	38
6.1.2.1. Préparation des solutions toxiques -----	38
6.1.2.2. Constitution des lots expérimentaux de larves -----	39
6.1.2.3. Méthode de traitement -----	39
6.1.2.4. Lecture et comptage de mortalité. -----	39
6.1.2.5. Analyse statistique -----	40
6.2. RESULTATS -----	40
6.3. DISCUSSION -----	43
CONCLUSION PARTIELLE -----	45

TROISIEME PARTIE : TEST DE DEMONSTRATION ----- 46

CHAPITRE 7 : ETUDE DE L'EFFICACITE BIOLOGIQUE DU COTONNIER	
BOLLGARD II SUR LES POPULATIONS DE LEPIDOPTERES EN MILIEU REEL	
AU BURKINA FASO. -----	46
INTRODUCTION -----	46

7.1. MATERIELS ET METHODES-----	46
7.1.1 La zone d'étude.-----	46
7.1.2 Matériels-----	47
7.1.2.1 Matériel végétal.-----	47
7.1.2.2 Matériel animal.-----	47
7.1.3 Méthodologie.-----	47
7.1.3.1 Dispositif expérimental-----	47
7.1.3.2 Itinéraire technique.-----	48
7.1.3.3 Méthode d'échantillonnage des chenilles.-----	49
7.1.3.4 Evaluation du rendement.-----	49
7.1.3.5 Analyse statistique des données.-----	49
7.2. RESULTATS-----	50
7.2.1 Nombre de chenilles carpophages et phyllophages.-----	50
7.2.1.1 Zone SOFITEX-----	50
7.2.1.2 Zone SOCOMA-----	51
7.2.1.3 Zone FASO COTON.-----	53
7.2.2 Rendement en coton graine-----	55
7.2.2.1 Zone SOFITEX-----	55
7.2.2.2 Zone SOCOMA-----	55
7.2.2.3 Zone FASO COTON.-----	56
7.3. DISCUSSION-----	57
CONCLUSION PARTIELLE-----	59
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES-----	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES-----	62
<i>ANNEXES-----</i>	<i>69</i>
<i>ANNEXE 1 : NOUVELLE CLASSIFICATION DE CERTAINES DELTA-ENDOTOXINES DE BACILLUS THURINGIENSIS.-----</i>	<i>69</i>
<i>ANNEXE 2 : COMPOSITION ET PREPARATION DU MILIEU NUTRITIF-----</i>	<i>70</i>
<i>ANNEXE 3 : PREPARATION DES SOLUTIONS DE DESINFECTION DES CEUFS-----</i>	<i>71</i>

DEDICACE

*A mon père, feu Boureima BALBONE,
Décédé le Vendredi 23 Novembre 2007,
Je dédie le présent mémoire.*

REMERCIEMENTS

Le présent mémoire est le fruit d'un travail mené au Programme Coton de l'IN.E.R.A. Cette étude a été réalisée grâce au soutien d'innombrables personnes à qui je ne peux manquer d'exprimer mes sincères reconnaissances. Ainsi, j'adresse mes remerciements à :

- **Docteur Ouola TRAORE**, chef du Programme Coton pour m'avoir accepté dans le laboratoire d'Entomologie ;
- **Monsieur Omer S. A. HEMA**, mon maître de stage qui malgré ses nombreuses occupations de recherche, m'a suivi et apporté ses conseils tout au long de notre stage ;
- **Monsieur Begue DAO**, mon Directeur de mémoire pour son encadrement. Je lui témoigne toute ma reconnaissance.
- Chercheurs dudit Programme en particulier, **messieurs Hugues SOME** et **Denys SANFO**, pour la documentation et leurs conseils.
- Tout le personnel du Programme Coton particulièrement **messieurs Blaise K. ZAGRE**, **Moumouni YE** et **Sanou HANDE** pour leur collaboration à la réalisation de nos travaux au sein du laboratoire d'Entomologie ;
- Tout le corps professoral de l'I.D.R pour sa rigueur tout au long de notre formation ;
- Mon oncle, **Hamidou KINRE** et son épouse pour leur soutien moral et matériel pendant la réalisation du mémoire ;
- Mon grand frère, **Issouf BALBONE** pour son soutien matériel et moral tout au long de mes études ;
- Toute ma famille, en particulier ma mère, **Awa KERE** pour ses bénédictions, encouragements et soutiens innombrables tout au long de mes études. Je leur témoigne mes sincères reconnaissances ;
- La famille **SANOGO**, pour ses encouragements et soutien moral. Je leur témoigne toutes mes sincères reconnaissances ;
- Tous les amis de la classe I.D.R 3 en particulier **Modibo OUEDRAOGO**, **Béteo ZONGO**, **Wiémé SOME**, **Mathieu SAWADOGO**, **Aristide SIMPORE** pour leur soutien moral.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

BGII	:	Transgène du Bollgard II
Bt	:	<i>Bacillus thuringiensis</i>
BK77	:	Souche sensible de référence de <i>H. armigera</i> récoltée à Bouaké en 1977 et maintenue en élevage à Montpellier à des fins de tests
B.V.	:	Bas Volume.
C.I.R.A.D.	:	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
C.I.R.D.E.S.	:	Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en Zones Subhumides
CL50	:	Concentration létale pour 50% de la population testée
Cry	:	Crystal
Cyt	:	Protéine de petite taille synthétisée par <i>B. thuringiensis</i> ayant une action cytolytique non spécifique
DAT08	:	Souche de <i>Helicoverpa armigera</i> récoltée à Datomo en 2008.
ddl	:	Degré de liberté
D.D.T.	:	Dichloro-Diphényl-Trichloréthane
DAT04	:	Souche de <i>H. armigera</i> récoltée à Datomo en 2004
DL50	:	Dose létale pour 50% de la population testée
I.G.R.	:	Insect Growth Regulator
IN.E.R.A.	:	Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles
Kda	:	Kilodalton
Kdr	:	Knock down resistance.
KOM08	:	Souche de <i>Helicoverpa armigera</i> récoltée à Kompienga en 2008.
P.B.S.	:	Phosphate-Buffered Saline
P.I.B.	:	Produit Intérieur Brut
T.B.V.	:	Très Bas Volume.
U.V.	:	Ultra-violet
U.P.B.	:	Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso.
V.I.P.	:	Vegetative Insecticidal Protein

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: DL50 de la deltaméthrine dans le monde. -----	16
Tableau II: Classification des delta-endotoxines de <i>B. thuringiensis</i> . -----	23
Tableau III: Valeurs des DL50 de la deltaméthrine obtenues sur les souches BK77, DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008. -----	34
Tableau IV: Analyse de la déviance des droites de régression dose-mortalité de la deltaméthrine utilisée sur les souches DAT08 et KOM08.-----	35
Tableau V: Concentrations retenues pour les tests de sensibilité de <i>H. armigera</i> . -----	39
Tableau VI: CL50 des toxines Cry1Ac et Cry2Ab obtenues sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008. -----	40
Tableau VII: Analyse de la déviance des droites de régression dose-mortalité du Cry2Ab utilisée sur les souches DAT08 et KOM08. -----	42
Tableau VIII: Analyse de la déviance des droites de régression dose-mortalité du Cry1Ac utilisée sur les souches DAT08 et KOM08. -----	43
Tableau IX: Réalisation des traitements insecticides selon le programme vulgarisé. -----	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle biologique de <i>Helicoverpa armigera</i> .-----	8
Figure 2: Cycle biologique de <i>Bacillus thuringiensis</i> . -----	22
Figure 3: Mode d'action des Delta-endotoxines de <i>Bacillus thuringiensis</i> . -----	25
Figure 4: Localisation des sites de récolte de <i>H. armigera</i> utilisée dans les bio-tests. -----	27
Figure 5: Comparaison des droites de régression dose-mortalité de la deltaméthrine sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.-----	34
Figure 6: Comparaison des droites de régression dose-mortalité du Cry2Ab sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.-----	41
Figure 7: Comparaison des droites de régression dose-mortalité du Cry1Ac sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.	42
Figure 8: Dispositif expérimental du test Bollgard II en milieu réel.-----	48
Figure 9: Nombre de chenilles carpophages par hectare en zone Sofitex. sur coton BGII et coton conventionnel. -----	50
Figure 10: Nombre de chenilles phyllophages par hectare en zone Sofitex sur coton BGII et coton conventionnel. -----	51
Figure 11: Nombre de chenilles carpophages par hectare en zone Socoma sur coton BGII et coton conventionnel. -----	52
Figure 12: Nombre de chenille phyllophages par hectare en zone Socoma sur coton BGII et coton conventionnel. -----	53
Figure 13: Nombre de chenilles carpophages par hectare en zone Faso coton sur coton BGII et coton conventionnel. -----	54
Figure 14: Nombre de chenilles phyllophages par hectare en zone Faso coton sur coton BGII et coton conventionnel. -----	54
Figure 15: Rendement en kg/ha en zone Sofitex sur coton BGII et coton conventionnel.-----	55
Figure 16: Rendement en kg/ha en zone Socoma sur coton BGII et coton conventionnel.----	56
Figure 17: Rendement en kg/ha en zone Faso coton sur coton BGII et coton conventionnel.	57

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 :	<i>Helicoverpa armigera</i>	7
Photo 2 :	<i>Bacillus thuringiensis</i>	21
Photo 3 :	Structure tridimensionnelle des delta-endotoxines.....	24
Photo 4 :	Boîtes plastique à logettes au laboratoire du Programme Coton (Burkina Faso) en 2008.....	30
Photo 5 :	Micro applicateur Arnold au laboratoire du Programme Coton (Burkina Faso) en 2008.....	30
Photo 6 :	Pinces et pinceaux au laboratoire du Programme Coton (Burkina Faso) en 2008.....	33
Photo 7 :	Mortalité observée après 48 heures au laboratoire du Programme Coton (Burkina Faso) en 2008.....	33
Photo 8 :	Pipettes automatiques au laboratoire du Programme Coton (Burkina Faso) en 2008.....	38
Photo 9 :	Verrerie de laboratoire au laboratoire du Programme Coton (Burkina Faso) en 2008.....	38
Photo 10 :	Différence entre larve morte et larve vivante au laboratoire du Programme Coton (Burkina Faso) en 2008.....	40

RESUME

Helicoverpa armigera (Hübner, 1808) est le principal ravageur du cotonnier en Afrique de l'ouest et cause, avec d'autres ravageurs, d'importantes pertes de rendements en coton graine. L'évaluation du niveau de résistance de deux souches de terrain de ce ravageur vis-à-vis de la deltaméthrine a donné des coefficients de résistance par rapport à la souche sensible BK77 de 44,64 et 34,82 respectivement pour celles de Datomo et de Kompienga. Vis-à-vis des delta-endotoxines Cry1Ac et Cry2Ab, ces souches de terrain présentent le même niveau de sensibilité que la souche sensible de référence. Cette efficacité de ces toxines issues de *Bacillus thuringiensis* s'est confirmée en milieu réel avec le bon contrôle de la plupart des lépidoptères ravageurs du cotonnier à l'exception de *Spodoptera littoralis* qui semble peu sensible à ces toxines.

Mots clés : Résistance, Lépidoptères, deltaméthrine, delta-endotoxines, cotonnier transgénique.

ABSTRACT

Helicoverpa armigera (Hübner, 1808) is the main cotton pest in western Africa and causes, with other pests, important damages cotton fields. The evaluation of the resistance level to deltamethrin of two field strains gave resistance coefficients, compared to the sensitive strain BK77, of 44,64 and 34,82 respectively for those of Datomo and Kompienga. Towards delta-endotoxins Cry 1Ac and Cry 2Ab, these field strains present the same level of sensibility then BK77. Efficacy of these *Bacillus thuringiensis* toxins was confirmed in real environment with the good control of the main Lepidopteran pests on cotton except *Spodoptera littoralis*, which seems to be less sensitive.

Key words: Resistance, Lepidoptera, deltamethrin, delta-endotoxins, transgenic cotton

INTRODUCTION GENERALE

Au Burkina-Faso, la culture du coton est la principale culture de rente. Elle constitue une importante source de revenu monétaire pour les paysans et de devise pour le pays. Cette culture occupe une place de choix dans l'économie du Burkina Faso. En effet le secteur coton génère près de 50 à 60% des recettes d'exportation et contribue pour environ 50% à la formation du Produit Intérieur Brut (VOGNAN *et al.*, 2002). L'économie du pays repose sur l'agriculture et parmi les spéculations agricoles, le coton demeure la principale génératrice de devises. La culture du coton s'est imposée dans le temps comme une composante essentielle de l'économie nationale.

Cependant la culture cotonnière est confrontée à une forte pression des ravageurs qui limite fortement son rendement et la qualité de la fibre. Les populations de ravageurs sont constituées d'une centaine d'arthropodes (AHMAD *et al.*, 1997 ; KRANTHI *et al.*, 2001) parmi lesquels on note plusieurs Lépidoptères dont *H. armigera* de la famille des *Noctuidae*. Cette noctuelle est un insecte polyphage et vorace attaquant les organes fructifères et causant une grande partie des dégâts (GUINNING *et al.*, 1996). *H. armigera*, pendant la campagne agricole 1996/1997, a occasionné des pertes estimées à 300 millions de dollars en Inde et 35 millions de dollars en Australie (KRANTHI *et al.*, 2002). Selon NIBOUCHE (1994), au Burkina-Faso, les infestations de ce ravageur en 1991 ont causé des pertes de récolte d'environ 50 000 tonnes de coton graine, correspondant à plus de 10 millions de dollars.

Cette forte pression de ravageurs rend la culture cotonnière très dépendante à l'usage des insecticides et ceci dans l'optique de minimiser leurs incidences très néfastes. En effet, 30% du marché mondial des insecticides chimiques sont consacrés à la culture cotonnière (URAICHUEN, 2002). En Inde, 50% des pesticides sont utilisés en culture cotonnière et 75% de ces produits chimiques visent *H. armigera* (KRANTHI *et al.*, 2002).

De nos jours, malgré ces multiples traitements, les pullulations de ces ravageurs demeurent importantes. Les insecticides n'assurent plus une protection efficace et durable du cotonnier ; leur utilisation abusive dans les exploitations cotonnières ayant provoqué l'apparition de la résistance chez la noctuelle (Mc CAFFERY et AHMAD, 1988). Des cas de résistance aux insecticides sont signalés un peu partout dans le monde : en Australie (GUINNING *et al.*, 1996) ; en Thaïlande (AHMAD *et al.*, 1988), au Burkina-Faso (TRAORE *et al.*, 1997).

Ainsi, le désir de limiter les échecs de traitements répétés au champ et l'idée de réduire l'usage des pesticides chimiques ont conduit à la mise au point du cotonnier génétiquement modifié

par les procédés de biotechnologies modernes. Un cotonnier transgénique *Bt* synthétisant les toxines Cry1Ac et Cry2Ab toxiques contre les larves de Lépidoptères au cours de son cycle de développement, a été mis au point.

Pour prévenir une éventuelle sélection d'individus résistants aux toxines Cry1Ac et Cry2Ab, des tests de sensibilités des souches locales de *H. armigera* sont effectués. Actuellement, aucune résistance n'a été observée sur le terrain chez *H. armigera* (MAHON *et al.*, 2004), mais dans les pays producteurs du coton transgénique, des précautions sont prises pour une éventuelle gestion de la résistance de ces ravageurs aux toxines synthétisées.

Cette nouvelle technologie est en expérimentation au Burkina Faso où il n'existe pas encore assez de données sur le niveau de sensibilité des souches locales de *H. armigera* aux toxines Cry1Ac et Cry2Ab.

C'est dans ce cadre que la présente étude intitulée «*Évaluation de la toxicité de deux delta-endotoxines (Cry1Ac et Cry2Ab) de Bacillus thuringiensis (Berliner) sur les populations de Helicoverpa armigera (Hübner) au laboratoire et de l'efficacité biologique du cotonnier transgénique Bollgard II sur les lépidoptères en milieu réel au Burkina Faso*» a été initiée.

Elle poursuit les objectifs suivants :

- évaluer l'efficacité biologique des toxines Cry1Ac et Cry2Ab sur les souches de *H. armigera* au laboratoire.
- évaluer la toxicité du cotonnier transgénique Bollgard II sur les populations de *H. armigera* en milieu réel.

Le présent mémoire qui rend compte des résultats de l'étude comprend trois (03) parties :

- la première porte sur les généralités concernant le cotonnier et ses ravageurs, la protection phytosanitaire du cotonnier, la résistance des insectes et alternative à l'utilisation des pesticides chimiques, la bactérie *B. thuringiensis* et les delta-endotoxines ;
- la deuxième présente les tests de sensibilités de *H. armigera* à la deltaméthrine et aux différentes toxines Cry1Ac et Cry2Ab ;
- la troisième porte sur les tests de démonstration conduits en milieu réel chez les producteurs de coton dans les trois sociétés cotonnières (SOFITEX, FASO COTON et SOCOMA).

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

CHAPITRE 1: LE COTONNIER ET SES RAVAGEURS

1.1. LE COTONNIER.

1.1.1. Botanique

Le cotonnier est une dicotylédone appartenant à la famille des Malvaceae, à la tribu des Hibisceae et au genre *Gossypium* (CALAN, 1966).

Quatre (4) espèces, caractérisées par la présence sur les graines de poils cellulosiques utilisées par l'industrie chimique, constituent le groupe des cotonniers cultivés (FRYXELL, 1984).

- deux (2) espèces diploïdes : *Gossypium herbaceum* et *G. arboreum*,

- deux (2) espèces tétraploïdes : *G. hirsutum* et *G. barbadense*.

L'espèce *G. hirsutum* est celle qui est cultivée au Burkina-Faso (PARRY, 1982).

1.1.2. Morphologie du cotonnier.

Le cotonnier est une plante arbustive recouverte souvent de poils et ayant une racine pivotante, une tige principale portant des branches végétatives et fructifères (FRYXELL, 1984). Les fruits sont des capsules rondes ou ovoïdes, composées de 4 à 5 loges, contenant chacune 5 à 12 graines. Les graines sont recouvertes de poils dont le plus long est appelé fibre. Les poils courts forment une sorte de duvet appelé linter.

1.1.3. Cycle biologique.

Le cotonnier est une plante pérenne qui s'est adaptée aux conditions d'une culture annuelle (CALAN, 1966). Le cycle biologique du cotonnier comprend 4 phases (PARRY, 1982).

- Le stade de la levée qui va du semis à l'étalement des cotylédons, dure 6 à 10 jours en conditions normales.

- Le stade végétatif s'étalant de la plantule à l'ouverture de la première fleur marquée par un développement rapide du système racinaire, l'apparition des monopodes et des branches fructifères. Ce stade a une durée d'environ 40 à 60 jours.

- Le stade reproducteur, qui va de la floraison à la fin du développement végétatif est surtout marqué par la fécondation.
- Le stade de maturation allant de l'arrêt du développement végétatif à la fin de l'ouverture des capsules.

1.1.4. Séquence parasitaire du cotonnier.

Au cours de son cycle biologique, le cotonnier est colonisé par une diversité de parasites occasionnant des pertes non négligeables dans les cultures cotonnières (CAUQUIL, 2000).

- Au stade de la levée, les plantules du cotonnier sont attaquées par des iules et altises au niveau du sol.
- Au cours du stade végétatif, de nombreux ravageurs attaquent le cotonnier. A ce stade, il est principalement attaqué par les altises, les Homoptères (Jassides, pucerons, aleurodes), les Lépidoptères (chenilles phyllophages), les Hétéroptères.
- Au stade de reproduction, le cotonnier est infesté par une multitude de ravageurs tels que les Homoptères, les Hétéroptères, les Acariens et surtout les Lépidoptères qui causent des dommages considérables, notamment sur les organes reproducteurs.
- Au stade de maturation, il y a une réduction du parasitisme mais cependant marqué par la présence surtout des Homoptères et des Lépidoptères (chenilles de capsule, à régime endocarpique) qui attaquent les capsules.

1.2 LES PRINCIPAUX RAVAGEURS DU COTONNIER.

De nombreux ravageurs attaquent le cotonnier tout au long de son cycle occasionnant des dommages en terme de rendement et de la qualité de la fibre.

En fonction de leur régime alimentaire, les ravageurs du cotonnier sont classés en 5 groupes (VAISSAYRE et CAUQUIL, 2004) :

- **Les carpophages:** ce sont des insectes de l'ordre des Lépidoptères dont les larves attaquent les boutons floraux, les fleurs et les capsules. Ils causent souvent la chute des capsules et sont très nuisibles car peuvent anéantir la récolte en l'absence de traitement.

Dans ce groupe on distingue deux (2) types de comportements :

- Les chenilles à régime exocarpique qui s'attaquent aux pièces florales à partir de l'extérieur. Ce sont, *H. armigera*, *Diparopsis watersi*, *Earias biplaga* et *E. insulana*. Ces chenilles et leurs dégâts sont facilement repérables.

- Les chenilles à régime endocarpique qui perfore la capsule pour s'y introduire et pour l'évider par la suite. Dans ce cas, les chenilles et leurs dégâts sont difficilement repérables. En effet, il est nécessaire de prélever les échantillons de capsules vertes et d'y rechercher ces ravageurs. Ce sont *Pectinophora gossypiella*, *Cryptophlebia leucotreta*.

- **Les phyllophages** : ce sont des insectes de l'ordre des Lépidoptères dont les larves attaquent le système foliaire. Leurs dégâts sont facilement repérables et sont souvent spectaculaires quand ils se produisent en début de cycle. Ils sont représentés essentiellement par *Spodoptera littoralis* (Boisduval), *Syllepte derogata* (Fabricius) et *Anomis flava* (Fabricius).

- **Les piqueurs suceurs** : ce sont des insectes de l'ordre des Homoptères dont les dégâts sont causés par les larves et les adultes de *Aphis gossypii* (Glover), *Bemisia tabaci* (Gennadius) et *Jacobiella sp.*

Ces piqueurs suceurs sont aussi des vecteurs de certaines maladies du cotonnier (CAUQUIL, 1986).

- **Les Hétéroptères piqueurs de capsules** : regroupent *Dysdercus volkeri* (Schemidt), *Nezara sp.*

- **Les Acariens** : ce groupe admet pour espèces courantes *Polyphagotarsonemus latus* causant généralement une déformation des organes. Les dégâts sont occasionnés par les larves et les adultes.

De tous ces ravageurs, *H. armigera* est le plus nuisible en Afrique, en Asie et en Océanie (CARON, 1991).

1.3 LE RAVAGEUR, *HELI COVERPA ARMIGERA*.

1.3.1. Systématique

C'est un ravageur appartenant à l'embranchement des Arthropodes, à la classe des Insectes, à l'ordre des Lépidoptères, à la famille des Noctuidae et à la sous-famille des *Heliothinae* (KING, 1994).

Fabricius a réalisé la première description de l'insecte, en 1794 sous le nom de *Noctua barbara*; ensuite la noctuelle fut désignée successivement sous les noms de *Noctua armigera*, *Heliothis armigera* et *Helicoverpa armigera* (NIBOUCHE, 1999).

1.3.2. Description morphologique

1.3.2.1. Les adultes

Il s'agit des papillons de nuit de 30 à 40 mm d'envergure. Chez ces papillons, il n'existe pas de différence de taille entre les deux sexes, le dimorphisme sexuel étant basé essentiellement sur la couleur : le mâle est gris-vert tandis que la femelle est brun-orangé (NIBOUCHE, 1994) et ils se nourrissent de nectar (photo 1-A).

1.3.2.2. Les œufs

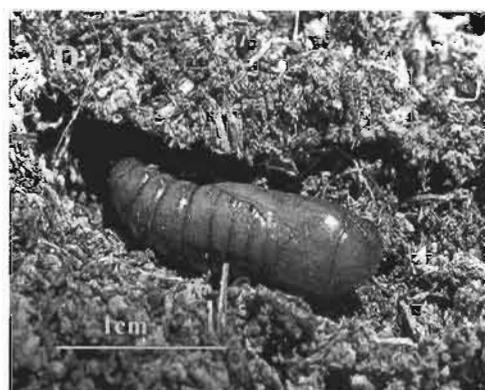
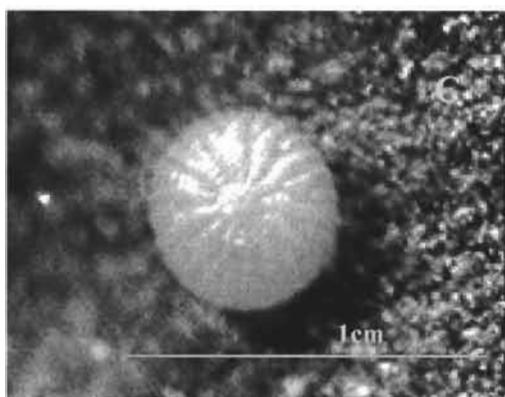
De couleur blanchâtre à la ponte, ils virent au brun avant l'éclosion (TOGUEBAYE et COUILLOUD, 1982). Le diamètre des oeufs est de 0,4 à 0,5 mm. Ils sont subsphériques avec une surface parcourue par plusieurs cotes verticales aboutissant à une sorte de couronne au sommet. Les femelles pondent des oeufs sur la partie supérieure des feuilles et chacune d'elles peut en déposer plus de 1000 œufs (photo 1-C).

1.3.2.3. Les larves

La couleur des larves de 1^{er} et 2^{ème} stade est grisâtre puis jaunâtre, avec une capsule céphalique de couleur brun noir à brun foncé. Sur les flancs on observe une large bande blanchâtre (TOGUEBAYE et COUILLOUD, 1982) (photo 1-B). La capsule céphalique prend une coloration orangée à partir du 3^{ème} stade larvaire. La chenille atteint sa taille maximale qui oscille entre 35 à 40 mm de long. Elle cesse de s'alimenter et cherche à s'enterrer pour donner la nymphe ou chrysalide.

1.3.2.4. Les chrysalides

De couleur marron, elles mesurent environ 15 mm de longueur (DELATTRE, 1973 cité par DRABO, 2005). Ce stade s'effectue dans le sol pendant 12 à 14 jours. En l'absence de cocon, les chrysalides sont dans le sol à l'intérieur d'une loge nymphale (photo 1-D). A ce stade on peut déterminer le sexe de l'insecte en examinant la face ventrale des derniers segments abdominaux à la loupe (NIBOUCHE, 1999).



Source: <http://www.leps.it/images/Noctuidae> consulté le 25/10/2007.

Photo 1: *Helicoverpa armigera*.

- (A). Adulte: femelle (à gauche), mâle (à droite).
- (B). Larve sur capsule de cotonnier
- (C). Œuf
- (D). Chrysalide



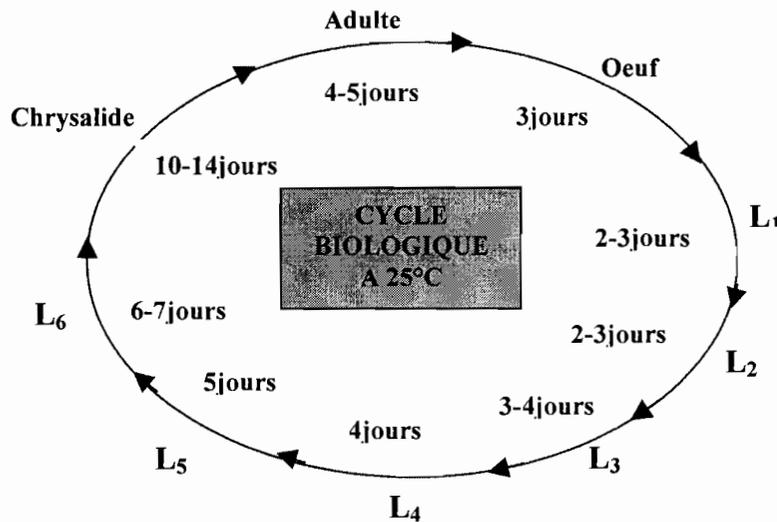
1.3.2.5. Cycle biologique

La durée du cycle d'*Helicoverpa armigera* est fonction de la température (ULRICH, 2002). Elle est d'environ 40 jours à 25°C et à 70% d'humidité relative (CASTELLA, 1996) (figure 1).

En zone tropicale, quand le régime des pluies permet la présence permanente des plante-hôtes cultivées ou spontanées, l'activité de la noctuelle est continue (KING, 1994). En régions tempérées, *H. armigera* hiverne à l'état de chrysalide, enfoui dans le sol à plusieurs centimètres de profondeur; cela réduit le nombre de génération à deux ou trois par an dans ces régions.

Les larves passent par cinq ou six stades de développement avant de s'enfouir dans le sol pour nymphoser ; ce stade larvaire dure environ 25 jours. L'émergence des papillons intervient 10 à 14 jours plus tard (PARRY, 1982).

Le développement peut être bloqué en plaçant les larves du stade pré-nymphal à une température de 15°C (GIRET et COUILLOUD, 1982).



Source : URAICHUEN (2002)

Figure 1: Cycle biologique de *Helicoverpa armigera*.

1.3.2.6. Les plante-hôtes.

La noctuelle, *H. armigera* est un insecte très polyphage attaquant plus de 200 espèces végétales appartenant à une cinquantaine de familles (NIBOUCHE, 1999). Ces plantes-hôtes sont des plantes cultivées y compris le cotonnier et les plantes potagères telles que la tomate, les légumineuses, les cucurbitacées. Elle constitue l'un des principaux ennemis du cotonnier, ses dégâts sont aussi importants sur les autres plantes-hôtes (KRANTHI et RUSSEL, 2004).

Au niveau du cotonnier, l'insecte attaque les boutons floraux, et aussi les capitules des fleurs, les capsules, mais rarement les feuilles (BUES et *al.*, 2004).

CHAPITRE 2 : PROTECTION PHYTOSANITAIRE DU COTONNIER CONTRE LES RAVAGEURS.

INTRODUCTION

Le cotonnier est une plante sensible aux ravageurs et aux pathologies. L'importance économique de cette plante fait de celle-ci l'une des plus protégées contre les ravageurs et maladies. La protection phytosanitaire du cotonnier est essentiellement basée sur l'utilisation des produits chimiques appartenant à plusieurs familles d'insecticides (GUINNING *et al.*, 1999 ; BEYO *et al.*, 2002).

2.1 LES PRINCIPALES FAMILLES D'INSECTICIDES

2.1.1. Les organochlorés

Ils ont été introduits en 1945 (PINCHARD, 1993) et constituent la première génération. Ils étaient bien appréciés pour leur efficacité contre les ravageurs, mais reconnus pour leur toxicité plus acerbe et néfaste. En effet, ces organochlorés contiennent du chlore dans leur composition et se caractérisent pour une forte rémanence et une toxicité élevée pour l'homme (CASTELLA, 1996).

L'endosulfan et le DDT appartiennent à ce groupe d'insecticides.

2.1.2. Les organophosphorés et les carbamates

Ce groupe d'insecticides est au service de l'agriculture aux environ de 1960. Ils sont relativement peu rémanents mais très toxiques avec un large spectre d'action. Ils sont spécifiques aux piqueurs-suceurs et aux broyeurs (RODRIGUEZ *et al.*, 1993).

2.1.3. Les pyréthrinoïdes

Ce groupe d'insecticides a été synthétisé à l'image du pyréthrum naturel (PINCHARD, 1993). Très sélectifs, ils demeurent la famille de pesticides les plus utilisées dans le contrôle des ravageurs en agriculture. Sur le plan moléculaire, les pyréthrinoïdes sont neurotoxiques, ils peuvent interagir avec le canal sodium qui est leur cible principale (EYANATI *et al.*, 2001 cité par DRABO, 2005).

La deltaméthrine appartenant à cette famille d'insecticide est la plus connue actuellement et aussi la plus utilisée dans la culture cotonnière et légumière. Elle agit par contact et par ingestion.

2.1.4. Les autres familles d'insecticides

Ce sont les plus récentes, parmi lesquelles on peut citer ;

- Les Néonicotinoïdes :

Ce sont des insecticides qui agissent par contact et par ingestion sur les Homoptères et les Coléoptères. Leur action nocive est très réduite sur les ennemis naturels. Cette famille regroupe l'imidacloprid, l'acétamiprid et le thiamethoxam.

- Les Naturalites :

Insecticides neurotoxiques, agissent également par ingestion et par contact. Ils sont très efficaces vis-à-vis des Lépidoptères et ont un effet négligeable sur les piqueurs-suceurs et les mammifères. Cette famille regroupe la spinosad et l'indoxacarb.

- Les I.G.R. (Insect Growth Regulators) ou régulateurs de croissance :

Il s'agit des régulateurs de croissance des insectes. Ils regroupent des insecticides à divers sites d'action. Ce sont : le pyriproxyfen, le benzoyl-phenyl-urée, le buprofezin, le fenoxycarb, l'halofenozide.

2.2. MODE D'ACTION DES INSECTICIDES

Selon ALAUX (1994), un insecticide agit sur un insecte de la façon suivante :

- l'absorption par diverses voies (cutanée, orale, respiratoire), la pénétration et la distribution du produit à l'intérieur des cellules ;
- la métabolisation qui transforme l'insecticide liposoluble en molécule hydrosoluble ;
- l'action du produit sur la cible qui est généralement le système nerveux et la membrane axonique pour les organochlorés et les pyréthrinoïdes, les synapses pour les organophosphorés et les carbamates.

2.3 LES PRINCIPALES METHODES DE LUTTE.

De nombreuses méthodes de lutte ont été élaborées dans l'optique d'assurer une meilleure protection phytosanitaire des cultures. Ces différentes méthodes prennent en compte deux facteurs très importants à savoir l'aspect économique et l'efficacité.

2.3.1. La lutte culturale

Une bonne maîtrise des techniques culturales est favorisée par une meilleure connaissance de la biologie et la physiologie des ravageurs.

Cette méthode consiste à :

- Rompre le cycle de reproduction des ravageurs tels que les lépidoptères au stade nymphale (chrysalide) à travers le labour,
- Favoriser l'action des auxiliaires naturels en évitant leur élimination par les traitements chimiques du cotonnier avec les produits insecticides à large spectre d'action.
- Utiliser des variétés résistantes aux ravageurs lépidoptères par l'utilisation de la variété Bollgard synthétisant des delta-endotoxines de *B. thuringiensis*.

2.2.3. La lutte biologique

Cette méthode se définit comme étant l'utilisation d'organismes vivant ou de leur produit pour combattre les insectes nuisibles.

Les agents utilisés dans cette méthode de lutte sont les entomophages (prédateurs et parasitoïdes) et les entomopathogènes (virus, bactérie, champignon).

Dans la lutte biologique utilisant les entomopathogènes, la poudre insecticide à base des toxines de la bactérie *B. thuringiensis* est utilisée en culture cotonnière contre les ravageurs lépidoptères depuis longtemps aux Etat-Unis.

De nos jours, le cotonnier assure sa protection contre les lépidoptères en synthétisant les delta-endotoxines grâce à l'insertion de gènes de *B. thuringiensis*.

2.2.4. La lutte chimique

C'est une méthode de lutte qui utilise des pesticides, substances toxiques contre les insectes mais inoffensives pour les cultures. La culture cotonnière utilise une large gamme de produits chimiques (les organochlorés, les organophosphorés, les pyréthriinoïdes) pour assurer sa protection phytosanitaire.

La lutte chimique du cotonnier est foudroyante et immédiate mais elle favorise l'apparition des phénomènes de résistances et affecte l'environnement (pollution de l'air, de l'eau), la santé humaine, animale et la population des ennemis naturels. En effet, les programmes de protection classique développés sur le cotonnier dans la sous région comptaient quatre (4) à cinq (5) traitements, espacés de 14 jours à partir de 45 à 50 jours après la levée du cotonnier (HEMA, 2004). Ces programmes mis en place ne permettent plus de nos jours la maîtrise des

populations de ces insectes ravageurs, surtout celles de *H. armigera* devenues de plus en plus résistantes aux pyréthrinoïdes.

2.2.5. La lutte intégrée

Elle est l'association compatible et économique de plusieurs méthodes de lutte en vue d'assurer une protection efficace des cultures cotonnières contre les ravageurs. En effet, en culture cotonnière transgénique, deux traitements chimiques sont réalisés contre les ravageurs piqueurs suceurs en fin de cycle.

La lutte intégrée englobe toutes les cultures d'une région donnée. Elle cherche à respecter un équilibre écologique dans les meilleures conditions de productivités et à moindre coût.

CHAPITRE 3 : LA RESISTANCE DES INSECTES ET ALTERNATIVE A L'UTILISATION DES PESTICIDES CHIMIQUES.

INTRODUCTION

Le cotonnier est l'une des plantes les plus protégées contre les ravageurs et sa protection est essentiellement basée sur l'utilisation des pesticides chimiques (GUINNING *et al.*, 1999). Les pesticides utilisés pour lutter contre les ravageurs ne détruisent pas la totalité des populations ciblées. En effet, les insectes moins sensibles aux insecticides utilisés ou à la dose administrée survivent. L'élimination des survivants nécessite une concentration plus forte en insecticide. On atteint de ce fait parfois un stade où l'insecticide est totalement inefficace contre le ravageur : ce phénomène est connu sous le nom de « résistance ».

Il y'a une accélération de cette évolution, à la mesure de l'adaptation des espèces d'insectes aux nouveaux dangers. Ainsi, les souches résistantes proviennent d'une population initiale dont les génotypes les plus sensibles ont été éliminés à la suite des traitements insecticides (SAWICKI, 1979). La résistance se caractérise de ce fait par un changement génétique en réponse à une sélection provoquée par l'insecticide chimique.

Face à ces phénomènes, une des réponses aux problèmes de résistance aux insecticides chimiques réside dans le développement de variété transgénique produisant une toxine insecticide de la bactérie *B. thuringiensis*.

3.1. PHENOMENE DE RESISTANCE AUX INSECTICIDES CHIMIQUES.

3.1.1. Notion de résistance

On désigne sous le terme résistance, un phénomène d'origine génétique consistant en une diminution de la sensibilité d'une population d'insectes à un insecticide.

La résistance d'une souche ou race d'insectes vis-à-vis d'un insecticide correspond au développement d'une capacité à tolérer des doses toxiques qui seraient létales pour la majorité des individus d'une population normale de la même espèce (PINCHARD, 1993).

Selon GUILLET (1997), la résistance correspond à l'apparition dans une population de gènes «nouveaux» ou de surproduits provoquant une métabolisation accrue des insecticides ou une modification de leur cibles.

On parle de résistance lorsque quatre (4) critères sont vérifiés (STIMAMIGLIO et CHABERT, 2004) :

- le ravageur incriminé doit avoir été bien maîtrisé par l'insecticide dans le passé ;
- l'échec du produit ne doit pas être la conséquence d'un mauvais stockage ou d'une mauvaise application ;
- la perte d'efficacité du produit doit être établie ;
- il doit être montré que la sensibilité du ravageur envers le produit a été altérée.

Les plus grandes familles d'insecticides utilisées de nos jours en agriculture sont les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes.

L'utilisation répétée et importante de ces pesticides s'est traduite par la sélection d'individus résistants.

Les premiers phénomènes de résistance aux insecticides de synthèses apparaissent en 1947 (POIRIE et PASTEUR, 1991 cités par YARA, 1999). De nos jours, toutes les familles d'insecticides citées posent des problèmes de résistance chez les insectes.

3.1.2. Mécanismes de résistance

Plusieurs mécanismes de résistance ont été développés par les insectes en réponse à l'action nocive des insecticides (RUSSELL *et al.*, 2004 ; AHMAD, 2004) :

- La modification du comportement : à ce niveau, l'insecte devient résistant en évitant simplement les produits ;
- La réduction de la pénétration de l'insecticide dans l'organisme et l'excrétion accélérée des produits : Ce mécanisme empêche l'atteinte de la cible par les insecticides.
- La modification de la cible : dans ce cas, il y'a empêchement d'intégration de la substance active dans le processus de transfert de l'information nerveuse. Selon HECKEL *et al.*(1997) la modification du canal sodium est due à une mutation du gène Kdr (Knock down resistance).
- La métabolisation des produits dans l'organisme ou détoxification : cette métabolisation des produits altère la substance active et la rend inoffensive pour l'insecte. Les enzymes impliquées dans ces réactions sont des estérases, des mono-oxygénases et des glutathions-transférases. Si l'activité d'une de ces enzymes augmente, cela peut entraîner le développement d'une résistance (GUINNING *et al.*, 1999).

La modification du site d'action et la détoxification sont les deux mécanismes les plus importants de la résistance des insectes aux insecticides (TRAORE, 1997).

3.1.3. Les résistances croisées, multiples et multipliées

L'expression «résistance croisée» s'applique à la résistance d'une souche d'insectes à l'égard de composés autres que l'agent de sélection, en raison du même mécanisme biochimique.

Il y'a résistance multiple lorsque deux ou plusieurs mécanismes distincts sont en présence, chacun assurant la protection contre différents insecticides.

On parle de résistance multipliée lorsque deux ou plusieurs mécanismes coexistent à l'intérieur du même organisme et le protègent contre le même insecticide. Ce type de résistance provient généralement de l'usage simultané ou consécutif, de plusieurs insecticides dans des conditions de plein champ (KUMAR, 1991).

Lorsque l'on est déjà en présence d'une résistance aux organophosphorés, l'exposition à un organophosphoré de substitution peut causer l'accélération du développement de la résistance au nouveau produit. Cette sélection transmettra également de faible niveau de résistance croisée vis-à-vis de divers organophosphorés, en règle générale, une résistance forte ne se produira que pour le produit de sélection initiale et ses proches «parents».

3.1.4. Résistance aux insecticides chimiques.

Les cultures cotonnières ont pendant longtemps utilisé des substances chimiques dans l'optique d'assurer une protection contre les insectes ravageurs. En effet, la sélection progressive des insectes par les produits chimiques utilisés a occasionné l'apparition de la résistance au champ. Ainsi, les insecticides créent une pression de sélection qui concentre divers facteurs génétiques préexistants au sein des populations et leur confèrent alors la résistance (AHMAD *et al.*, 1997 ; KRANTHI *et al.*, 2002).

En 1947, les premiers phénomènes de résistance aux insecticides de synthèse apparaissent (POIRIE et PASTEUR, 1991 cité par YARA, 1999). La résistance de *H. armigera* aux différentes familles d'insecticides et principalement aux pyréthrinoïdes a été identifiée en Afrique, en Australie, en Asie et récemment en Europe (BUES *et al.*, 2004). On constate une nette différence entre les DL50 (dose létale pour 50% de la population testée) de la deltaméthrine obtenues par différents auteurs dans le monde. Les tests ayant été réalisés avec un protocole de test comparable. En effet, les DL 50 se situent entre 0,01µg/g en Espagne et 27,2µg/g en Inde (BUES *et al.*, 2004).

Le tableau I montre la comparaison des DL50 de la deltaméthrine obtenues par différents auteurs.

Tableau I: DL50 de la deltaméthrine dans le monde.

Auteurs	Origine	DL50 ($\mu\text{g/g}$ d'insecte)
BUES et BOUDINHON (2003)	France	0,23
MARTIN <i>et al.</i> (2003)	Afrique	0,416
TORRES-VILLA <i>et al.</i> (2003)	Espagne	0,01-1,32
KRANTHI <i>et al.</i> (1999, 2001, 2002)	Inde du Sud	27,2
GUINNING <i>et al.</i> (1999)	Australie	0,13
FORRESTER <i>et al.</i> (1993)	Australie	0,154

Source : BUES *et al.* (2004)

Selon VAISSAYRE (2002), une perte de sensibilité aux pyréthrinoïdes fut décelée en Afrique francophone en 1996.

Au Bénin, DJIHINTO (2000) a obtenu une DL50 de 13,65 $\mu\text{g/g}$ d'insecte sur une souche locale et avec 0,06 $\mu\text{g/g}$ pour la souche sensible de référence BK77, soit un coefficient de résistance (rapport de la DL50 de la souche étudiée sur la DL50 de la souche sensible de référence) de 227,5.

En Côte d'Ivoire, MARTIN *et al.* (2000) ont trouvé des coefficients de résistance de 11,8 pour la souche KON99/11C et de 37,8 pour la souche BK99/10C.

Au Burkina-Faso, DRABO (2005) a trouvé des coefficients de résistance de 44,85 ; 57,64 et 40,53 sur les souches récoltées en 2004 respectivement à Bittou, Datomo et Sidéradougou. HEMA (2004) a trouvé des coefficients de résistances de 14 et 43 sur les souches récoltées en 2003 respectivement à Bittou et à Datomo. YARA (1999) pour sa part a obtenu un coefficient de résistance de 36 sur la souche de Sidéradougou.

3.2. FACTEURS DE DEVELOPPEMENT DES PHENOMENES DE RESISTANCE.

3.2.1. La sélection par les insecticides.

Dans la littérature, il est démontré qu'un insecte ne peut devenir véritablement résistant à un insecticide qu'après avoir été exposé à ce produit chimique pendant plusieurs générations.

Le DDT a été utilisé de manière intensive pendant environ quinze ans avant que la pyrale du tabac, *Heliothis virescens* ne s'avère résistante à cet insecticide. Les deux types de résistance aux organochlorés (DDT et Cyclodiène) ont été observés au bout de dix (10) ans environ (BROWN, 1977 cité par KUMAR, 1991).

3.2.2. La base génétique

Au début des traitements aux insecticides, le taux de développement du phénomène de résistance au sein d'une population non exposée était très faible. Mais au fur et à mesure de l'augmentation du nombre des principaux gènes de résistance dans la population des survivants, l'insecte devient mieux armé pour vivre dans l'environnement contaminé. Plus la pression de sélection s'intensifie, plus le phénomène de résistance se développe rapidement dans la mesure où le nombre de survivants est suffisamment important pour garantir la variabilité génétique.

En outre, la persistance apparemment illimitée des gènes de résistance empêche la réintroduction d'insecticides pour lutter contre les populations qui semblent avoir retrouvé une sensibilité totale à la suite du relâchement de la pression des insecticides (SWICKI, 1979 cité par KUMAR, 1991).

3.2.3. Les facteurs écologiques

De nombreux facteurs d'ordre écologique peuvent influencer sur le développement des phénomènes de résistance aux insecticides au sein d'une population d'insectes. Ceci peut être lié à la relative isolation des populations les unes par rapport aux autres. Cela a un effet sur l'échange de matériel génétique. Les variations des facteurs écologiques liés au temps, comme les saisons peuvent être importantes dans l'évolution de la résistance. La taille, l'augmentation du nombre de générations par an des populations et leur capacité à se reproduire peuvent également affecter le développement de la résistance (KUMAR, 1991).

3.3. IMPACTS DE L'USAGE DES INSECTICIDES CHIMIQUES

3.3.1. Les organismes non cibles

Les insecticides affectent les processus biologiques de nombreux organismes vivants et peuvent ainsi s'avérer toxiques pour un grand nombre d'animaux autre que ceux appartenant aux espèces visées.

Au sud des Etats-Unis l'usage d'importants insecticides sur le cotonnier a permis à l'araignée jaune d'acquérir le statut de ravageur économique.

Des études approfondies effectuées sur l'influence des insecticides sur les ennemis naturels ont démontré que les insecticides perturbent la relation ravageur-ennemi naturel, dont les conséquences sont la résurgence d'attaques de ravageurs secondaires et les risques pour les applicateurs.

3.3.2. Les problèmes de résidus

De nombreux insecticides et surtout les organochlorés laissent des résidus dans les biotopes terrestres et aquatiques provoquant une concentration cumulative dans la chaîne alimentaire et l'amplification biologique. Ces insecticides peuvent avoir des effets défavorables sur les écosystèmes en créant un déséquilibre qui affecte la chaîne alimentaire, les insectes nécrophages, les relations insectes-hôtes, les relations insectes-plantes, etc. De très faibles concentrations peuvent également avoir des conséquences biologiques significatives. Ces résidus peuvent encore développer des effets néfastes pour la fertilité du sol, en éliminant la faune arthropode, ainsi que pour les cultures avoisinantes et cultures ultérieures (KUMAR, 1991).

3.4 ALTERNATIVE A L'UTILISATION DES PESTICIDES CHIMIQUES.

3.4.1. Les pesticides bactériens *Bacillus thuringiensis*

B. thuringiensis (*Bt*) est une bactérie gram-positive capable de produire une gamme de toxines insecticides et l'agent de contrôle bactérien le plus renommé sur le plan mondial (CHARLES *et al.*, 2000). Historiquement, *Bt* était employé uniquement contre les ravageurs lépidoptères. Cependant, depuis la découverte en 1977 et le développement d'une souche d'origine naturelle de *B. thuringiensis* active contre diverses familles de Diptères (moustiques et mouches noires) et plus récemment l'isolement de souches additionnelles de *Bt* active contre les Coléoptères en plus des nématodes, des aphidés et fourmis, la portée des ravageurs cible pour *Bt* a augmenté considérablement.

L'activité insecticide de *Bt* est surtout basée sur la production de toxines (delta endotoxines) durant sa phase de sporulation.

3.4.2. Le cotonnier transgénique *Bt*

Une des réponses aux problèmes de résistance aux insecticides chimiques réside dans le développement par la biotechnologie de variétés transgéniques de cotonnier produisant des toxines insecticides de la bactérie *B. thuringiensis*. De grandes surfaces de ces variétés sont actuellement plantées dans la plupart de grands pays producteurs.

La première génération de cotonnier transgénique *Bt* (Bollgard I) intégrant le gène Cry1Ac synthétise la toxine Cry1Ac contre les lépidoptères.

Dans le souci de retarder l'apparition de phénomènes de résistance à la toxine Cry1Ac, un autre gène codant pour la protéine insecticide Cry2Ab fut intégré. Ainsi, la nouvelle génération de cotonnier transgénique *Bt* (Bollgard II) synthétise ainsi deux delta endotoxines Cry1Ac et Cry2Ab.

3.4.3. Problème de résistance aux toxines de *Bacillus thuringiensis*.

B. thuringiensis a été utilisé pendant plus de 20 ans sans qu'on rapporte un seul cas de développement d'une résistance au champ. Mais l'utilisation des variétés transgéniques *Bt* mettant en contact permanent les ravageurs et les toxines insecticides ne va pas sans risques quant à l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance aux insecticides synthétisés par la plante. De nos jours, des mécanismes de résistance aux toxines peuvent être mis en évidence au laboratoire.

La résistance aux delta-endotoxines de *B. thuringiensis* fut constatée pour la première fois au laboratoire en 1985 chez un lépidoptère nommé *Plodia interpunctella*. Il est devenu résistant au Dipel[®], un produit commercial formulé à partir de *B. thuringiensis* (Mc GAUGHEY, 1985). Le plus haut niveau de résistance obtenu par pression de sélection au laboratoire est observé chez la souche YAD2, 10000 fois plus résistante au Cry1Ac (HECKEL *et al.*, 1997). Selon AKHURST *et al.* (2001), 26 espèces de ravageurs ont montré des capacités de développer une résistance aux toxines de *B. thuringiensis*.

Le premier cas de résistance au champ fut détecté au sein d'une population de *Plutella xylostella* sur l'île d'Hawaii (TABASHNIK *et al.*, 1990). Ensuite d'autres cas de résistance furent observés chez la même espèce aux Etats-Unis, aux Philippines, en Thaïlande et en Malaisie.

Sur le terrain, aucune résistance aux cotonniers transgénique n'a été observée chez *H. armigera* (MAHON *et al.*, 2004). Des études récentes menées par TABASHNIK *et al.* (2006)

ont révélé des cas de résistance de *Helicoverpa zea* à la toxine Cry1Ac dans une douzaine de champs de cotonnier transgénique dans le Mississippi et en Arkansas.

Des études sur le développement et l'évolution de résistance des insectes aux toxines *Bt* sont en cours afin d'élaborer des stratégies efficaces pour limiter l'apparition de résistances au champ dans la perspective d'une plus grande durabilité des traitements insecticides. En effet, la stratégie de refuges a donc été préconisée pour accompagner toute culture cotonnière transgénique. Leur rôle est de permettre la dilution du gène de résistance aux toxines chez les survivants en favorisant leur croisement avec des insectes n'ayant pas été en contact avec les toxines.

3.4.4. La gestion de la résistance

Des stratégies de gestions de la résistance des insectes aux protéines insecticides de *B. thuringiensis* ont été élaborées dans l'optique de retarder l'apparition de résistance à ces toxines.

D'une part, la connaissance des mécanismes qui sont à la base de la résistance aux toxines de *Bt* est un premier pas qui permet la mise en place de mesures limitant leur extension, tandis que la caractérisation des populations de ravageurs ainsi que la détermination des échanges de gènes entre populations des même espèces conduirons à appréhender la diffusion de la résistance.

D'autre part, l'étude des relations entre les différentes toxines de *B. thuringiensis* et les insectes cibles, ainsi que celle de l'apparition de la résistance aux toxines, permettront de mettre en place des stratégies durables d'utilisation des plantes transgéniques (VASSAL et MENOZZI, 2006).

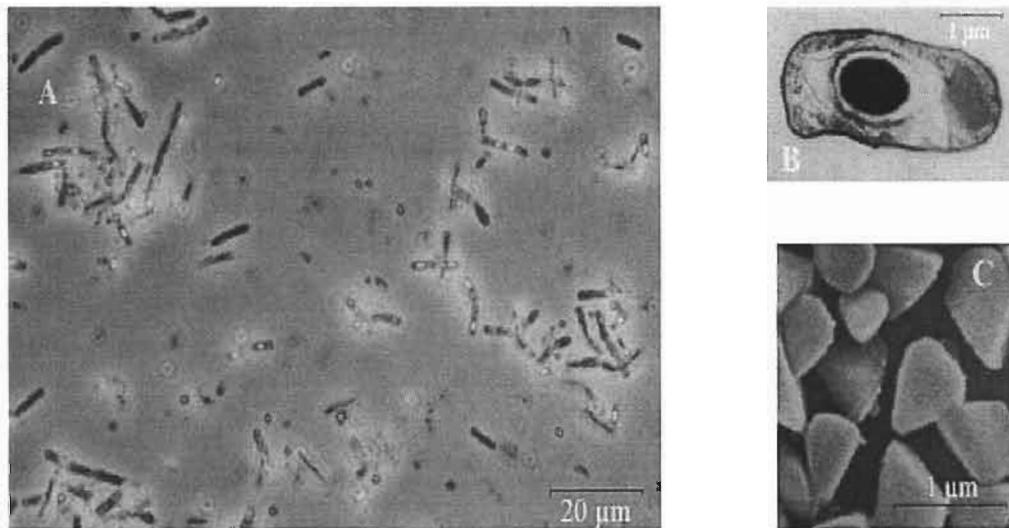
CHAPITRE 4 : LA BACTÉRIE *BACILLUS THURINGIENSIS* (BERLINER) ET LES DELTA-ENDOTOXINES.

4.1. LA BACTÉRIE *BACILLUS THURINGIENSIS* (BERLINER).

Le nom *B. thuringiensis* a été introduit en 1911 par le biologiste allemand E. BERLINER, pour désigner la bactérie pathogène trouvée dans les pulpes d'insectes familiers des silos à graine en Thuringe (YOUNG *et al.*, 1998). Depuis plus de 40 ans, elle est utilisée comme insecticide biologique et représente de nos jours plus de 90% du marché total des biopesticides (VASSAL, 2004).

4.1.1. Description de la bactérie.

B. thuringiensis, communément appelé *Bt* est une bactérie collective du sol, gram-positive et appartenant à la famille des Bacillaceae (HECKEL *et al.*, 1999) (photo 2-A et 2-B).



Source : http://www.inapg.inra.fr/ens_rech/bio/biotech/textes/applicat/agricult/vegetal/btpart1.htm consulté le 25/10/2007.

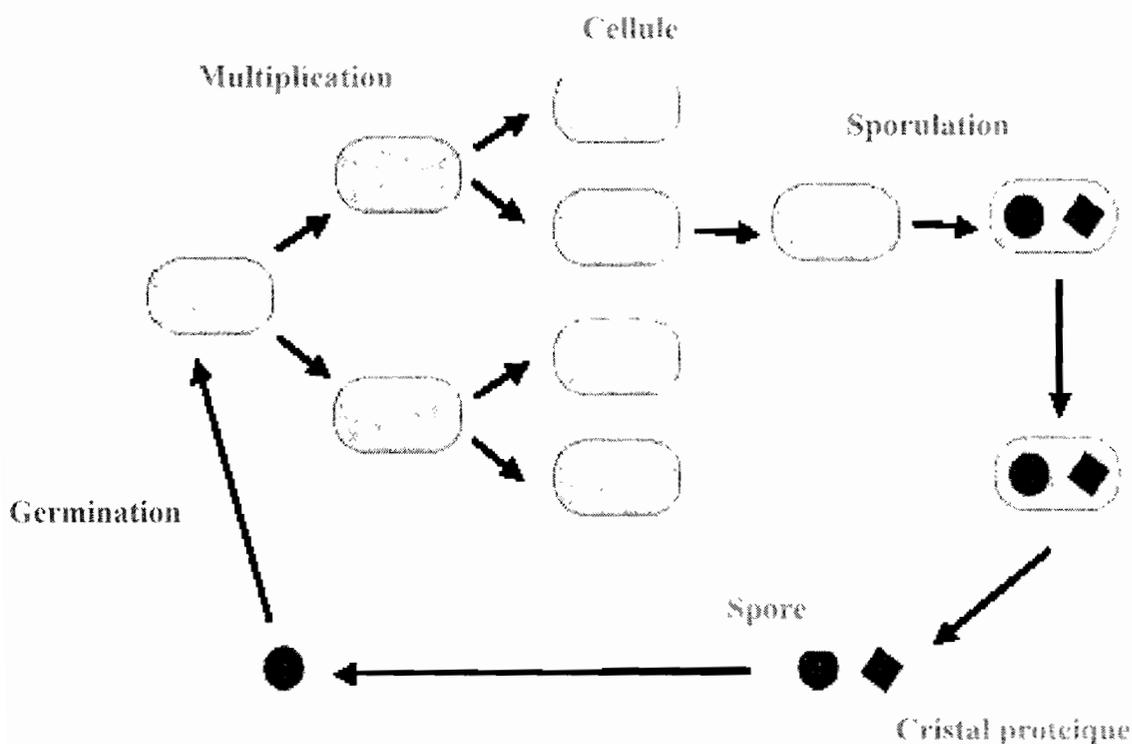
Photo 2: *Bacillus thuringiensis*

- (A) : *B. thuringiensis* vue par microscope de contraste de phase ;
- (B) : Corps de cellule vu au microscope électronique ;
- (C) : Cristaux de forme bipyramidale vus au microscope électronique.

4.1.2. Cycle de vie de *Bacillus thuringiensis*.

Le cycle vital de la bactérie *B. thuringiensis* comporte deux (2) phases (YOUNG *et al.*, 1998) (figure 2) :

- Une phase végétative observée lorsque les conditions du milieu sont favorables. Au cours de cette phase, la bactérie se multiplie de façon exponentielle par scissiparité. Elle synthétise pendant la phase végétative une exotoxine thermosensible appelée protéine insecticide végétative (Vegetative Insecticidal Protein ou V.I.P.) (VASSAL, 2004) ;
- Une phase stationnaire qui commence dès que les nutriments essentiels du milieu se raréfient. Cette phase se caractérise par une différenciation des cellules bactériennes, aboutissant à la formation des spores. C'est aussi dans cette phase qu'intervient la synthèse des delta-endotoxines, substances protéiques conférant à la bactérie un pouvoir pathogène contre certains insectes. Ces protéines s'accumulent dans la cellule bactérienne pour former un cristal qui est ensuite libéré dans le milieu.



Source : <http://www.new.gouv.qc.ca/pesticides/virus/nil/bti/chap3.htm> consulté le 25/10/2007.

Figure 2: Cycle biologique de *Bacillus thuringiensis*.

4.2. LES DELTA-ENDOTOXINES DE *BACILLUS THURINGIENSIS*

4.2.1. Classification

Les delta endotoxines de *B. thuringiensis* encore appelées Cry (venant de cristal) ont été classifiées selon leur spécificité insecticide en cinq groupes par HÖFTE et WHITELEY (1989) (tableau II).

- Cry I, ce sont des toxines spécifiques aux Lépidoptères; les cristaux ont une forme bipyramidale ;
- Cry II, les toxines sont spécifiques aux Lépidoptères et aux Diptères ; les cristaux ont une forme cubique ;
- Cry III, spécifiques aux Coléoptères, les cristaux sont rhomboédriques ;
- Cry IV, les toxines visent les Diptères et les cristaux ont une forme sphérique ;
- Cry V, efficaces contre les Lépidoptères et les Coléoptères, les cristaux ont une forme bipyramidale.

CRICKMORE *et al.* (1998), ont révisé la nomenclature des delta-endotoxines en prenant en compte, outre leur spécificité, l'homologie des séquences en acides aminés des protéines (annexe 1).

De nos jours, environ 225 toxines sont identifiées et classées en 37 groupes (URAICHUEN, 2002). En plus des delta endotoxines, *B. thuringiensis* synthétise une autre famille de protéines de petite taille ayant une action cytolytique non spécifique appelée *Cyt* (THOMAS et ELLAR, 1983).

Tableau II: Classification des delta-endotoxines de *B. thuringiensis*.

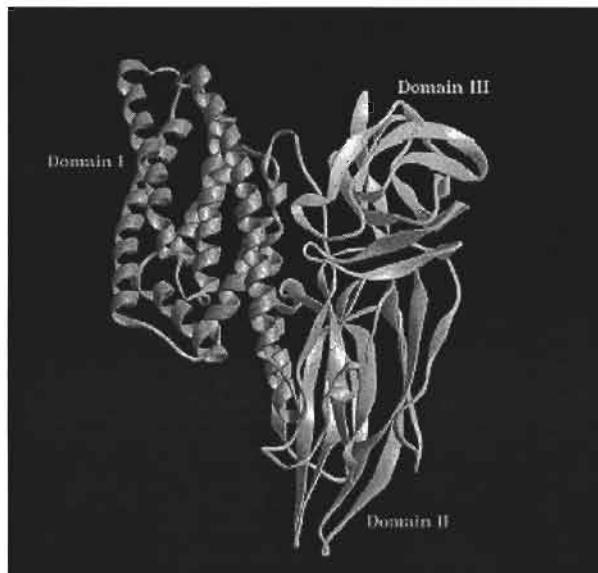
Classe	δ-endotoxines	Taille (KDa)	Insectes sensibles	Structure des cristaux
CryI	A	130 - 140	Lépidoptères	Bipyramidale
	B			
	C			
	D			
	E			
	F			
CryII	A	71	Diptères et Lépidoptères	Cubique
	B		Lépidoptères	
CryIII	A	68 - 73	Coléoptères	Rhomboédrique
	B			
CryIV	A	125 - 145	Diptères	Sphérique
	B			
CryV	A	81	Lépidoptères et Coléoptères	Bipyramidale
Cyt	A	26 - 28	Diptères	Sphérique
	B			

Source : HÖFTE et WHITELEY (1989).

4.2.2. Structure des delta-endotoxines

Les delta endotoxines présentent trois domaines (LI *et al.*, 1991) (photo 3):

- le domaine I : constitué de sept (7) hélices alpha, il est à l'extrémité NH₂-terminale et est responsable de la formation des spores ;
- le domaine II : comprenant trois feuillets bêta, il permet la reconnaissance des récepteurs membranaires intestinaux ;
- le domaine III : du côté C-terminal, il n'a pas un effet direct sur les insectes; cependant, il joue un rôle important dans la stabilité du cristal.



Source : <http://www.nal.usda.gov/bic/BTTOX/bttox.htm> consulté le 25/10/2007.

Photo 3: Structure tridimensionnelle des delta-endotoxines.

4.2.3. Modes d'action des delta endotoxines

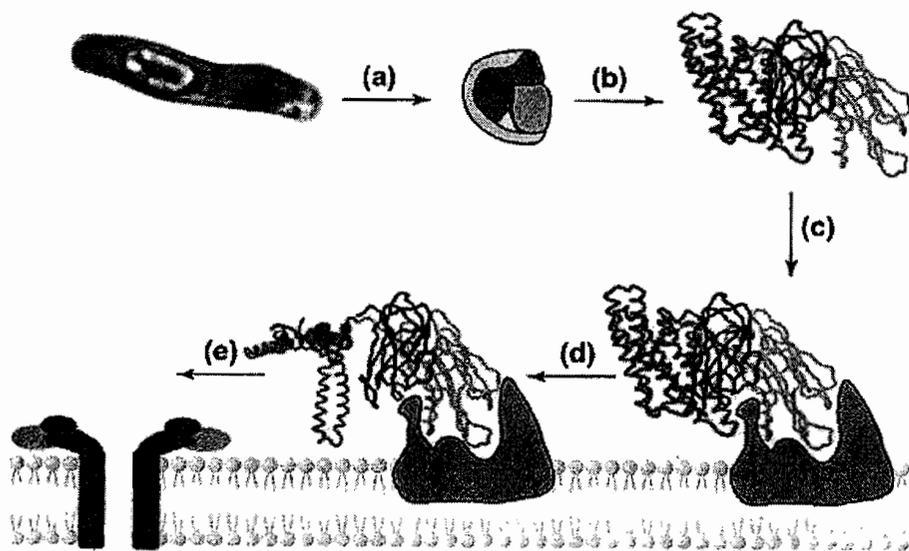
Les delta endotoxines ne sont pas des insecticides de contact (VASSAL, 2004) ; c'est après ingestion par les insectes sensibles que la toxine agit.

Plusieurs étapes sont nécessaires avant que la toxine puisse acquérir son pouvoir insecticide (figure 3) :

- **Solubilisation et activation** : après ingestion, les protéines cristallines sont solubilisées dans l'intestin de l'insecte à un pH basique (10-12). Les protoxines libérées sont par la suite transformées en toxines actives après une lyse partielle par les enzymes du tube digestif ;

- **Liaison sur le site récepteur** : la toxine activée va traverser la membrane péritrophique et se fixer sur des récepteurs spécifiques, présents à la surface des microvillosités des cellules épithéliales de l'intestin ;

- **Formation des pores** : l'interaction toxine-récepteur aboutit à la formation d'un pore dans la cellule cible. Cela entraîne une perturbation des échanges ioniques, une modification du pH intestinal, puis la lyse de la cellule épithéliale de l'intestin. Cette lyse entraîne une paralysie du tube digestif de l'insecte qui cesse de s'alimenter et meurt affamé un à trois jours après l'ingestion du cristal.



TRENDS in Genetics

Source : VASSAL (2004).

Figure 3: Mode d'action des Delta-endotoxines de *Bacillus thuringiensis*.

(a) : Solubilisation, (b) : Activation, (c) – (d) : Liaison avec le site récepteur, et (e) : Formation des pores.

DEUXIEME PARTIE : TESTS DE SENSIBILITES

CHAPITRE 5 : ÉLEVAGE DE *HELICOVERPA ARMIGERA* ET TEST DE SENSIBILITE A LA DELTAMETHRINE.

INTRODUCTION

Dans le contexte actuel de la gestion de la résistance de *H. armigera* aux insecticides chimiques, le laboratoire d'Entomologie du Programme Coton de l'INERA mène chaque année des tests de sensibilité sur la noctuelle. *H. armigera* est reconnu être le ravageur le plus redoutable du cotonnier (NIBOUCHE., 1994). Les bio-tests sont menés dans l'optique d'évaluer le niveau de résistance de la noctuelle aux produits chimiques utilisés dans le programme de gestion de la résistance dans les différentes zones cotonnières du Burkina Faso. Dans notre étude, nous avons fait usage de l'insecticide qui est le plus utilisé par les producteurs ; la deltaméthrine, appartenant à la famille des pyréthrinoïdes. La réalisation des bio-tests a nécessité une multiplication des larves de *H. armigera* à travers l'élevage dans les conditions de laboratoire.

5.1. ÉLEVAGE DE L'INSECTE.

5.1.1. La récolte des souches soumises à l'élevage.

Les souches de *H. armigera* ont été récoltées dans les localités de Datomo (province du Mouhoun) située à l'ouest et de Kompienga (province de la Tapoa) située à l'est du Burkina Faso (figure 4). La souche DAT08 (Datomo), la souche KOM08 (Kompienga) et la souche sensible de référence (BK77) sont soumises à l'élevage au laboratoire.

La localité de Datomo est une ancienne zone de culture cotonnière, on y pratique la culture du coton depuis les années 1960. Dans cette localité, la pratique de la culture maraîchère est aussi développée, tandis que Kompienga est une nouvelle zone cotonnière où la pratique de la culture a débuté avec le plan de relance adopté par la filière coton au Burkina Faso il y'a environ 13 ans.



Figure 4: Localisation des sites de récolte de *H. armigera* utilisée dans les bio-tests.

5.1.2. Les conditions externes

Les souches de *H. armigera* récoltées sont élevées à l'intérieur d'une salle climatisée à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et $70\% \pm 5\%$ d'humidité relative. La scotophase-photophase (obscurité-lumière) est : 12h-12h.

5.1.3. La conduite de l'élevage.

5.1.3.1. Les adultes

Les adultes sont placés en raison de 4 à 6 couples dans des pondoires cylindriques en polystyrène fermés à leur sommet par un carré de gaze servant de support de ponte aux femelles. L'accouplement et la ponte ont lieu pendant la scotoperiode.

Pour l'alimentation des papillons, un abreuvoir est placé dans chaque pondoire. Il est constitué par un coton dentaire plongé dans un tube contenant une solution aqueuse sucrée à 10%.

5.1.3.2. Éclosion des oeufs

La gaze sur laquelle ont été déposés les oeufs est placée dans une boîte cylindrique grillagée contenant de petits cubes de milieu nutritif. Les boîtes sont recouvertes par un carton ne laissant filtrer la lumière que dans sa partie supérieure. Les oeufs éclosent trois (3) jours après la ponte. Vingt quatre (24) heures avant l'éclosion, on peut remarquer un noircissement des oeufs témoignant de la formation des capsules céphaliques des futures néonates. Les oeufs sont désinfectés par un bain d'eau de Javel pendant 5 minutes puis dans une solution de formol pendant 20 minutes. Après la désinfection en solution, les oeufs sont traités à l'U.V. Cette mesure doit être associée à des désinfections minutieuses du matériel et de la salle d'élevage afin d'éviter l'apparition de virose occasionnant la mort des chenilles.

5.1.3.3. Les larves

Les larves néonates a phototropisme positif sont attirées par les cubes du milieu, au fond de la boîte. Elles sont attirées par la lumière, et vont coloniser le milieu plus rapidement. Les larves sont nourries tous les deux à trois jours.

5.1.3.4. La nymphose

Au terme de leur développement, les larves vont pénétrer dans le milieu ou elles façonnent une loge pour la nymphose. Les prénymphe sont placées sans milieu nutritif dans des loges de même type où elles effectuent leur mue. Les nymphes sont ensuite stockées dans une boîte grillagée, désinfectées dans une solution d'eau de Javel puis sexées et placées dans des boîtes propres en attendant l'émergence des adultes. Le sexage est fait à la binoculaire à partir des sillons génitaux.

5.1.4. Méthode de désinfection des oeufs.

Les oeufs se trouvant dans les pondoirs sont récoltés avec la compresse servant de support et introduits dans la boîte de désinfection. On verse ensuite la solution d'eau de javel sur les œufs et on agite-le tout avec un bâtonnet pendant 5 minutes. Les œufs se détachent de la compresse et tombent au fond de la boîte. On répète cette opération successivement dans 3 boîtes contenant de l'eau de robinet pour permettre le détachement total des œufs de la compresse de ponte. On diminue l'eau de chaque boîte en la versant doucement pour ne retenir que les œufs. Verser ensuite le contenu de chaque boîte dans la première et remuer

abondamment à l'eau de robinet en laissant chaque fois les œufs se déposer au fond de la boîte avant de verser l'eau.

Sur les œufs déjà désinfectés avec l'eau de javel, on verse une solution de formol puis on ferme la boîte pour ne pas laisser échapper le gaz de la solution de formol. On laisse durer 20 minutes puis on rince abondamment les œufs à l'eau de robinet. Les œufs sont récupérés sur une compresse fine à l'aide d'une pompe à vide. Cette compresse contenant les œufs est exposée sous ultra-violet pendant 1 heure en raison de 30 minutes par face.

5.1.5. Méthode de désinfection des chrysalides.

Les chrysalides récoltées dans les boîtes à logettes sont déposées à l'intérieur d'un récipient dans lequel on introduit en agitant une solution d'eau de javel pendant 5 minutes. Ensuite elles sont rincées à l'eau de robinet et séchées.

5.1.6. Difficultés de l'élevage de masse

Le manque de nourriture entraîne souvent le cannibalisme au sein de la population d'*H. armigera*. Ce phénomène affecte surtout les larves de troisième stade (L3). La difficulté majeure rencontrée dans l'élevage des souches est la présence dans la population de virose.

5.2. TEST DE SENSIBILITÉ DE *H. ARMIGERA* A LA DELTAMETHRINE.

5.2.1. Matériels.

5.2.1.1. Matériel biologique

Les souches de *H. armigera* récoltées dans les localités de Datomo et de Kompienga en parcelles de cotonnier sont élevées au laboratoire selon la technique d'élevage mise au point par COUILLOUD et GIRET (1980). Une troisième souche, la BK 77 qui est la souche de référence a été utilisée dans les différents tests de sensibilité. L'élevage des différentes souches au laboratoire a permis une production massive de chenilles nécessaire à la réalisation des tests de toxicité.

Ces tests s'effectuent sur la première génération F1, issue de l'élevage des souches récoltées. Les larves de troisième stade (L3) sont utilisées pour les tests.

5.2.1.2. Matériel technique.

Pour la réalisation des différents tests sur les souches d'*H. armigera* au laboratoire, de nombreux matériels techniques ont été utilisés. Les matériels utilisés dans la réalisation de ces tests sont composés :

- La deltaméthrine (matière technique) de concentration 99,3% ;
- Le solvant (l'acétone) ;
- Les boîtes plastiques à logettes (photo 4) ;
- La balance électronique de précision (marque METTLER);
- Le micro-applicateur (marque BURKARD: photo 5) ;
- La verrerie de laboratoire ;
- Des pinces souples et pinceaux (photo 6 ; page 33).

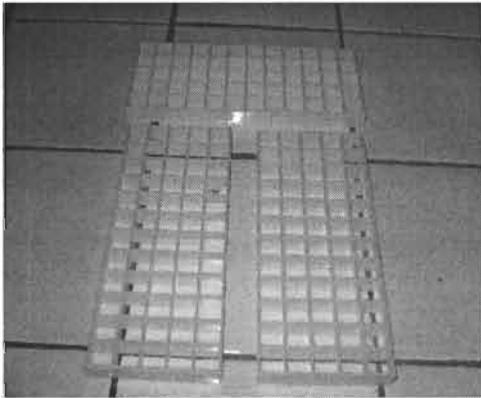


Photo 4: Boîtes plastique à logettes au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

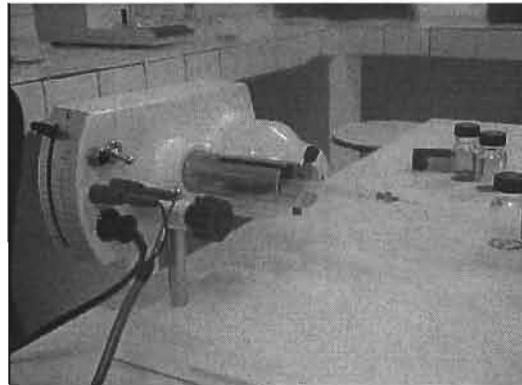


Photo 5: Micro applicateur Arnold au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

5.2.2. Méthodes.

5.2.2.1. Préparation des solutions insecticides

Les matières actives insecticides sont diluées dans l'acétone qui est un bon solvant pour le produit utilisé et ne présente aucune toxicité à faible dose contre les larves. Nous avons préparé la solution mère dans une fiole de 50 ml à partir de la matière technique.

La quantité de substance technique à peser pour cette préparation est donnée par la formule de GRY (1972) :

$$Q = \lambda \times V \times 100 / v \times C$$

Q = quantité de la matière technique à peser ;

λ = dose de substance active de la solution mère en $\mu\text{g/g}$ d'insecte ;

V = volume total de la solution mère en ml ;

v = volume de la solution à appliquer en $\mu\text{l/g}$ d'insecte ;

C = pourcentage de pureté de la matière technique.

Sur la base du pré-test réalisé par HEMA (2004), nous avons retenu 0,6 et $6\mu\text{g/g}$ comme les doses limites du test. Les doses intermédiaires ont été calculées selon une progression géométrique de raison r telle que :

$$\log r = (\log x_a - \log x_b) / n - 1$$

r = raison géométrique ; x_a = plus forte dose ; x_b = plus faible dose ; n = nombre de dose.

Nous avons ainsi obtenu six (6) doses pour les tests de sensibilité.

Le volume de la solution mère à prélever pour la préparation des solutions correspondantes est donné par la formule de GRY (1972) :

$$V_n = \lambda_n \times 10 / \lambda$$

V_n = volume de solution mère à prélever pour la dose de rang n ;

λ_n = dose de substance active de la solution de rang n .

Les différentes doses ont été préparées par dilution de la solution mère avec de l'acétone. Pour chaque essai, on constitue un lot témoin qui est traité avec l'acétone.

5.2.2.2 Pesée des larves.

Les larves mises en élevage sur milieu nutritif ont été pesées individuellement sur une balance électronique. Celles qui ont le poids compris entre 35 et 45 mg (correspondant au stade 3) sont retenues pour les bio-tests.

5.2.2.3 Constitution des lots expérimentaux de larves.

Pour la réalisation d'un essai, nous avons choisi un échantillon représentatif de chaque souche de larve. On a ainsi constitué des lots expérimentaux de chenilles ayant des

caractéristiques comparables. En effet, les chenilles sont prélevées au troisième stade larvaire. A ce stade les larves sont fragiles, elles doivent être manipulées avec précaution pour éviter de les blesser. Elles sont donc prélevées avec une pince souple et réparties par lot dans la boîte plastique à logettes. Trente (30) larves sont utilisées par dose. Ainsi six (6) lots de larves ont été constitués.

5.2.2.4 Traitement insecticide avec le micro-applicateur Arnold.

Pour le traitement insecticide, l'application topique a été utilisée. Le micro-applicateur Arnold délivre des gouttelettes de volume compris entre 0,1 μ l et 1 μ l. Pour chaque test, nous avons déposé un micro litre de solution insecticide par larve.

La gouttelette de solvant se forme à l'extrémité de l'aiguille et est déposée sur le thorax de la chenille. L'acétone, solvant très volatil s'évapore et un mince film insecticide reste sur la cuticule de l'insecte.

Les doses sont appliquées de façon croissante afin d'éviter toutes erreurs dues au dépôt de matière active sur les parois de la seringue ou à l'intérieur de l'aiguille. Le traitement est effectué dans une salle régulée à 25°C, la température pouvant avoir une influence sur l'action des insecticides.

La seringue est rincée plusieurs fois à l'acétone entre chaque dose appliquées.

5.2.2.5 Mise en observation et comptage de mortalité.

Après le traitement insecticide, les larves sont individualisées dans la boîte plastique à logettes en condition initiales d'élevage à température et humidité constantes.

Pendant toute la durée des observations, les lots expérimentaux de larves sont placés dans les mêmes conditions afin d'éviter que la sensibilité des insectes à l'égard des produits ne soit modifiée par des différences dans les conditions de températures, d'humidité, d'éclairement, de densité de peuplement, de nourriture.

Les mortalités ont été relevées à 24, 48 et 72 heures après traitement. Les mortalités à 48 heures après l'application ont été prises en compte dans l'analyse des données (photo 7 ; page 33).

5.2.2.6 Analyse statistique.

Les données obtenues sont analysées avec le logiciel WINDL version 2.0 développé par le CIRAD, suivant la méthode dite du maximum de vraisemblance ou méthode des probits

de travail. L'échelle probit représente la projection linéaire des pourcentages cumulés d'une courbe de distribution normale (courbe de GAUSS) (ALAUX, 1994).



Photo 7: Pincettes et pinceaux au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

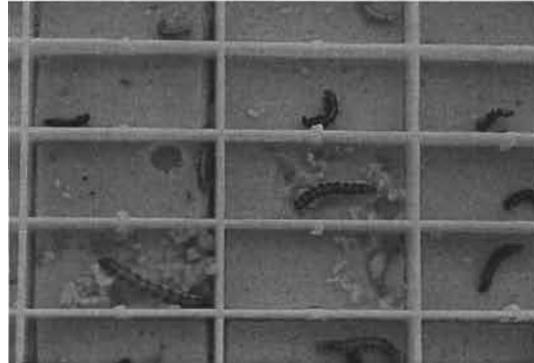


Photo 6: Mortalité observée après 48 heures au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

5.3. RESULTATS

Les résultats des bio-tests menés sur les deux souches sont consignés dans le tableau III. La DL50 de la deltaméthrine est de 2,50 µg/g pour la souche DAT08 et de 1,95 µg/g pour la souche KOM08.

Malheureusement, l'élevage de la souche sensible de référence a posé des problèmes suite à des mortalités observées au sein de la population de cette souche. Pour cette raison, aucun test n'a pu être réalisé avec la BK77. En effet, les valeurs concernant cette souche sensible auxquelles nous ferons ici référence proviennent des études précédentes et sont utilisées précisément à titre indicatif.

Selon DRABO (2005), la DL50 de la deltaméthrine pour la souche sensible de référence BK77 (L3) est de 0,056 µg/g.

Des deux souches de *H. armigera* testées à la deltaméthrine, celle de Datomo apparaît plus résistante à cette molécule avec un coefficient de résistance de 45 par rapport à celle de Kompienga qui a un coefficient de résistance de 35.

En effet, les intervalles de confiance indiquent que la souche de Datomo est statistiquement plus résistante que la souche sensible de référence BK77 car les intervalles de confiance de ces deux souches ne se recoupent pas. En revanche, la souche de Kompienga ne peut être considérée comme plus résistante que la souche sensible parce que les intervalles de confiance de cette souche de terrain et de la BK77 se recoupent. Les valeurs de pentes de la substance technique utilisée sur les deux souches sont restées faibles, comparativement à celle de la

souche de référence (2,32) ; cela reflète l'hétérogénéité des souches de terrain en comparaison à la souche sensible de référence.

Tableau III: Valeurs des DL50 de la deltaméthrine obtenues sur les souches BK77, DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

Souches	DL 50 (µg/g)	Intervalle de confiance à 95%	Pente±ET*	Coefficient de résistance
BK77	0,056 *	0,03 - 0,09	2,32 ± 0,19	-
DAT08	2,5	0,22 - 23,55	1,39 ± 0,53	44,64
KOM08	1,95	0,01 - 382,4	1,95 ± 1,16	34,82

La figure 5 présente les droites de régressions linéaires dose de toxique (en logarithme) et mortalité des larves (en probit) des souches.

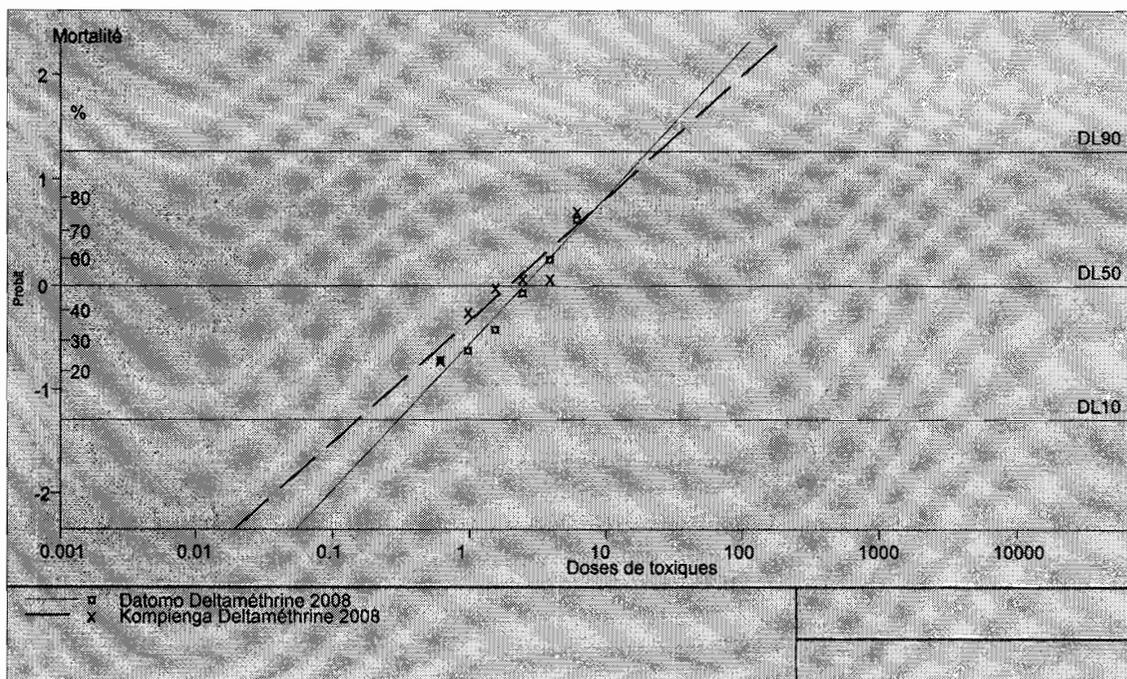


Figure 5: Comparaison des droites de régression dose-mortalité de la deltaméthrine sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

L'analyse de la déviance de ces deux droites (tableau IV) indique :

* Ecart type.

* Valeur de DL50 obtenu par DRABO (2005) avec la BK77 de 3^{ème} stade larvaire.

- l'hypothèse d'ajustement du modèle est acceptée au seuil de 5%. En effet, l'ajustement du modèle est parfait pour toutes les droites.
- les pentes sont semblables car l'hypothèse du parallélisme des droites est acceptée au seuil 5% ; cela indique que les souches ont le même niveau d'homogénéité.
- l'hypothèse des droites identiques est acceptée au seuil de 5%. En effet, les droites de régression des deux souches (DAT08 et KOM08) sont identiques à ce seuil ($p=0,669$). En effet, leur sensibilité à la deltaméthrine ne diffère pas significativement (tableau IV). Cela se traduit par le regroupement des deux droites de régressions.

Tableau IV: Analyse de la déviance des droites de régression dose-mortalité de la deltaméthrine utilisée sur les souches DAT08 et KOM08.

Hypothèses à tester	Chi carré	ddl ¹	P (X>Chi carré)
Les points sont bien sur les droites	3,242	8	0,918
Les droites sont identiques	1,553	3	0,669
Les pentes sont identiques	0,318	1	0,572

5.4. DISCUSSION

Nos résultats indiquent que les coefficients de résistance obtenus pour les deux souches sont inférieurs à ceux obtenus par DRABO (2005) sur la souche de Datomo (58) et l'IN.E.R.A (2007) pour la souche de Kompienga (40). Cela indique pour ce fait une hausse de sensibilité de *H. armigera* à la deltaméthrine dans les deux localités. Le niveau de sensibilité de la souche de Datomo a connu une augmentation cette année. Cela pourrait s'expliquer dans le contexte actuel de gestion de résistance par une baisse du niveau de résistance de la noctuelle engendrée par les alternatives mises au point pour les deux premiers traitements du programme de protection chimique (SOU, 2004). En effet, l'emploi de l'endosulfan (un organochloré) et du profenofos (un organophosphoré) pourrait retarder l'évolution de cette résistance aux pyréthriinoïdes. Cependant, la souche de Datomo est la plus résistante à la deltaméthrine. Ce résultat similaire a été trouvé par DRABO (2005) et HEMA (2004). Dans cette localité, la noctuelle subit constamment une pression de sélection à cet insecticide chimique utilisé dans la protection phytosanitaire des cultures maraîchères. Selon NIBOUCHE (1994), les cultures maraîchères favorisent l'augmentation de la population de

¹ : Degré de liberté.

H. armigera en début de saison qui va se rabattre ensuite sur la culture du coton. Cela pourrait expliquer le niveau de résistance de *H. armigera* à Datomo.

En ce qui concerne la souche de Kompienga (KOM08), le niveau de sensibilité n'a pas considérablement varié. En effet, on note une baisse du coefficient de résistance (35) qui était de 40 en 2007. On pourrait expliquer cela par le fait que cette localité est une récente zone de production cotonnière où la noctuelle n'est soumise à aucune pression constante de sélection.

Par ailleurs, *H. armigera* a développé des mécanismes de résistance à la deltaméthrine. En Afrique de l'ouest, le Bénin présente les niveaux de résistance les plus élevés avec des facteurs de résistance atteignant 250 (PRUDENT *et al.*, 2000). Dans le monde, l'Inde et la Chine présentent des coefficients supérieurs à 1000 (RUSSELL *et al.*, 2004). Selon MENOZZI *et al.*(2002), des échecs d'application au champ sont observés pour des coefficients supérieurs à 100. Dans notre étude les coefficients obtenus pour les deux souches sont largement en dessous de cette valeur.

CONCLUSION PARTIELLE

L'étude sur l'évaluation de la sensibilité de la noctuelle *H. armigera* a montré que les deux (2) souches de terrain (DAT08 et KOM08) présentent un certain niveau de résistance à la deltaméthrine en comparaison à la souche sensible de référence BK77 tel que rapporté par DRABO (2005). Ces deux souches récoltées dans des localités différentes ne présentent aucune différence significative entre leurs niveaux de résistance.

Bien que la résistance aux insecticides chimiques, notamment aux pyréthriinoïdes, a nécessité la conduite de programmes spéciaux de gestion de la résistance depuis la campagne agricole 1999 au Burkina Faso, le seuil de coefficient de résistance fixé par MENOZZI *et al.* (2002) reste supérieur aux coefficients de résistance de nos souches de terrain.

CHAPITRE 6 : ETUDE DE L'EFFICACITÉ BIOLOGIQUE DE DEUX DELTA-ENDOTOXINES (CRY1AC ET CRY2AB) SUR LES SOUCHES LOCALES DE *H. ARMIGERA* (HUBNER).

INTRODUCTION

Le cotonnier est l'une des plantes les plus traitées dans le monde. Cette protection est essentiellement basée sur l'utilisation des produits chimiques appartenant à plusieurs familles d'insecticides (GUINNING *et al.*, 1999). L'usage constant et prolongé de ces produits insecticides a engendré des problèmes de résistance. Pour résoudre ce problème, les plantes transgéniques synthétisant des delta-endotoxines de *B. thuringiensis* ont été développées par la biotechnologie. De nos jours, le cotonnier transgénique occupe des millions d'hectares dans le monde (BRICKLE *et al.*, 2001). Le ravageur, *H. armigera* est la principale cible de ces plantes transgéniques en Afrique, en Asie et en Australie (KRANTHI *et al.*, 1999).

Au Burkina Faso, la biotechnologie du cotonnier est en plein développement et peu de données existent sur le niveau de sensibilité de *H. armigera* aux toxines de *B. thuringiensis*.

Cette étude a été menée dans l'optique d'évaluer d'une part, la sensibilité des larves néonates de la noctuelle récoltée dans diverses localités du Burkina Faso au laboratoire et d'autre part, la comparaison de leur sensibilité avec celle de la souche sensible de référence.

6.1. MATÉRIELS ET MÉTHODES.

6.1.1. Matériels.

6.1.1.1. Matériels biologiques;

Les tests sont effectués sur les souches de *H. armigera* utilisées dans le bio-essai précédent ; la souche de Datomo (DAT08), celle de Kompienga (KOM08) et la souche sensible de Bouaké (BK77).

Les larves de la première génération (F1) et du premier stade larvaire (L1) ont été utilisées pour les différents tests.

6.1.1.2. Matériels techniques.

- Les toxines Cry1Ac et Cry2Ab respectivement de concentration de 19,1% et 0,5727% en substance active, fournies par la firme américaine MONSANTO,

- Le tampon de dilution: le tampon phosphate (10mM PBS et 100 mM NaCl), fourni par le CIRDES,

- Les boîtes plastiques à logettes comportant chacune 60 logettes ;
- La balance électronique de précision de marque METTLER;
- Des pipettes automatiques (10ml, 1000 μ l, 200 μ l et 20 μ l : photo 8) ;
- Des pinceaux et des pinces souples ;
- La verrerie de laboratoire (photo 9).

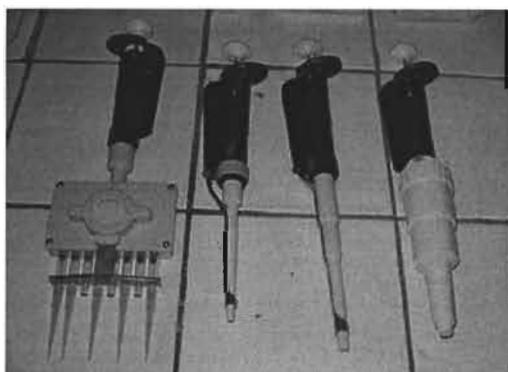


Photo 9 : Pipettes automatiques au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.



Photo 8: Verrerie de laboratoire au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

6.1.2. Méthodes

6.1.2.1. Préparation des solutions toxiques

Les différentes solutions mères ont été préparées à partir des toxines sous formulation poudreuse et du tampon phosphate. Les toxines sont diluées dans le solvant, et les solutions mères préparées dans des fioles de 50 ml.

Les concentrations limites des toxines étant fixées à partir des pré-tests réalisés dans les études précédentes, nous avons calculé les concentrations intermédiaires selon une progression géométrique de raison r . Pour la préparation d'une solution de concentration C_n , le volume de la solution mère à prélever est déterminé à partir de la formule :

$$C_i \times V_i = C_n \times V_n$$

- C_i = concentration de la solution mère,
- V_i = volume de la solution mère,
- C_n = concentration de la solution toxique de rang n ,
- V_n = volume de la solution toxique de rang n .

Ainsi, une série de sept (7) solutions est préparée par dilution à partir de la solution mère dans des fioles de 10 ml pour chaque type de toxine (tableau V).

Tableau V: Concentrations retenues pour les tests de sensibilité de *H. armigera*.

Toxines	Concentrations en µg/ml						
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇
Cry1Ac	1,032	0,469	0,213	0,0968	0,0484	0,022	0,010
Cry2Ab	36,11	24,08	16,05	10,71	7,13	4,76	3,16

6.1.2.2. Constitution des lots expérimentaux de larves

Un échantillon représentatif de chaque souche de larves a été réalisé. On a ainsi constitué huit (8) lots expérimentaux de chenilles de première génération et de premier stade larvaire. Un effectif de cinquante (50) larves par lot est réalisé et les larves d'un même lot ont été réparties individuellement dans des boîtes plastiques à logettes. Les chenilles néonates sont privées de nourriture pendant cinq (5) heures.

6.1.2.3. Méthode de traitement

Les essais sont réalisés dans les boîtes plastiques constituées de 60 logettes (1,69 cm²/logette) à l'intérieur desquelles sont placées des tranches de milieu nutritif.

Nous avons constitué huit (8) lots de tranches du milieu nutritif composés chacun de cinquante (50) tranches pour chaque souche de larves.

Chaque lot de tranche du milieu nutritif a été traité avec une concentration de solution toxique et le huitième lot servant de témoin est traité avec le tampon de dilution.

Ainsi un volume de 100 µl de chaque dilution de la toxine a été appliqué à l'aide d'une pipette automatique à la surface du milieu nutritif préalablement déposé dans les logettes.

Les différentes souches de larves sont placées sur les milieux nutritifs traités et les boîtes plastiques sont ensuite fermées puis placées dans les conditions d'élevage.

6.1.2.4. Lecture et comptage de mortalité.

Les différentes souches de larves sont placées dans les mêmes conditions d'élevage à température et humidité constante.

Le comptage des larves mortes a été effectué sept (7) jours après traitement.

On considère comme morte toutes larves qui, déposés sur le côté, ne se retournent pas.

Le test est rejeté si le taux de mortalité dans le lot témoin dépasse 10%.

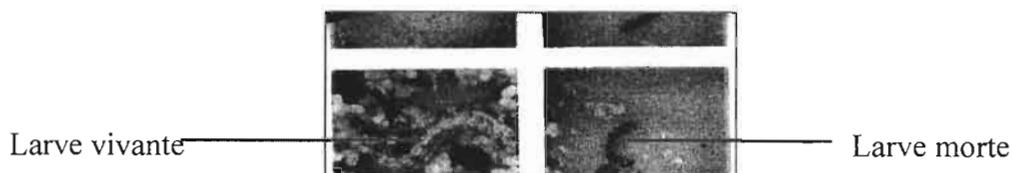


Photo 10: Différence entre larve morte et larve vivante au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

6.1.2.5. Analyse statistique

Les données recueillies sont analysées avec le logiciel WINDL version 2.0 développé par le CIRAD.

6.2. RESULTATS

Les résultats obtenus (tableau VI) indiquent que toutes les souches soumises au test (DAT08 et KOM08) sont sensibles aux delta-endotoxines de *B. thuringiensis* Cry1Ac et Cry2Ab. En effet, les CL50 du Cry1Ac sont de 0,12 µg/ml et 0,09 µg/ml pour les souches DAT08 et KOM08 respectivement.

Tableau VI: CL50 des toxines Cry1Ac et Cry2Ab obtenues sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

Toxines	Souches	CL50 (µg/ml)	Intervalle de confiance à 95%	Pente±ET ^b	Coefficient de résistance
Cry1Ac	DAT08	0,12	0,036 - 0,24	1,09 ± 0,18	-
	KOM08	0,09	0,02 - 0,20	0,96 ± 0,22	-
	BK77	7,13 ^a	-	-	-
Cry2Ab	DAT08	6,84	3,38 - 10,43	1,85 ± 0,11	0,95
	KOM08	5,72	2,39 - 9,56	1,48 ± 0,13	0,80

^b : Ecart type.

^a : Valeur de CL50 obtenue par GIBAN (2004) avec la BK77 du premier stade larvaire.

En ce qui concerne la toxine Cry2Ab, les mêmes souches ont respectivement des CL50 de 6,84 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et 5,72 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Les deux souches de terrain présentent les mêmes sensibilités que la souche de référence BK77, puisque les valeurs de CL50 obtenues pour chaque toxine vont dans le même sens que ceux obtenus sur la BK77 (premier stade). Pour chacune des toxines utilisées dans l'expérimentation, les deux souches de terrain présentent le même niveau de sensibilité. Le recoupement des intervalles de confiance indique cela, ainsi que le regroupement des droites de régression linéaire dose-mortalité du Cry1Ac (Figure 7) et du Cry2Ab (Figure 6).

Par ailleurs, l'analyse de déviance des droites de régression (tableau VII et VIII) confirme le même niveau de sensibilité des deux souches (DAT08 et KOM08).

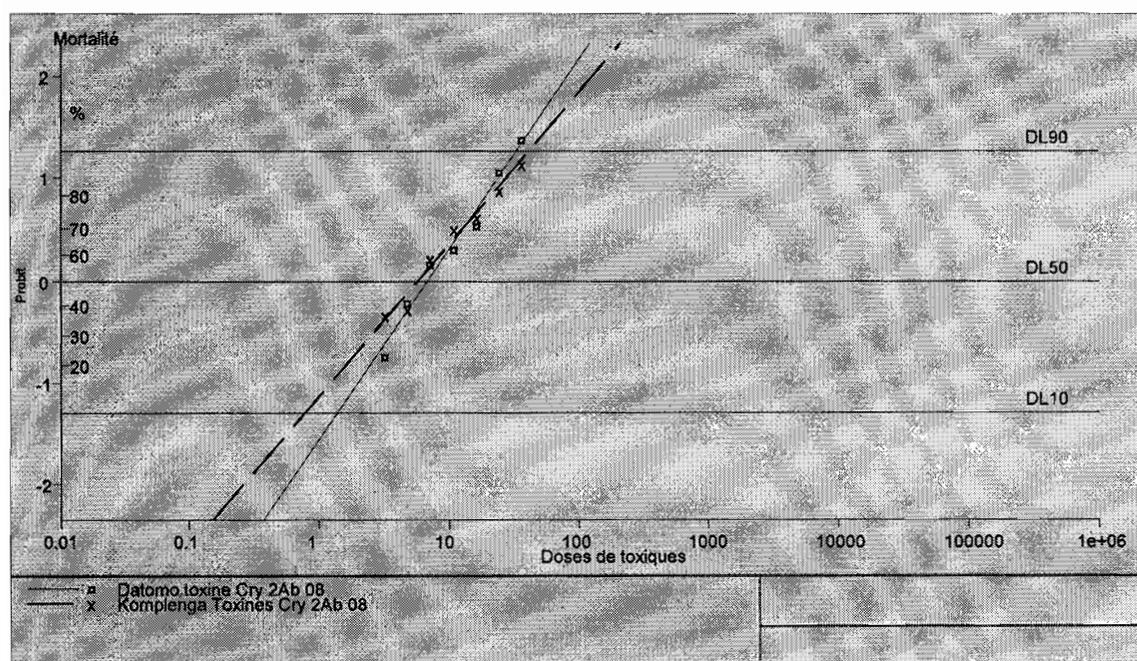


Figure 6: Comparaison des droites de régression dose-mortalité du Cry2Ab sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

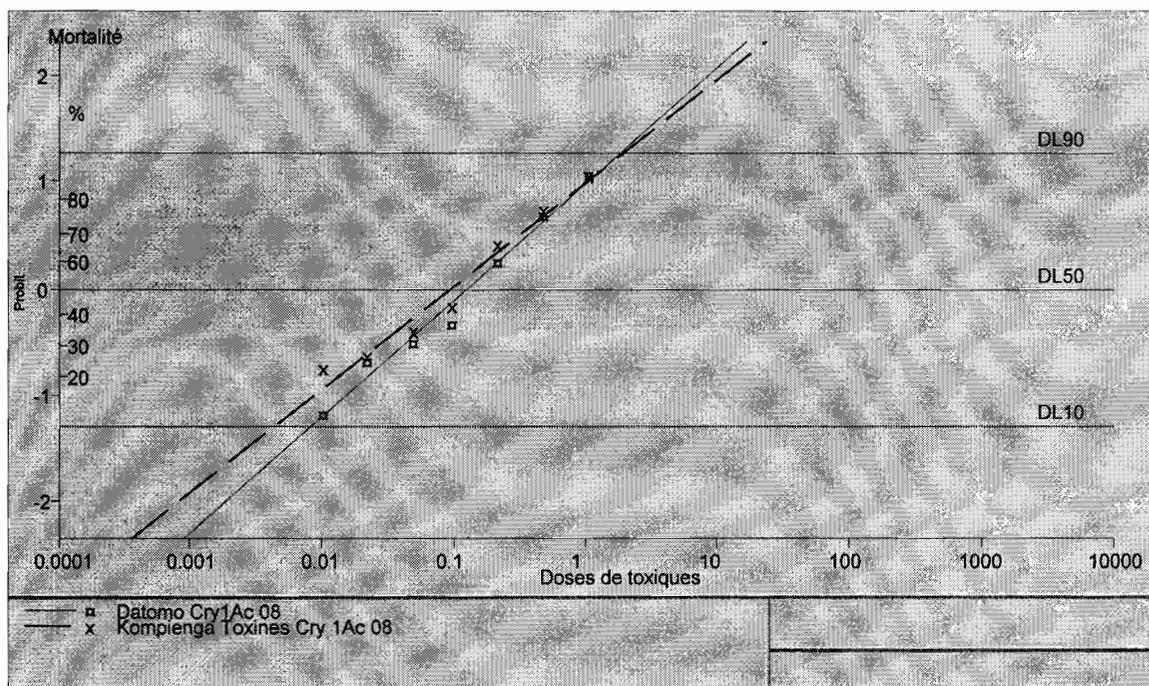


Figure 7: Comparaison des droites de régression dose-mortalité du Cry1Ac sur les souches DAT08 et KOM08 au laboratoire du Programme coton (Burkina Faso) en 2008.

L'hypothèse d'ajustement du modèle est acceptée au seuil de 5%. Les pentes sont identiques à ce même seuil. En effet, cela permet d'avoir une bonne comparaison des souches étudiées car celles-ci sont homogènes au même degré.

L'analyse de la déviance ne révèle pas de différence significative entre les droites de régression dose-mortalité du Cry1Ac ($p = 0,7437$) et du Cry2Ab ($p = 0,6694$) des deux souches étudiées (tableau VII et VIII). En effet, les souches DAT08 et KOM08 présentent le même niveau de sensibilité aux toxines de *B. thuringiensis*.

Tableau VII: Analyse de la déviance des droites de régression dose-mortalité du Cry2Ab utilisée sur les souches DAT08 et KOM08.

Hypothèses à tester	Chi carré	ddl ¹	P (X>Chi carré)
Les points sont bien sur les droites	3,074646	10	0,9796
Les droites sont identiques	1,555908	3	0,6694
Les pentes sont identiques	1,319580	1	0,2507

¹ : Degré de liberté.

KRANTHI et RUSSELL (2004), la CL50 du Cry1Ac sur les néonates de la noctuelle varie entre 0,01 et 0,67 µg/ml.

La concentration létale de Cry1Ac pour les néonates de *H. armigera* varie entre 0,33 et 0,84 µg/ml (LE TAN-DUMANOIS, 1994). Ces valeurs de CL50 sont supérieures à celles que nous avons obtenues sur la même souche. LEE *et al.* (1995) et COWLES *et al.* (1995) ont trouvé pour la toxine Cry1Ac des valeurs de CL50 respectivement de 0,05 µg/ml et 0,09 µg/ml sur les larves néonates de *Heliothis virescens*. Selon KRANTHI et RUSSEL (2004) la CL50 du Cry1Ac varie entre 0,01 et 0,67 µg/ml en Chine. Ces résultats vont dans le même sens que les nôtres sur les néonates de *H. armigera*. La CL50 de la toxine Cry1Ac varie entre 0,091 et 9,093 µg/ml en Inde entre 2001 et 2003 (KRANTHI et RUSSEL., 2004). Ces variations des CL50 pourraient s'expliquer par la diversité de méthodologie utilisée, l'origine et les stades larvaires et aussi par les origines des toxines utilisées. KARIM *et al.* (1999) ; OLSEN et DALY (2000) ont montré que les modes opératoires, le choix de souche, son stade ainsi que les méthodes utilisées pour la synthèse des toxines sont des facteurs de fluctuation des CL50. En effet, selon LE TAN-DUMANOIS (1994), la toxine Cry1Ac activée est trois fois plus active que celle sous forme de cristaux.

En ce qui concerne la toxine Cry2Ab, elle est plus récente que la Cry1Ac ; peu d'informations existent sur cette toxine. Des études sur la Cry2Ab ont débuté suite à l'insertion du gène gouvernant sa synthèse dans le cotonnier (CHITKOWSKI *et al.*, 2003). GIBAN (2004) a obtenu pour cette toxine une valeur de CL50 de 7,13 µg/ml sur les néonates de *H. armigera*. Cette valeur de CL50 va dans le même sens que celle que nous avons obtenue sur la même espèce de stade identique (6,84 µg/ml et 5,72 µg/ml).

La toxine Cry2Ab s'avère moins efficace que Cry1Ac sur les larves néonates de la noctuelle. En effet, nous avons obtenu des CL50 plus élevées pour cette toxine. Cela a été montré par DRABO (2005) sur les larves du deuxième stade de leur développement.

On constate que les coefficients de résistances des souches de terrain (DAT08 et KOM08) obtenus avec la deltaméthrine sont assez élevés (44,64 et 34,88). En revanche, ceux trouvés avec les toxines de *B. thuringiensis* sont très faibles (0,95 et 0,80). Cela signifie que nos souches de terrain présentent un niveau de résistance assez élevé à la deltaméthrine et une forte sensibilité aux toxines. En effet, la résistance de *H. armigera* à la deltaméthrine n'engendre pas une résistance aux toxines. Ainsi, il n'y a pas de résistance croisée entre ces deux insecticides.

Par ailleurs, on note une différence d'efficacité entre les toxines de *B. thuringiensis* et la deltaméthrine. En effet, les DL50 de la deltaméthrine des souches DAT08 et KOM08 sont

plus élevé que celle de la souche de référence BK77. Par contre, les CL50 des toxines Cry1Ac et Cry2Ab de ces mêmes souches de terrain sont identiques à celle de référence. Les toxines de *B. thuringiensis* seraient une meilleure alternative de contrôle des ravageurs en particulier *H. armigera*.

CONCLUSION PARTIELLE

Notre étude menée sur l'efficacité de deux delta-endotoxines de *B. thuringiensis* (Cry1Ac et Cry2Ab) sur les néonates de *H. armigera* a montré que les deux (2) souches locales soumises à l'étude présentent une sensibilité élevée aux toxines. Le niveau de sensibilité des néonates est identique à celui de la souche de référence BK77 (premier stade). Cependant, la résistance de *H. armigera* à la deltaméthrine n'engendre pas une résistance aux toxines de *B. thuringiensis*, en raison du mécanisme biochimique différent. En effet, il n'y a pas résistance croisée aux toxines.

TROISIEME PARTIE : TEST DE DEMONSTRATION

CHAPITRE 7 : ETUDE DE L'EFFICACITE BIOLOGIQUE DU COTONNIER BOLLGARD II SUR LES POPULATIONS DE LEPIDOPTERES EN MILIEU REEL AU BURKINA FASO.

INTRODUCTION

Les cultures cotonnières dans la plupart des pays d'Asie, d'Amérique et d'Afrique sont confrontées aux problèmes de résistance des insectes ravageurs aux produits chimiques préconisés dans les programmes de protection phytosanitaire. Dans le souci de résoudre ce problème de résistance, le cotonnier transgénique fut développé par la biotechnologie.

Le Burkina Faso est en phase de pré vulgarisation de la variété transgénique Bollgard II. En effet, des tests de démonstration sont menés par les trois sociétés cotonnières du pays dans le but d'évaluer cette variété.

La présente étude réalisée dans les différentes zones cotonnières a pour objectif d'évaluer l'efficacité biologique de Bollgard II sur la population de lépidoptères en milieu réel.

7.1. MATERIELS ET METHODES

7.1.1 La zone d'étude.

Les tests de démonstration ont été réalisés dans les trois (3) zones cotonnières du Burkina-Faso.

La SOFITEX, société cotonnière située à l'ouest du pays a abrité dix (10) sites de démonstration parmi lesquels cinq (5) ont été retenus pour les tests. Il s'agit de :

- Djigouéma dans le département de Padéma,
- Wéro dans le département de Satiri,
- Kofila dans le département de Léna,
- Pahin dans le département de Bagassi,
- Dankuy dans le département de Ouarkoye.

La SOCOMA, société cotonnière située à l'est du Burkina-Faso dans laquelle trois (03) sites de démonstration ont été retenus sur les six (6) où le test a été conduit ce sont :

- Natiaboani dans le département de Fada chef lieu de la province du Gourma,

- Partiaga, département de la province de Tapoa,
- Kpadjari dans le département de Pama chef lieu de la province de Kompienga.

La société cotonnière FASO COTON, située au centre du pays comporte quatre (4) sites de démonstrations et nous avons retenu deux (2) sites pour nos tests. Il s'agit de :

- Tinnonguin dans le département de Tenkodogo.
- Tiakané dans le département de Pô.

7.1.2 Matériels

7.1.2.1 Matériel végétal.

Le matériel végétal, était constitué de quatre (4) variétés de cotonnier :

- la FK37 : variété a port élané ayant une hauteur de 1,50 m avec des feuilles à pilosité moyenne. Son rendement potentiel est de 3,5 tonnes à l'hectare. Elle est originaire de l'INERA/ Farako-Bâ ;
- la FK37-Bollgard II : variété transgénique. Elle a été obtenue à partir de la variété FK37 dans laquelle a été inséré le gène Bollgard II ;
- la STAM59A : variété à port pyramidal, pouvant atteindre une hauteur de 1,2 m. Ses feuilles présentent une pilosité moyenne. Son rendement potentiel est de 3 tonnes à l'hectare. Elle est originaire du Togo ;
- la STAM59A-Bollgard II : variété transgénique, issue de la variété STAM59A dans laquelle est introduit le gène Bollgard II.

7.1.2.2 Matériel animal.

Il se compose des chenilles de capsules (*Helicoverpa armigera*, *Diparopsis watersi* et *Earias sp*) et de chenilles phyllophages (*Spodoptera littoralis*, *Syllepte derogata* et *Anomis flava*). Ils sont dénombrés au cours des différents échantillonnages.

7.1.3 Méthodologie.

7.1.3.1 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé est l'essai couple comportant deux (2) parcelles :

- une parcelle de coton Bollgard II (FK37 BGII ou STAM59A BGII) ;
- une parcelle de la variété conventionnelle (FK37 ou STAM59A).

Les deux parcelles sont semées le même jour. Les observations sont effectuées dans chaque bloc (parcelle). Dans chaque parcelle, les lignes consécutives de cotonniers sont distantes de 0,80 m et les poquets réalisés sur ces lignes sont distants de 0,40 m. Les semis ont été réalisés entre le 06 juillet et le 15 juillet, sur tous les sites.

Les parcelles d'une superficie de 0,50 ha chacune sont séparées d'une allée de 2 m. Une bordure de 15 m a été semée tout au tour de ces deux (2) blocs, avec la variété conventionnelle (FK37 ou STAM59A) en laissant un intervalle de 2 m entre cette bordure de 15 m et les deux (2) blocs (figure 8).

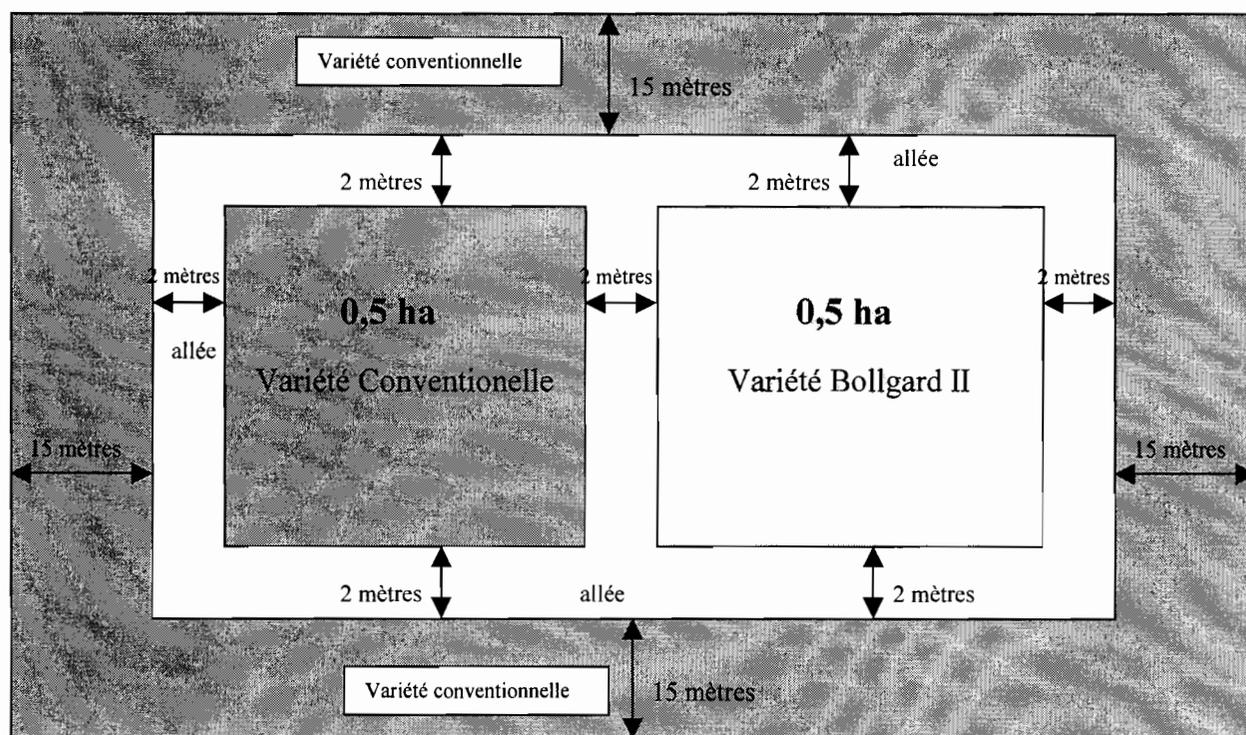


Figure 8: Dispositif expérimental du test Bollgard II en milieu réel.

7.1.3.2 Itinéraire technique.

Les parcelles ont été labourées manuellement, à la charrue ou au tracteur selon les sites. Un traitement herbicide a été appliqué sur les parcelles. Deux (2) sarclages ont été réalisés manuellement sur les différents sites. A la suite du deuxième sarclage, le buttage a été réalisé avec la charrue.

Les traitements insecticides réalisés avec un pulvérisateur Très Bas Volume (T.B.V.), débitant 10 litres de bouillie insecticide par hectare ou BV, délivrant 60 à 120 litres de bouillie à l'hectare, se sont déroulés selon le programme de traitement vulgarisé auprès des paysans sur les parcelles de cotonniers conventionnels. Au total six (6) traitements sont effectués ; les quatre premiers traitements sont dirigés contre les chenilles ravageurs de l'appareil

reproducteur et celles du feuillage; les deux (2) derniers sont effectués contre les chenilles des capsules et les piqueurs suceurs de sève.

Les parcelles de cotonniers transgéniques ont reçu deux (2) traitements en fin de cycle contre les piqueurs suceurs (tableau IX).

La bordure de 15 m de coton conventionnel a été traitée suivant le programme vulgarisé comme la variété conventionnelle.

Les traitements sont réalisés sur la parcelle de coton conventionnel à une cadence de deux (2) semaines entre les traitements à partir du 30^{ième} jour après la levée.

Tableau IX: Réalisation des traitements insecticides selon le programme vulgarisé.

Parcelles	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
BOLLGARD II	Néant	Néant	Néant	Néant	PV	PV
Conventionnelle	PV	PV	PV	PV	PV	PV

T₁ à T₆ : Numéro des traitements

PV : Produit Vulgarisé dans la fenêtre et dans la zone.

7.1.3.3 Méthode d'échantillonnage des chenilles.

Des observations ont été réalisées une fois par semaine et ont débutés dès le 30^e jour après la levée. Le comptage des chenilles des capsules (*H. armigera*, *D. watersi*, *Earias sp*) et des chenilles des feuilles (*S. derogata*, *A. flava*, *S. littoralis*) a été effectué, sur 30 plants choisis au hasard. Ce comptage est réalisé sur les deux (2) parcelles.

7.1.3.4 Evaluation du rendement.

Le coton grain est récolté sur trois (3) carrés de 10 m de côté chacun par parcelle (100 m²) et pesé à l'aide d'une balance. On détermine le rendement moyen de chaque parcelle à partir des poids de coton récolté sur les trois (3) carrés.

7.1.3.5 Analyse statistique des données.

Les données ont été analysées avec le logiciel Microsoft Excel 2000. Les histogrammes présentant le nombre de larves et le rendement de coton graine sur chaque site de production ont été réalisés et commentés.

7.2. RESULTATS

7.2.1 Nombre de chenilles carpophages et phyllophages.

7.2.1.1 Zone SOFITEX

Les résultats des observations des chenilles carpophages effectuées sur les différents sites de production en zone SOFITEX sont présentés dans la figure 9. L'analyse de cette figure montre que le gène BGII permet un bon contrôle des populations de carpophages. En effet, en parcelle coton BGII, le nombre moyen de chenilles carpophages par hectare est nul sur l'ensemble des sites à l'exception du site de Léna qui a enregistré un faible nombre de carpophages par hectare (125,04 chenilles/ha). Par contre en parcelle de coton conventionnel, le nombre moyen de carpophages par hectare est élevé ; il va jusqu'à 2084 chenilles/ha sur le site de Dankuy. Les sites de Wéro, Léna et Bagassi ont enregistré respectivement 1302,5 chenilles/ha, 1875,6 chenilles/ha et 1437,96 chenilles/ha. A Padéma, ce nombre est peu élevé (521 chenilles/ha).

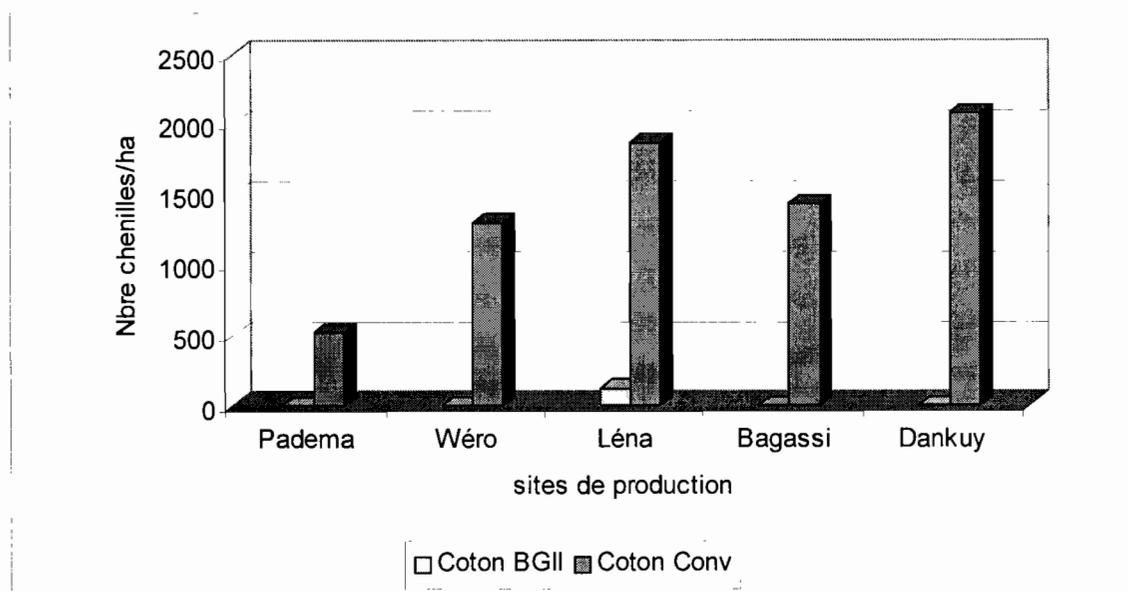


Figure 9: Nombre de chenilles carpophages par hectare en zone Sofitex. sur coton BGII et coton conventionnel.

En ce qui concerne les chenilles phyllophages, l'analyse de la figure 10 montre un faible niveau d'infestation (0 à 395,96 chenilles/ha). Malgré le faible niveau d'attaque de ce

type de ravageur, la présence du gène BGII dans les variétés transgéniques (FK37-BGII et STAM59A-BGII) permet un bon contrôle des populations de phyllophages (*S. derogata* et *A. flava*). En effet, on note un nombre de phyllophages par hectare peu élevé sur le site de Wéro (83,3 chenilles/ha). Ce nombre est nul sur les sites de Padéma et Bagassi. Cependant, le phyllophage *S. littoralis* ne semble pas bien maîtrisé par le gène BGII. En effet, l'infestation relevée dans les parcelles BGII par ce ravageur est beaucoup plus élevée dans les sites de Léna et Dankuy qui ont enregistré respectivement 197,98 chenilles/ha et 312 chenilles/ha. Les chenilles phyllophages observées en parcelle BGII sont constituées exclusivement de *S. littoralis*.

Par ailleurs, l'analyse de la figure montre une forte infestation dans les parcelles de coton conventionnel sur les sites de Wéro (395,96 chenilles/ha) et Dankuy (312,6 chenilles/ha).

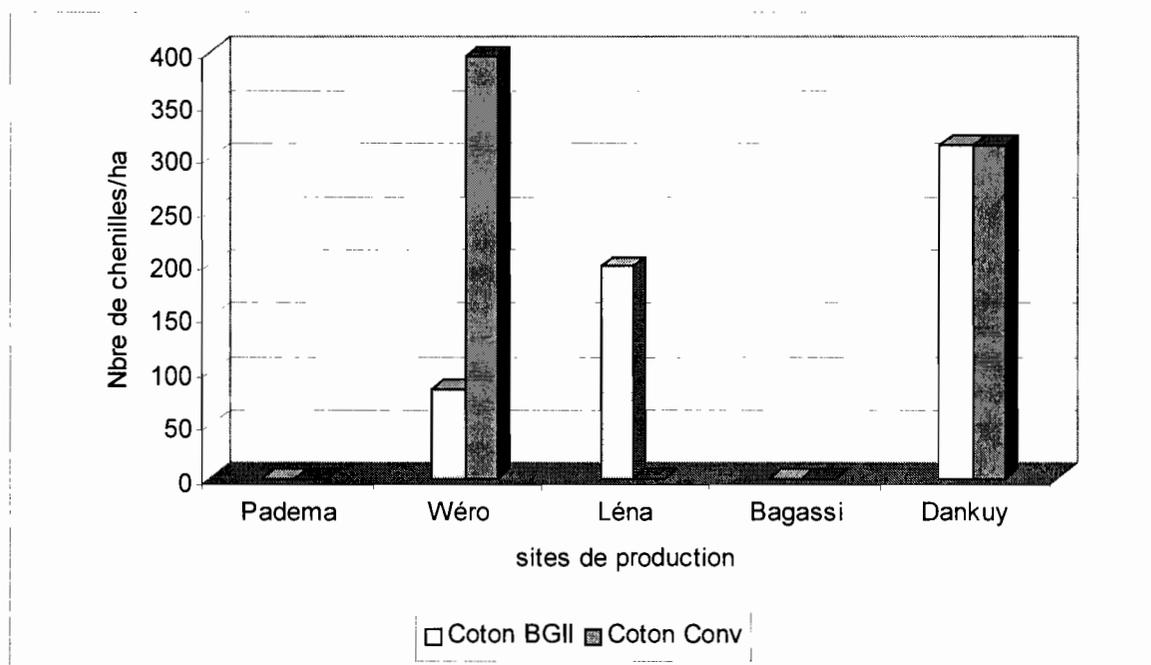
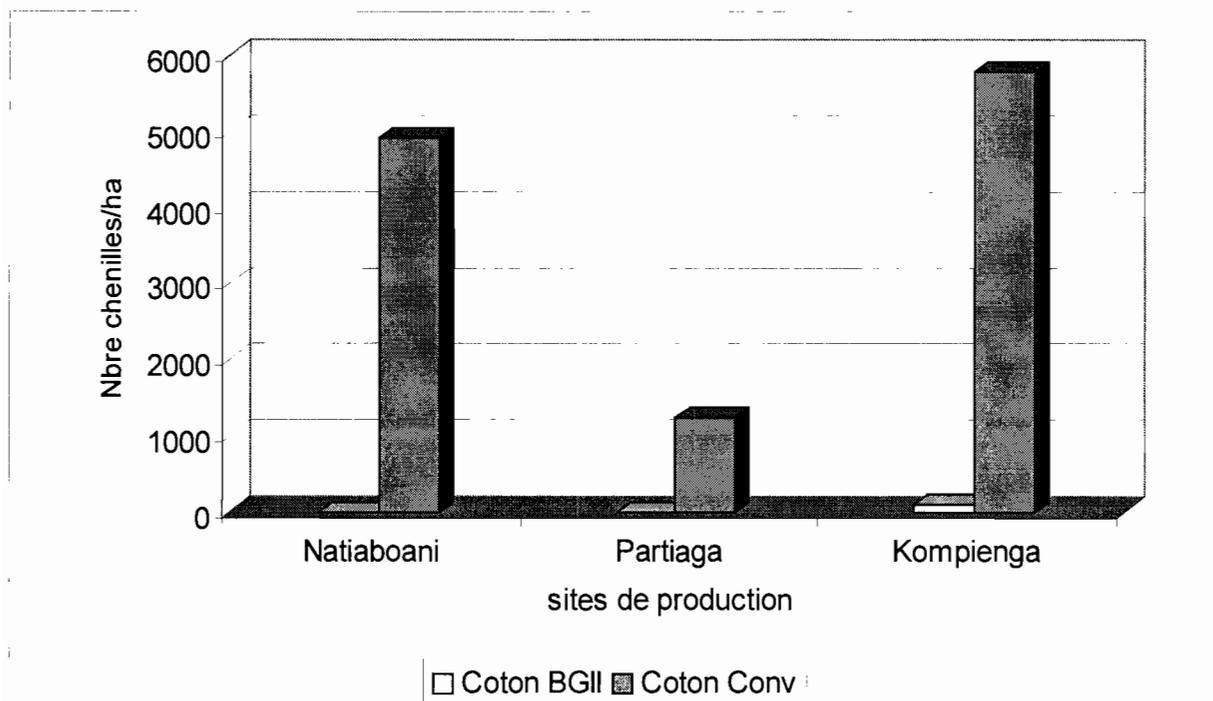


Figure 10: Nombre de chenilles phyllophages par hectare en zone Sofitex sur coton BGII et coton conventionnel.

7.2.1.2 Zone SOCOMA

Les résultats des observations effectuées en zone SOCOMA sont présentés par la figure 11. L'analyse de la figure indique une forte différence numérique du nombre moyen de carpophages par hectare entre les parcelles de coton BGII et conventionnel. Cela montre l'efficacité du gène BGII contre les populations de carpophages. En effet, le nombre moyen de carpophages par hectare est faible sur le site de Kompienga (114,62 chenilles/hectare) et

nul sur les sites de Natiaboani et Partiaga. Par contre, en parcelle de coton conventionnel, on enregistre une forte infestation par les carpophages. En effet, les sites de Kompienga et de Natiaboani ont enregistré les plus fortes infestations avec respectivement 5783,1 chenilles/ha et 4907,82 chenilles/ha. L'infestation est peu élevée sur le site de Partiaga (1250,4



chenilles/ha).

Figure 11: Nombre de chenilles carpophages par hectare en zone Socoma sur coton BGII et coton conventionnel.

L'analyse de la figure 12 présentant les nombres moyens de phyllophages par hectare révèle que l'infestation par les populations larvaires phyllophages est restée nulle sur toutes les parcelles de coton BGII et les parcelles de coton conventionnel pour les sites de Partiaga et Kompienga. Par contre, à Natiaboani en parcelle de coton conventionnel, l'infestation par les phyllophages est un peu élevée (437,64 chenilles/ha).

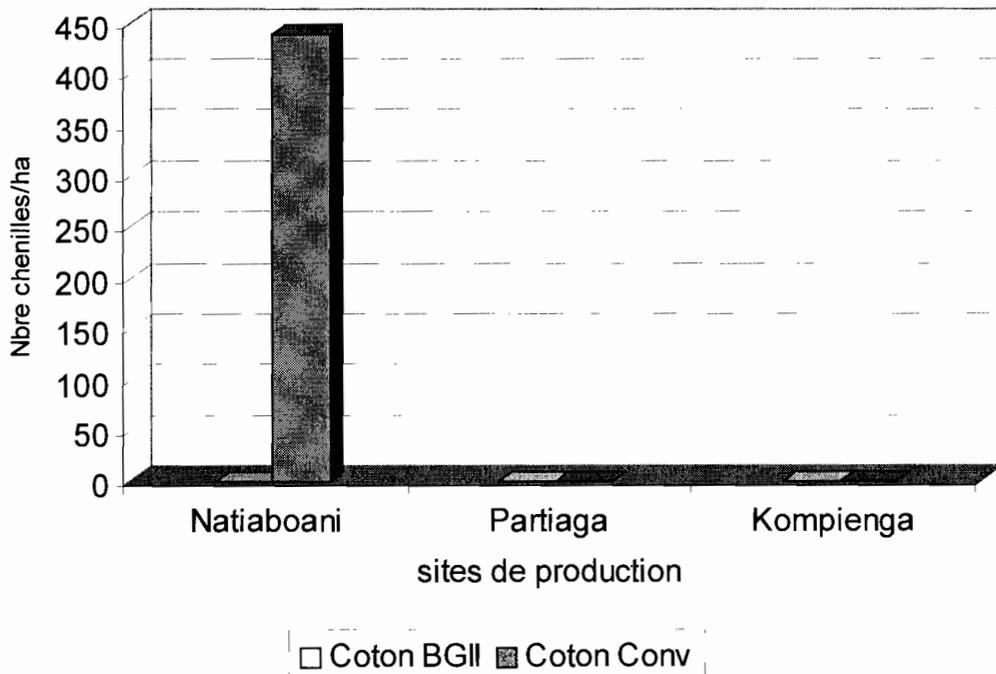


Figure 12: Nombre de chenille phyllophages par hectare en zone Socoma sur coton BGII et coton conventionnel.

7.2.1.3 Zone FASO COTON.

Les résultats des observations effectuées en zone FASO COTON sur les carpophages sont présentés par la figure 13. L'analyse de cette figure indique une forte différence numérique du nombre moyen de carpophages par hectare entre les parcelles de coton BGII et coton de conventionnel. Cela indique l'efficacité du gène BGII contre les ravageurs carpophages dans cette zone de production cotonnière. En effet, l'infestation par les carpophages est nulle sur les parcelles BGII dans les deux sites (Tenkodogo et Pô). En revanche, en parcelle de coton conventionnel, le niveau d'infestation par les carpophages est élevé jusqu'à 1333,76 chenilles/ha à Tenkodogo et 1302,5 chenilles/ha sur le site de Pô.

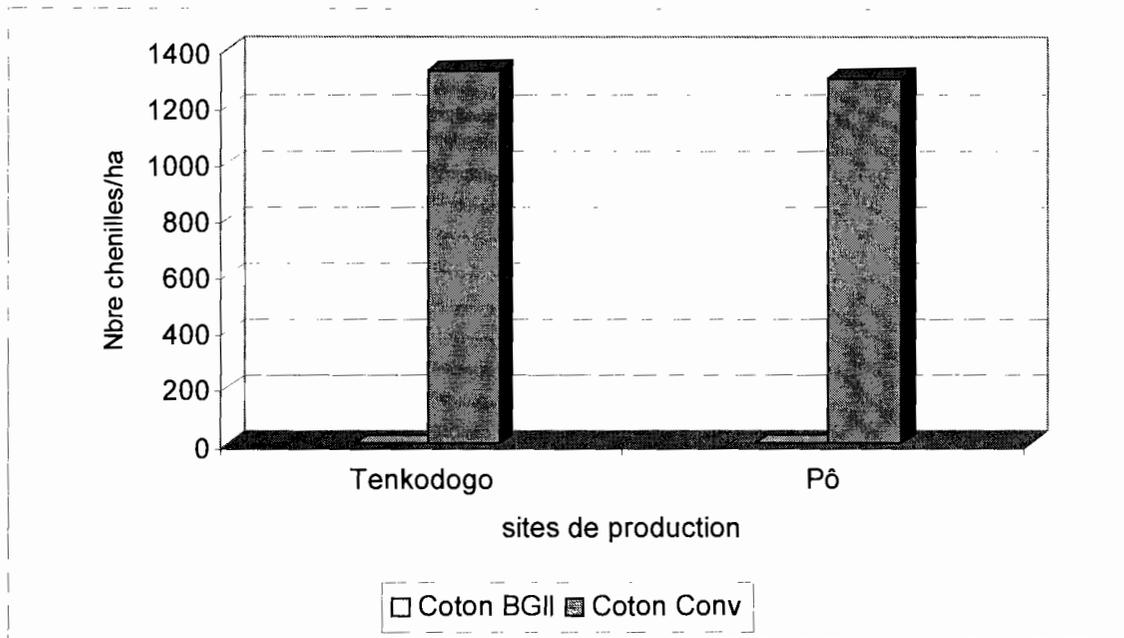


Figure 13: Nombre de chenilles carpophages par hectare en zone Faso coton sur coton BGII et coton conventionnel.

En ce qui concerne les populations larvaires de phyllophages, l'analyse de la figure 14 montre que l'infestation est restée nulle sur le site de Tenkodogo aussi bien en parcelle coton BGII qu'en parcelle coton conventionnel. Par contre, sur le site de Pô, on note la présence de phyllophages en parcelle coton BGII (385,54 chenilles/ha) et en parcelle coton conventionnel (781,5 chenilles/ha).

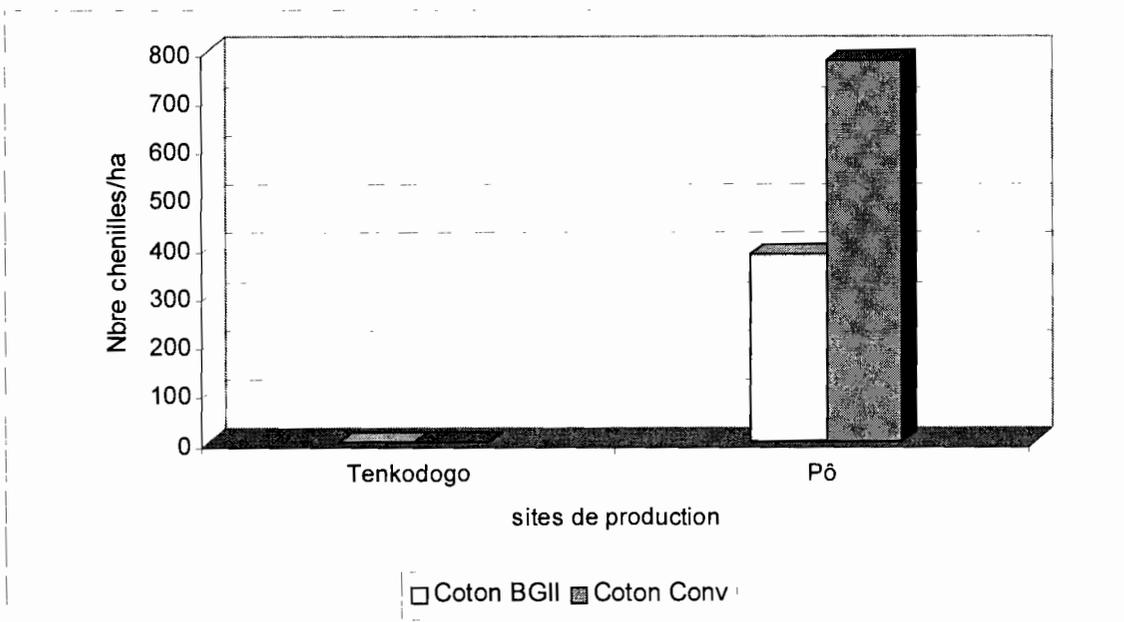


Figure 14: Nombre de chenilles phyllophages par hectare en zone Faso coton sur coton BGII et coton conventionnel.

7.2.2 Rendement en coton graine

7.2.2.1 Zone SOFITEX

Les rendements en coton graine de la zone SOFITEX sont présentés par la figure 15. L'analyse de cette figure indique qu'en dehors des sites de Léna et Bagassi qui ont enregistré des rendements au-delà de la tonne respectivement 1860kg/ha et 1160kg/ha, les rendements sont très faibles dans l'ensemble des sites de la zone SOFITEX.

Toutefois, les rendements des parcelles de coton BGII sont supérieurs à ceux des parcelles de coton conventionnel. En effet, le site de Wéro a enregistré le fort gain de rendement (580kg/ha) avec une augmentation en rendement de 138% par rapport au coton conventionnel. Les sites de Padéma, Léna, Bagassi et Dankuy ont enregistré respectivement des augmentations de rendement de 32%, 16%, 45% et 35% par rapport au rendement coton conventionnel.

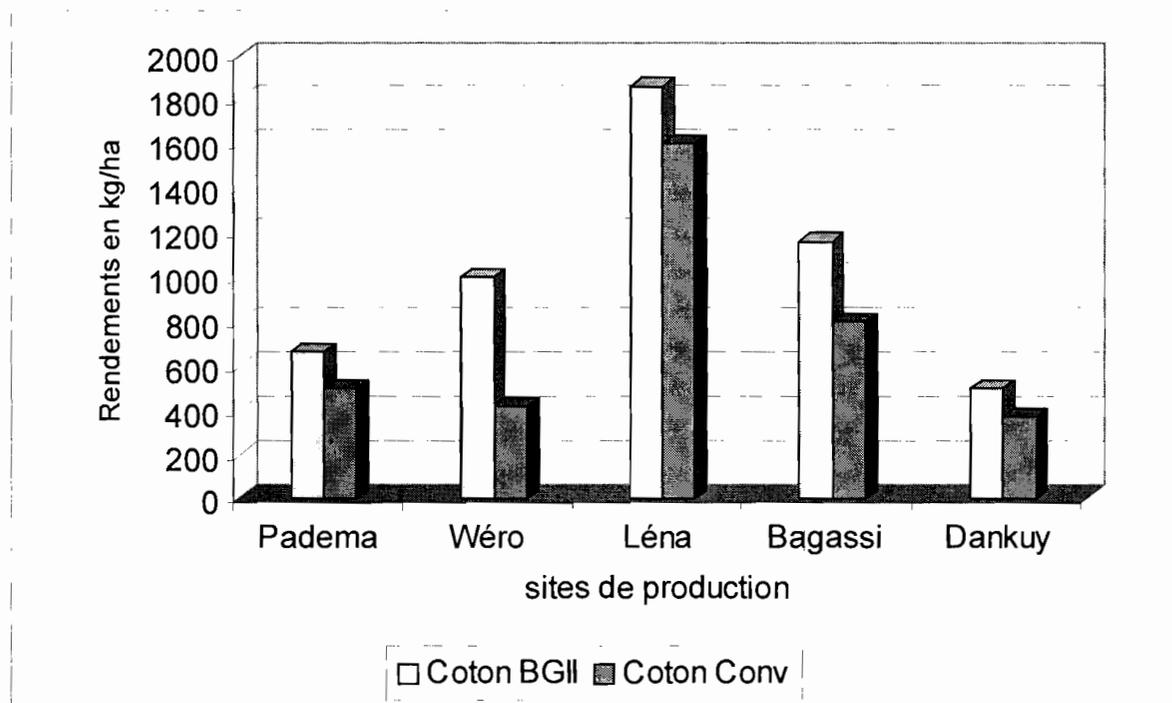


Figure 15: Rendement en kg/ha en zone Sofitex sur coton BGII et coton conventionnel.

7.2.2.2 Zone SOCOMA

L'analyse de la figure 16 présentant les rendements des sites en zone SOCOMA indique que les rendements sont très faibles sur l'ensemble des sites de production. En effet, les rendements sont inférieurs à la tonne par hectare.

Sur tous les sites, les rendements en parcelle coton BGII sont supérieurs à ceux enregistré en parcelle coton conventionnel. En effet, les sites de Natiaboani, Partiaga et Kompienga ont enregistré respectivement des augmentations de rendement de 40,83%, 34,59% et 81,36% par rapport au rendement coton conventionnel.

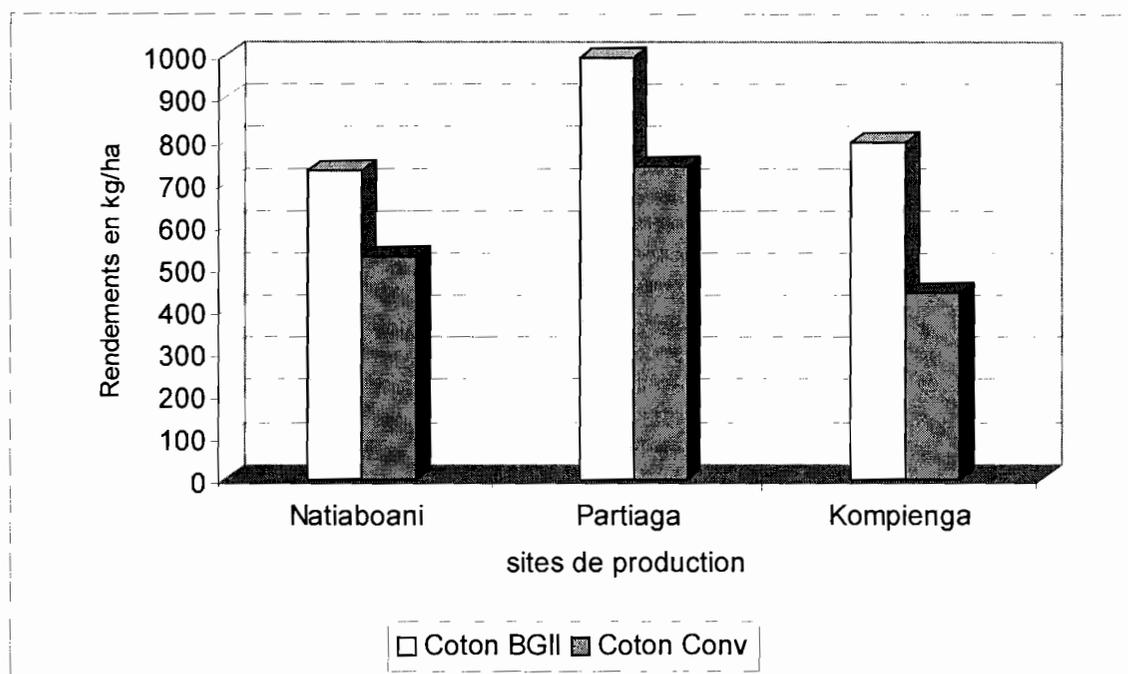


Figure 16: Rendement en kg/ha en zone Socoma sur coton BGII et coton conventionnel.

7.2.2.3 Zone FASO COTON.

Les rendements en coton graine des sites de production de la zone Faso-coton sont présentés par la figure 17. L'analyse de cette figure montre que les rendements en coton graine sont plus élevés en parcelles BGII qu'en parcelle coton conventionnel. En effet, les sites de Tenkodogo et de Pô ont enregistré respectivement des augmentations de rendement de 64,25% et 28,77% par rapport au rendement coton conventionnel. L'augmentation des rendements atteint 64,25% sur le site de Tenkodogo et 28,77% sur celui de Pô.

L'analyse de la figure 17 indique par ailleurs que les rendements sont faibles aussi bien en parcelle conventionnelle qu'en parcelle BGII sur les deux sites.

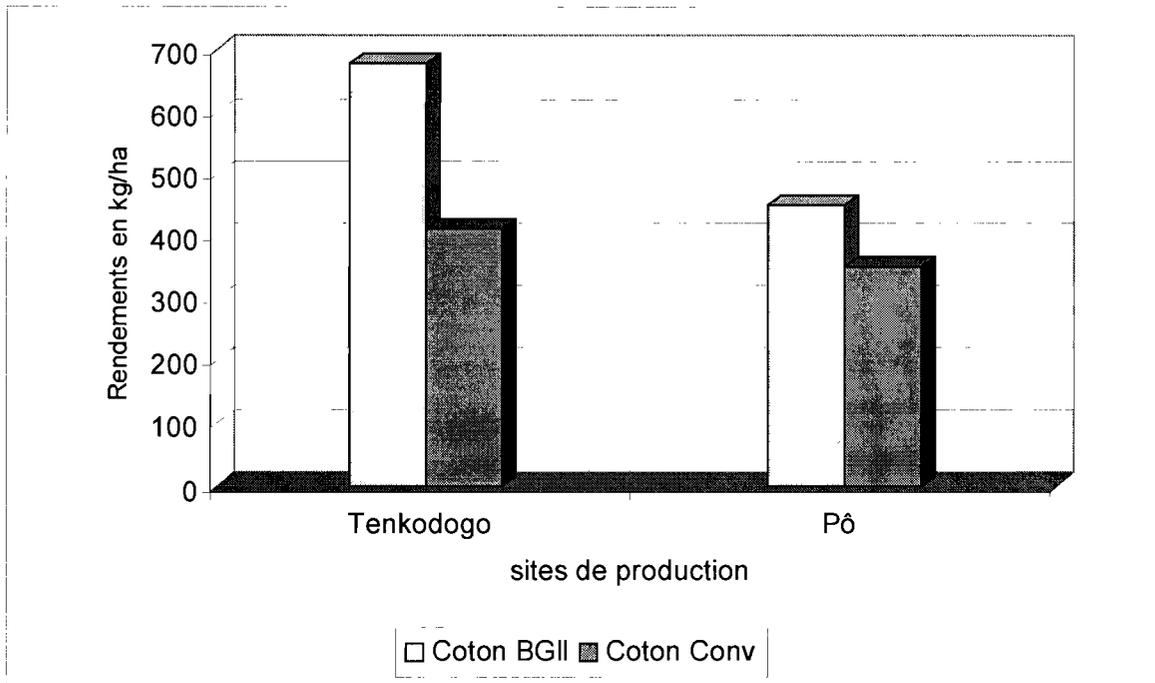


Figure 17: Rendement en kg/ha en zone Faso coton sur coton BGII et coton conventionnel.

7.3. DISCUSSION

Notre étude menée dans les différents sites de production des sociétés cotonnières du Burkina Faso (SOFITEX, SOCOMA et FASO COTON), a permis d'évaluer l'efficacité biologique du cotonnier BOLLGARD II contre les lépidoptères à travers les paramètres tels que le nombre de chenilles carpophages et phyllophages par hectare et le rendement en coton graine par hectare.

Les résultats de l'étude indiquent que le nombre moyen de carpophages à l'hectare est pratiquement nul dans les parcelles de coton transgénique sur tous les sites et dans l'ensemble des zones cotonnières du Burkina Faso. En revanche, le niveau d'infestation est élevé (5450 chenilles/ha par exemple) dans les parcelles de coton conventionnel. Ce résultat similaire a été obtenu par KONGMING *et al.* (2003) avec les variétés transgéniques NuCOTN33B et DP5415 synthétisant la toxine Cry1Ac et les variétés conventionnelles Zhongmian12 et Shiyuan321. La densité de chenilles était significativement plus élevée dans les parcelles de variété conventionnelle. Ces mêmes résultats sont aussi obtenus par GREEN *et al.* (2003); WHITEHOUSE *et al.* (2005). Cela s'explique par la présence du transgène BGII dans les variétés transgéniques (FK37-BGII et STAM 59A-BGII). Le gène BGII synthétise deux delta-endotoxines ; Cry1Ac et Cry2Ab (PERLAK *et al.*, 2001) contre les chenilles carpophages (*H. armigera*, *D. watersi*, *Earias sp*). En effet, les toxines synthétisées par BOLLGARD II grâce au transgène s'avèrent plus efficaces que le programme de traitement phytosanitaire vulgarisé

au Burkina Faso. Cela pourrait s'expliquer par le phénomène de résistance des insectes ravageurs aux produits chimiques révélé dans le pays depuis 1998 (TRAORE *et al.*, 1997). BOLLGARD II assure un bon contrôle des chenilles carpophages parmi lesquelles *H. armigera* qui est le ravageur le plus redoutable du cotonnier (NIBOUCHE, 1994). En Afrique, en Australie et en Asie, cet insecte très polyphage et vorace est la principale cible des plantes transgéniques (KRANTHI *et al.*, 1999). En effet, les protéines toxiques synthétisées par les variétés transgéniques seraient une bonne alternative dans la lutte phytosanitaire du cotonnier contre les déprédateurs qui ont commencé à développer la résistance aux produits chimiques. Pour les chenilles phyllophages, en dehors de *Syllepte derogata* et *Anomis flava* qui ont été bien contrôlé par le gène BGII, *S. littoralis* ne semble pas être contrôlé. En effet, les chenilles phyllophages observées sur les parcelles de coton transgénique sont constituées en majorité de ce ravageur. On note la présence de *S. littoralis* en zone SOFITEX sur parcelles de coton transgénique (312,6 chenilles/ha). Cela pourrait s'expliquer par le fait que ce ravageur est peu sensible aux toxines synthétisées par le cotonnier BOLLGARD II. Ce résultat est similaire à celui du laboratoire d'entomologie du programme coton de l'INERA en 2007.

Dans tous les cas, le nombre de chenilles à l'hectare enregistré aussi bien en parcelle de coton transgénique qu'en parcelle de coton conventionnel est en dessous de 10000 chenilles/ha, seuil critique d'infestation en culture cotonnière selon NIBOUCHE, 1994. En ce qui concerne les rendements en coton graine, l'analyse des graphiques indiquent qu'ils sont très faibles sur tous les sites et dans l'ensemble des zones cotonnières. Cela pourrait s'expliquer par les semis tardifs dans les sites de production en raison de l'installation tardive des pluies cette campagne (2007-2008). En effet, selon VILAIN (1989), les semi-tardifs altèrent la durée de végétation et réduisent le rendement des cultures. L'arrêt des pluies en mi-septembre, période de capsulaison des cotonniers expliquerait aussi les faibles rendements en coton graine enregistrés sur tous les sites et par les mauvaises conditions pluviométriques de la campagne. En effet, les rendements sont inférieurs dans l'ensemble à la tonne de coton graine par hectare. Seuls les sites de Léna et de Bagassi en zone SOFITEX ont enregistré des rendements au delà de la tonne à l'hectare (respectivement de 1860 kg/ha et 1160 kg/ha). Cependant, les rendements en coton graine des variétés transgéniques sont supérieurs à ceux de leur isogénique conventionnelle sur tous les sites. Des résultats similaires ont été obtenus par BOURGOU (2006) avec la variété transgénique américaine (DP50-BGII) et son isogénique. DIALLO (2007) a trouvé les mêmes résultats sur les variétés transgéniques locales (FK37-BGII et STAM59 A-BGII) et leur isogénique conventionnelle. KOMGMING *et al.* (2003) ont remarqué également que les rendements sont significativement plus élevés en

parcelle de coton transgéniques (NuCOT33B) qu'en parcelle de coton conventionnel (Zhongmian13).

Par ailleurs, des augmentations de rendements ont été signalé pour des champs de coton transgénique aux USA (PERLAK *et al.*, 2001), en Chine (HUANG *et al.*, 2002) et en Afrique du sud (ISMAEL *et al.*, 2002). Ces augmentations pourraient être liées à la meilleure protection des capsules (CADOU, 1982 ; TRAXLER et GODOY-AVILA, 2004). En effet, la quantité des protéines toxiques serait suffisamment élevée dans les cotonniers transgéniques pour assurer une bonne protection des organes fructifères contre les ravageurs carpophages. Ainsi, selon GREENPLATE *et al.* (2003), chez BOLLGARD II qui synthétise simultanément les deux toxines, le niveau optimal de synthèse est de 10,2 µg/g de poids sec de feuille pour Cry1Ac et 542,6 µg/g pour le Cry2Ab. Ces concentrations correspondent à 0,041 µg/cm² de feuille pour le Cry1Ac et 2,17 µg/cm² pour le Cry2Ab (KRANTHI et RUSSELL, 2004). Le niveau d'expression du Cry1Ac et Cry2Ab par le cotonnier transgénique est très supérieur aux valeurs des CL50 que nous avons trouvées au laboratoire sur les larves néonates de *H. armigera*. En effet, les valeurs des CL50 obtenus au laboratoire sont respectivement de 0,005 - 0,007 µg/ cm² de milieu et 0,337 - 0,403 µg/ cm² de milieu pour Cry1Ac et Cry2Ab. Notre étude sur l'évaluation de la toxicité des toxines (Cry1Ac et Cry2Ab) sur les larves néonates de *H. armigera* a montré une forte sensibilité de ces larves aux toxines en raison des valeurs de CL50 faibles et identiques à celle de la souche de référence. Ces résultats similaires ont été révélés en milieu réel sur parcelle de coton transgénique où on note un contrôle absolu des carpophages en particulier le plus redoutable, *H. armigera*.

CONCLUSION PARTIELLE

L'étude sur l'évaluation de l'efficacité biologique du cotonnier BOLLGARD II vis-à-vis des lépidoptères en milieu réel a montré que les populations des ravageurs carpophages sont bien contrôlées par les toxines synthétisées par BOLLGARD II. Cela vient confirmer les résultats obtenus au laboratoire sur les souches de *H. armigera*. Cependant, le phyllophage *S. littoralis* ne semble pas bien contrôlé par ce cotonnier transgénique. En effet, il serait important de poursuivre les travaux sur l'efficacité des toxines contre ce ravageur.

Bien que les rendements soient faibles dans tous les sites d'études, ils sont plus élevés en parcelles de coton transgénique avec des gains de rendement atteignant 138% des rendements en parcelle de coton conventionnel.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Des tests de sensibilité de *H. armigera* sont réalisés chaque campagne agricole avec les pesticides chimiques utilisés dans le programme de traitement phytosanitaire du cotonnier au Burkina Faso afin de suivre la sensibilité de cette noctuelle. La première partie de notre étude a porté sur la détermination du niveau de sensibilité à la deltaméthrine de deux souches de terrain récoltées à Datomo et à Kompienga. Le niveau de résistance de ces souches de terrain a été comparé à celui de la souche sensible de référence BK77 tel que rapporté par DRABO (2005). Les résultats ont montré que les deux souches de terrain présentent un certain niveau de résistance à la deltaméthrine mais seule la souche de Datomo est jugée statistiquement plus résistante que la souche sensible BK77. Pour faire face à ces problèmes de résistance du ravageur aux produits chimiques incriminés, d'autres produits alternatifs ont été intégrés dans le programme de traitement du cotonnier, mais leur utilisation n'a pas permis d'obtenir une baisse sensible du niveau de résistance de *H. armigera*.

Face à ces problèmes de résistance des insectes ravageurs du cotonnier aux produits chimiques utilisés, d'autres alternatives ont été développées dans de nombreux pays producteurs du coton. Ainsi, le cotonnier transgénique produisant des delta-endotoxines de la bactérie *B. thuringiensis* est utilisé comme alternative dans la protection phytosanitaire contre les insectes ravageurs du cotonnier.

Les résultats des tests montrent une sensibilité élevée des néonates de *H. armigera* aux toxines Cry1Ac et Cry2Ab, étant donné que les premiers stades de la souche de référence présentent le même niveau de sensibilité à ces toxines. Les deux toxines sont donc très efficaces vis-à-vis des larves néonates de *H. armigera* dans les conditions de laboratoire.

Afin d'évaluer l'efficacité biologique du cotonnier BOLLGARD II vis-à-vis des insectes ravageurs en milieu réel, des tests de démonstration ont été mis en place par les trois sociétés cotonnières du Burkina Faso.

La troisième partie de l'étude a montré que les variétés transgéniques présentent une meilleure protection contre les carpophages et les phyllophages. Cependant, le phyllophage, *S. littoralis* présente un niveau de résistance au cotonnier BOLLGARD II par contre le ravageur, *H. armigera* a été parfaitement contrôlé par cette plante.

Les rendements sont restés faibles dans l'ensemble des zones cotonnières. Cependant, ils sont plus élevés en parcelles de coton transgénique avec des gains de rendement allant de 16% à 81% selon les zones.

Notre étude a montré que le cotonnier transgénique BOLLGARD II serait une meilleure alternative de protection phytosanitaire contre les insectes ravageurs en comparaison à l'utilisation des produits chimiques. En effet, les toxines synthétisées par la variété transgénique sont efficaces vis-à-vis des chenilles ravageuses, en particulier le plus redoutable, *H. armigera*. Si les souches de terrain de *H. armigera* étudiées ont présenté un certain niveau de résistance à la deltaméthrine qui est un produit chimique, elles ont été très sensibles aux toxines synthétisées par le cotonnier transgénique BOLLGARD II. Néanmoins, compte tenu du nombre réduit de souches utilisées au laboratoire, on ne peut pas généraliser les résultats de l'étude. Ainsi, d'autres études pourraient être menées avec un nombre plus élevé de souches de *H. armigera* récolté dans toutes les zones cotonnières. En outre, il serait intéressant de continuer les essais de démonstration du cotonnier BOLLGARD II en milieu réel durant la campagne prochaine (2008-2009) afin de confirmer son efficacité biologique vis-à-vis des insectes ravageurs.

Bien que le ravageur, *S. littoralis* s'avérant moins sensible aux toxines, n'étant pas le plus redoutable en culture cotonnière au Burkina Faso, il serait important et judicieux de porter un regard sérieux sur ce ravageur sur l'étendue de toutes les zones cotonnières. Dans l'objectif d'un éventuel développement du cotonnier transgénique au Burkina Faso, *S. littoralis* devrait faire l'objet d'un suivi particulier pour éviter l'apparition de la résistance aux toxines de *B. thuringiensis*. Pour cela, des études relatives au déterminisme génétique de la résistance de *S. littoralis* aux toxines Cry1Ac et Cry2Ab pourraient être entreprises dans l'optique de la mise en place des stratégies efficaces de gestion de la résistance aux toxines. Ce qui pourrait éventuellement passer par l'ajout d'une autre toxine qui contrôlerait mieux ce ravageur.

Pour ce qui concerne *H. armigera*, bien qu'il soit parfaitement contrôlé par les toxines, il serait intéressant de rester vigilant à l'égard de ce ravageur et d'entreprendre des études biotechnologiques au laboratoire afin de concevoir des stratégies durables d'utilisation des plantes transgéniques au Burkina Faso.

Pour assurer une bonne comparaison des niveaux de sensibilité de la noctuelle aux toxines de *B. thuringiensis* au plan international, il serait aussi indispensable que les protocoles expérimentaux mis en place soient homogénéisés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AHMAD M., 2004. Current IPM / IRM programmes for *Helicoverpa armigera* (Hübner) in Pakistan. Atelier Projet GERICO du 06 au 10 Décembre 2004. (CD-R)

AHMAD M., ARIF M.I. & ATTIQUE M.R., 1997. Pyrethroid resistance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. *Bulletin of Entomological Research*, **87**, 343-347.

AHMAD M. & Mc CAFFERY A. R., 1988. Resistance to insecticide in a Thailand strain of *Heliothis armigera*. *Journal of Economic Entomology*, **81**: 45-47.

AKHURST R., JAMES B. & BIRD L., 2001. Resistance to Inguard cotton by the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). CSIRO. *Entomology*. Canberra. 5p.

ALAUX T., 1994. *Prévention de la résistance aux pyréthrinoïdes chez Helicoverpa armigera (Hübner, 1808) (Lepidoptera : Noctuidae) en Côte d'Ivoire.* Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 133 p.

BEYO J., BREVAULT T., NIBOUCHE S. & ASFOM P., 2002. Sensibilité aux insecticides pyréthrinoïdes chez *Helicoverpa armigera* (Hübner) au Nord Cameroun. Acte de l'atelier sur la résistance des insectes aux insecticides en Afrique de l'Ouest et du Centre, Mars 2002, Maroua, Cameroun. Prasac, N'Djamena, Tchad, 2, 31-43.

BOURGOU L., 2006. Caractérisation du cotonnier transgénique Bollgard II et évaluation du flux du transgène à la station de Farako-Bâ. Mémoire d'ingénieur, Institut du Développement Rural / Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, 52 p.

BRICKLE D. S., TURNIPSEED S. G. & SULLIVAN M. J., 2001. Efficacy of insecticides of different chemistries against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in transgenic *Bacillus thuringiensis* and conventional cotton. *Journal of Economic Entomology*, **94** (1), 86-92.

BUES R., KOUASSI A.S. & TOUBON J.F., 2004. La noctuelle *Helicoverpa armigera* (Hübner) : Cycle évolutif, dégâts en France 2003 et résistance aux insecticides. *Phytoma- La Défense des végétaux*, **568**, 29-33.

CADOU J., 1982. Niveau de protection phytosanitaire et rendement en culture cotonnière pluviale au Mali. *Cot. Fib. Trop.*, **37**, (4) 317-325.

CARON H., 1991. Un exemple de résistance aux insecticides : *Helicoverpa spp* dans les agrosystèmes cotonniers. Mémoire de stage, IRCT / CIRAD Montpellier, 32 p.

CALAN P., 1966. Le cotonnier et l'industrie cotonnière. Presse Universitaire de France, 126p.

CASTELLA J.C., 1996. Stratégies de lutttes contre les insectes ravageurs dans les systèmes de cultures cotonnières en Thaïlande : logique actuelle et proposition pour une gestion durable. IRCT, éd. Paris, France 282 p.

CAUQUIL J., 2000. Maladies et ravageurs du cotonnier en Afrique du Sud du Sahara. *Coton et Fibres Tropicales*. IRCT-CIRAD, 62 p.

CAUQUIL J., 1986. Maladies et ravageurs du cotonnier en Afrique au Sud du Sahara. *Coton et Fibre Tropicales*. IRCT-CIRAD, 92 p.

CHITKOWSKI R. L., TURNIPSEED S. G., SULLIVAN M. J. & BRIDGES W. C., 2003. Field and laboratory evaluations of transgenic cottons expressing one or two *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* Berliner proteins for management of Noctuidae (Lepidoptera) pests. *Journal of Economic Entomology*, **03**, 0755-0762.

CRICKMORE N., ZEIGLER D.R., FEITELSON J., SCHEPF E., VAN J., LERECLUS D., BAUM J. & DEAN D. H., 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **62**, 807-813.

COUILLOUD R. & GIRET M., 1980. Multiplication de *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae) : Amelioration possible grâce à l'adoption d'une technique d'élevage en groupe des chenilles. *Coton et Fibres Tropicales*, **35**, 217-224.

COWLES E. A., YUNOVITZ H., CHARLES J.F. & GILL S.S. 1995. Comparison of toxin overlay and solid-phase binding assays to identify diverse Cry I A(c) toxin-binding proteins in *Heliothis virescens* midgut. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**: 2738-2744.

DIALLO B., 2007. Caractérisation des variétés de coton transgéniques locales. Rapport de stage, Centre Agricole Polyvalent de Matourkou, 45 p.

DJIHINTO C.A., 2000. Résistance aux pyréthriinoïdes observées chez *Helicoverpa armigera* (Hübner) : Ravageur du cotonnier, au Nord du Bénin. Mémoire de DEA, option : Protection des plantes et environnement, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier, France, 33p.

DRABO A., 2005. Evaluation de l'efficacité de deux delta-endotoxines de *Bacillus thuringiensis* (Cry1Ac et Cry2Ab) synthétisées par le cotonnier transgénique (coton Bt) dans la gestion de la résistance de *Helicoverpa armigera* (Hübner) à la deltaméthrine, Institut du Développement Rural / Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, 59 p.

FRYXELL P.A., 1984. Taxonomy and germplasm resources. Cotton, Eds., American Society of Agronomy, Madison, USA, 27-57.

GIBAN M., 2004. Les plantes transgéniques résistantes aux insectes : caractéristiques des variétés actuelles. Atelier Projet GERICO du 06 au 10 décembre 2004. (CD-R)

GIRET M. & COUILLOU R., 1982. Effet de la température sur le stade nymphal d'*Heliothis armigera* (Hübner) (Lépidoptère : Noctuidae) : technique de conservation par arrêt de développement à 15°C. *Coton et Fibres Tropicales*, **37**, 271-276.

GREEN W.M., M.C de BILLOT, T. JOFFE, L. VAN STADEN, A. BENNET-NEL, C.L.N. du TOIT & L. VAN DER WESTHUIZEN, 2003. Indigenous plants and weeds on the Makhathini Flats as refuge hosts to maintain bollworm population susceptibility to transgenic cotton (BollgardTM). *African Entomology*, **11** (1): 21-29.

GREENPLATE J. T., MULLINS J. W., PENN S. R., DAHM A., REICH B. J. & SHAPPLEY Z. W., 2003. Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: relative toxin contribution, toxin interaction and resistance management. *J. App. Ent.*, **127**, 340-347.

GRY J., 1972. Techniques d'essais insecticides par traitement individuel et détermination des DL50. PG / Orsay, France, Fasc n°2 et 3.

GUILLET, 1997. La détection de la résistance aux insecticides chez les moustiques. Actes des journées coton du CIRAD-CA, 132-137.

GUINNING R.V., MOORES G.D. & DEVONSHIRE A.L., 1999. Esterase's inhibitors synergise the toxicity of pyrethroids in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **63**, 50-62.

GUINNING R. V., MOORES G. D. & DEVONSHIRE A. L., 1996. Esterase and fenvalerate resistance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, **54** (1), 12-23.

HECKEL D.G., GAHAN L.J., LIU Y-B. & TABASHNIK B.E., 1999. Genetic mapping of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in diamondback moth using biphasic linkage analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci*, **96**, 8373-8377.

HECKEL D.J., GAHAN L.J., DALY J.C. & TROWELL S., 1997. Genetics of *Heliothis* and *Helicoverpa* resistance to chemical insecticides and to *Bacillus thuringiensis*. *Pest. Sci.*, **51**, 251-258.

HEMA S.A.O., 2004. Contribution à la caractérisation biochimique de la résistance de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera, Noctuidae) au Burkina Faso. Mémoire de DEA. Ecole Doctorale Régionale de Biotechnologie, Université de Ouagadougou, 37 p.

HÖFTE H. & WHITELEY H.R., 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological. Review*, **53**, 242-252.

HUANG J., HUR., FAN C., PRAY C.E. & ROZELLE S., 2002. *Bt* cotton benefits, costs and impacts in China. *AgBioForum*, **5** (4), 153-166. Available on the World Wide Web: [http:// www.agbioforum.org](http://www.agbioforum.org) consulté le 10/11/2007.

ISMAEL Y., BENNETT R. & MORSES., 2002. Benefits from *Bt* cotton use by smallholder farmers in South Africa. *AgbioForum*, **5** (1), 1-5. Available on the World Wide Web: <http:// www.agbioforum.org> consulté le 10/11/2007.

KARIM S., RIAZUDDIN S. & DEAN D. H., 1999. Interaction of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins with midgut brush border membrane vesicles of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **2**, 153-162.

KING A.B.S., 1994. *Heliothis / Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). Insect pest of cotton. CAB International, Wallingford UK, 39-106.

KONGMING W. & YUYAN G., 2004. Changes in susceptibility to conventional insecticides of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.* **60**: 680-684.

KONGMING W., YUYUAN G., NAN L., JOHN T.G. & RANDY D., 2003. Efficacy of transgenic cotton containing a Cry1Ac gene from *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Northern China. *Journal of Economic Entomology*, **96** (4): 1322-1328.

KRANTHI K.R. & RUSSELL D., 2004. Resistance to *Bt* in India *Helicoverpa armigera* (Hübner). Atelier Projet GERICO du 06 au 10 Décembre 2004.(CD-R)

KRANTHI K.R., RUSSELL D., WANJARI R., KHERDEM & MUNJES S., 2002. In season-changes resistance to *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India. *Journal of Economic Entomology*, **143** (2), 1-24.

KRANTHI K.R., JADHAV D., WANJARI R., KRANTHI S. & RUSSELL D., 2001. Pyrethroid resistance and mechanisms of resistance in field strains of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, **94**, (1), 253-365.

KRANTHI S., KRANTHI K. R. & LAVHE N. V., 1999. Baseline toxicity of Cry1A toxins to the Spotted bollworm, *Earias vitella*. *F. Crop. Protection*, **18**, 551-555.

KUMAR R., 1991. La lutte contre les insectes ravageurs. CTA – Karthala. 310p.

LEE M.K., RAJAMOHAN F., GOULD F. & DEAN D.H. 1995. Resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry I A delta-endotoxins in laboratory-selected *Heliothis virescens* strain is related to receptor alteration. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**: 3836-3842.

LE TAN-DUMANOIS V., 1994. *Défense du cotonnier contre les insectes ravageurs : étude d'une stratégie basée sur l'expression conjointe d'inhibiteur de protéases et de toxines de Bacillus thuringiensis dans la plante.* Thèse de doctorat, Université Paris-Sud, Centre d'Orsay 91 p.

LI J., CAROLL J. & ELLAR D.J., 1991. Crystal structure of insecticidal delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*. *Nature*, **353**, 815-821.

MAHON R., OLSEN K., YOUNG S., GARSIA K. & LAWRENCE L., 2004. Resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in *Helicoverpa armigera* (Hübner). CSIRO. *Entomology*, **24**, 1-6.

MARTIN T., YOBO-TITIAHY P.A., OCHOU G.O. & NIERE K., 2000. Suivi de la résistance aux pyréthrinoïdes de *Helicoverpa armigera* (Hübner) dans la zone cotonnière de la Côte d'Ivoire. Rapport de synthèse PR-PRAO, 1999-2000, 169-170.

Mc GAUGHEY W.H., 1985. Insect resistance to the biological insecticides *Bacillus thuringiensis*. Science, USA, 229, 193-195.

McCAFFERY A.R. & AHMAD M., 1988. Resistance to insecticides in Thailand strains of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, **81**, (1), 45-48.

MENOZZI P., VAISSAYRE M. & VASSAL J.M., 2002. La résistance des insectes aux insecticides neurotoxiques. Acte de l'atelier sur la résistance des insectes aux insecticides en Afrique de l'Ouest et du centre, Mars 2002, Maroua, Cameroun. Prasac, N'Djamena. Tchad, 2, 5-17.

NIBOUCHE., 1994. *Cycle évolutif de Helicoverpa armigera (Hübner) (Lépidoptère, Noctuidae) dans l'ouest du Burkina Faso : biologie, écologie et variabilité géographique des populations.* Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 130 p.

NIBOUCHE S., 1999. *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae, Heliethinae). Les déprédateurs du cotonnier en Afrique Tropicale et dans le reste du monde n°12, CIRAD-CA, Paris, France, 49p.

OLSEN K.M. & DALY J.C., 2000. Plant-toxin inter-actions in transgenic Bt Cotton and their effect on mortality of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, **93** (4), 1293-1299.

PARRY G., 1982. Le cotonnier et ses produits. Technique agricole et production tropicales. Maisonneuve et Larose, Paris, France, 502 p.

PERLAK F., OPPENHUIZEN M., GUSTAFASON K., VOTH R., SIVASUPRAMANIAN S. & HEERING D., 2001. Development and commercial use of Bollgard^R cotton in USA-early promises versus today's reality. *Plant Journal*, **27**, 489-502.

PINCHARD V., 1993. Etude des mécanismes de résistance chez un ravageur du cotonnier : *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera, Noctuidea) 187 p.

PRUDENT P., KATARY A., DJIHINTO A. & PATHINVO E., 2000. Résultats des études conduites sur la résistance de *Helicoverpa armigera* (Hübner) aux pyréthrinoïdes au Bénin. Rapport de synthèse. PR-PRAO, 1999-2000, 2-27.

PROGRAMME COTON, 2007. –Rapport annuel campagne 2006-2007; 58p.

RODRIGUEZ M., ORTIZ E., BISSET J.A., HEMINGWAY J. & SALEDO E., 1993. Changes in malathion and pyrethroid resistance after cypermethrin selection of *Culex quinquefasciatus* field population of Cuba. *Medical and Veterinary Entomology*, **7**, 117-121.

RUSSELL D., KRANTHI K.R., REGUPATHY A. & AHMAD M., 2004. Current insecticide resistance management programme for *Helicoverpa armigera* (Hübner) in India. Atelier Projet GERICO du 06 au 10 Décembre 2004. (CD-R)

SOU S., 2004. Programme de protection phytosanitaire pour la gestion de la résistance des ravageurs en culture cotonnière au Burkina Faso. Rapport de la 6^{ème} réunion-bilan du Projet Régional de Prévention et de gestion de la Résistance de *Helicoverpa armigera* (Hübner) aux pyréthrinoïdes en Afrique de l'Ouest (PR-PRAO), 51-57.

STIMAMIGLIO F. & CHABERT F., 2004. Utilisation efficace et sans risque des produits phytosanitaires. Programme de formation des agents d'encadrement de la compagnie cotonnière, avril 2004, 70 p.

TABASHNIK B. E., 2006. Premier cas de résistance d'un insecte à l'insecticide d'un coton O.G.M. Edicom, 2006. Available on the World Wide Web: http://www.edicom.ch/fr/news/environnement/1187_4907969.html. Consulté le 27-02-2008.

TABASHNIK B.E., CUSHING N.L., FINSON N. & JOHNSON M.W., 1990. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, **83**, 1671-1676.

THOMAS W.E. & ELLAR D.J., 1983. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* var. israeliensis insecticidal delta-endotoxin. *FEBS Letters*, **154**, 362-368.

TOGUEBAYE B.S. & COUILLOU R., 1982. Etude descriptive de l'œuf et des stades larvaires d'*Heliothis armigera* (Hübner; 1808) (Lepidoptera: Noctuidea) en microscope électronique à balayage. *Coton et Fibres Tropicales*, **37**, 197-209.

TRAORE D., 1997. La résistance des insectes aux pesticides : une réalité à prendre en compte dans la mise en place d'une lutte intégrée en culture cotonnière. *Publications scientifiques des chercheurs*, 241-251.

TRAXLER G. & GODOY-AVILA S., 2004. Transgenic cotton in Mexico. *AgBioForum*, **7** (1 and 2), 57-62. Available on the World Wide Web: <http://www.agbioforum.org> consulté le 21/02/2008.

ULRICHS C., 2002. Tomato fruitworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) Lepidoptera: Noctuidea. Rapport de Stage, 10 p.

URAICHUEN S., 2002. *Etude comparative de la toxicité et des sites récepteurs des delta-endotoxines de Bacillus thuringiensis (Berliner) sur deux ravageurs du cotonnier : Helicoverpa armigera (Hübner) et Heliothis virescens (Fabricius) : relation avec la résistance.* Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 149 p.

VAISSAYRE M., 2002. Le contrôle chimique de la noctuelle *Helicoverpa armigera* (Hübner) peut-il être durable ? Acte de l'atelier sur la résistance des insectes aux insecticides en Afrique de l'ouest et du centre, Mars 2002, Maroua, Cameroun. Prasac, N'Djamena, Tchad, **2**, 19-30.

VAISSAYRE M. & CAUQUIL J., 2000. Principaux ravageurs et maladies du cotonnier en Afrique au Sud du Sahara. CIRAD-CTA, 59 p.

VASSAL J. M & MENOZZI P., 2006. Dynamique et gestion des flux de gènes de résistance aux insecticides. Centre de Biologie et Gestion des Populations. Available on the World Wide Web: [http:// www.agro-montpellier.fr](http://www.agro-montpellier.fr) consulté le 25/10/2007.

VASSAL J.M., 2004. *Bacillus thuringiensis*: mode d'action et résistance. Atelier Projet GERICO du 06 au 10 Décembre 2004. (CD-R)

VILAIN M., 1989. La production végétale. La maîtrise technique de la production. Vol.2, Technique et Documentation. Lavoisier, 361 p.

VOGNAN G., OUEDRAOGO M. & OUEDRAOGO S., 2002. Description de la filière cotonnière au Burkina Faso. Rapport intermédiaire, IN.E.R.A., 34 p.

WHITEHOUSE M.E.A., WILSON L.J., & FITT G.P., 2005. A comparison of arthropod communities in transgenic *Bt* and conventional cotton in Australia. *Environ. Entomol.* **34** (5) : 1224-1241.

YARA A., 1999. Prévention et gestion de la résistance de *Helicoverpa armigera* (Hübner) aux pyréthrinoïdes. Mémoire d'ingénieur, Institut du développement Rural / Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, 52 p.

YOUNG J.M., CHILCOTT C.N., BROADWELL A., WIGLEY P.J. & LECADET M.M., 1998. Identification of serovars of *Bacillus thuringiensis* Berliner 1915 in New Zeland. *New Zeland Journal of crop and Horticultural Science*, **26**, 63-68.

ANNEXES

ANNEXE 1 : NOUVELLE CLASSIFICATION DE CERTAINES DELTA-ENDOTOXINES DE *BACILLUS THURINGIENSIS*.

Nom	Ancien nom	Taille (Da)	Activité
Cry1Aa1	Cry IA(a)	133500	Lépidoptères
Cry1Ab1	Cry IA(b)	130615	Lépidoptères
Cry1Ac1	Cry IA(c)	131000	Lépidoptères
Cry1Ad1	Cry IA(d)	131000	Lépidoptères
Cry1Ae1	Cry IA(e)	131000	Lépidoptères
Cry1Ba1	Cry IB	136500	Lép./Coléopt
Cry1Bb1	ET5	136500	Lépidoptères
Cry1Bc1	Cry IB(c)	138000	Lépidoptères
Cry1Ca1	Cry IC	132000	Lépidoptères
Cry1Cb1	Cry IC(b)	130500	Lépidoptères
Cry1Da1	Cry ID	129500	Lépidoptères
Cry1Db1	PrtB	129000	Inconnue
Cry1Ea1	Cry IE	133236	Lépidoptères
Cry1Eb1	Cry IB(b)	130500	Lépidoptères
Cry1Fa1	Cry IF	130500	Lépidoptères
Cry1Fb1	PrtD	131000	Inconnue
Cry1Ga1	PrtA	129500	Inconnue
Cry1Ha1	PrtC	130000	Inconnue
Cry1Ia1	Cry V	81200	Lép./Coléopt
Cry1Ib1	Cry V	80000	Inconnue
Cry1Ja1	ET4	129500	Lépidoptères
Cry1Jb1	ET1	131000	Lépidoptères
Cry1Ka1	Cry I	-	Inconnue
Cry2Aa1	Cry IIA	70500	Lép./Coléopt
Cry2Ab1	Cry IIB	70500	Lépidoptères
Cry2Ac1	Cry IIC	69000	Lépidoptères
Cry3Aa1	Cry IIIA	72500	Coléoptères
Cry3Ba1	Cry IIIB	74300	Coléoptères
Cry3Bb1	Cry IIIBb	72500	Coléoptères
Cry3Ca1	Cry IIID	73000	Coléoptères
Cry4Aa1	Cry IVA	134545	Diptères
Cry4Ba1	Cry IVB	126000	Diptères
Cry5Aa1	Cry VA(a)	153500	Nématodes
Cry5Ab1	Cry VA(b)	143000	Nématodes
Cry5Ba1	PS86Q3	139000	Coléoptères
Cry6Aa1	Cry VIA	52500	Nématodes
Cry6Ba1	Cry VIB	44000	Nématodes
Cry7Aa1	Cry IIIC	126500	Coléoptères
Cry7Ba1	Cry IIIC(b)	126500	Coléoptères
Cry8Aa1	Cry IIIE	128500	Coléoptères
Cry8Ba1	Cry IIIG	130000	Coléoptères
Cry8Ca1	Cry IIIF	127500	Coléoptères
Cry9Aa1	Cry IIG	128500	Lépidoptères
Cry9Ba1	Cry IIX	127000	Lépidoptères
Cry9Ca1	Cry IIH	129800	Lépidoptères
Cry10Aa1	Cry IVC	75000	Diptères
Cry11Aa1	Cry IVD	71500	Diptères
Cry11Ba1	Jeg80	-	Diptères
Cry12Aa1	Cry VIB	139500	Nématodes
Cry13Aa1	Cry VC	89000	Nématodes
Cry14Aa1	Cry VD	132800	Coléoptères
Cry15Aa1	-	38000	Lépidoptères
Cyt1Aa1	CytA	27340	

Source : CRICKMORE *et al.* (1998)

ANNEXE 2 : COMPOSITION ET PREPARATION DU MILIEU NUTRITIF

Composition du milieu artificiel

Fractions	Ingrédients	Quantité
A	Eau distillée	2000 ml
	Agar-agar	32,5 g
	Acide sorbique	3 g
	Huile sans cholestérol	2 cuillerées à café
B	Acide ascorbique	25 g
	Acyclovir	1 comprimé
	Rimactan	0,1 g
C	Farine de maïs	285 g
	Levure de bière	75 g
	Germe de blé	75 g

Préparation du milieu nutritif

On dissout la fraction B dans de l'eau. Les deux cuillerées à café de l'huile sans cholestérol et 1000 ml d'eau distillée sont chauffées jusqu'à 55°C. A partir de cette température, on ajoute l'agar-agar et l'acide sorbique tout en agitant jusqu'à 90°C. Ce mélange est ensuite refroidi jusqu'à 45°C, puis on y ajoute la fraction B dissoute auparavant et la fraction C préalablement mélangée avec le reste de l'eau distillée. On homogénéise le mélange ainsi constitué à l'aide d'un mixeur électrique puis le milieu est coulé dans des plateaux rectangulaires et mis pendant une (1) heure à l'U.V afin de le stériliser. Le milieu ainsi préparé peut être conservé au réfrigérateur pour usage.

ANNEXE 3 : PREPARATION DES SOLUTIONS DE DESINFECTION DES ŒUFS

Il y'a deux (2) solutions de désinfection des œufs, utilisées l'une après l'autre pour lutter contre les viroses et autres pathogènes.

● Solution d'eau de javel (2 litres) :

- 2 litres d'eau distillée,
- 60 cc d'eau de javel à 12° ch
- 1 cuillère à café de teepol.

L'ensemble est bien mélangé et utilisé pour la désinfection.

● Solution de formol (1 litre) :

- 100 ml de formol,
- 900 ml d'eau distillée.

L'ensemble est bien mélangé avant usage.