

LES COTONNIERS TRANSGENIQUES RESISTANT AUX INSECTES RAVAGEURS : UN APERÇU DE LA SITUATION 10 ANS APRES LA PREMIERE COMMERCIALISATION

PANNETIER Catherine

CIRAD/CA UR Systèmes cotonniers en petit paysannat - 34032 Montpellier cedex 5
Adresse actuelle: Laboratoire de Biologie Cellulaire, Institut Jean-Pierre Bourgin - INRA
Centre de Versailles-Grignon 78026 Versailles cedex.

1 INTRODUCTION :

Le cotonnier constitue la première source de textile végétal. Outre la fibre, cette culture fournit des produits divers issus de la graine: huile, tourteaux. Le cotonnier a été une des premières plantes d'intérêt agronomique qui a fait l'objet de recherche pour son amélioration *via* la transgénèse. Ceci est dû en grande partie à l'importance que revêt sa protection contre les insectes ravageurs. C'est sur cet aspect que portera essentiellement cet article. Son propos est de présenter une image globale de l'adoption des cotonniers transgéniques dix ans après la première commercialisation et de donner quelques éléments sur les impacts de leur culture en s'attachant plus particulièrement au système petit paysannat du Sud.

Les étapes du développement de variétés de cotonniers transgéniques sont particulièrement rapides. En 1987 deux équipes publient une méthode d'obtention de plants de cotonnier transgéniques. Il s'agit alors du transfert expérimental d'un gène de résistance à un antibiotique. Une publication rapporte en 1990 l'introduction d'un gène de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (Bt) dans le génome du cotonnier. Six ans plus tard la première variété de cotonnier Bt est commercialisée aux USA. Aujourd'hui, dix ans après cette première variété transgénique (BollgardI, Monsanto), on constate que la culture de variétés issues de la biotechnologie a pris une ampleur remarquable (9,8 millions d'hectares en 2005) dans le monde et en particulier dans les pays du Sud. On dispose aujourd'hui de nombreuses informations (pour revue Shelton *et al*, 2002) sur les divers impacts de la culture de ces cotonniers transgéniques tant au plan de leur efficacité pour la protection contre les insectes, de leur rentabilité ou encore des risques potentiels attendus (impacts sur la faune non cible, apparition de résistance chez les insectes cibles, flux de gènes...)

2 QUELQUES ELEMENTS SUR LA CULTURE DU COTONNIER DANS LE MONDE :

La culture du cotonnier concerne plus de 77 pays sur 33 millions d'hectares pour une production de 2,3 millions de tonnes de fibre en 2004 et un rendement moyen de 675 kg par hectare (ICAC, 2004). Parmi ces pays, les plus importants producteurs sont la Chine avec 6 millions de tonnes de fibre et un rendement moyen de 1130kg/ha, les Etats Unis avec 3,8 millions de tonnes et un rendement moyen de 740kg/ha et l'Inde avec 2,8 millions de tonnes et un rendement moyen de 320kg/ha en 2004.

Parmi les cotonniers cultivés on compte 4 espèces: deux espèces diploïdes *Gossypium arboreum* et *Gossypium herbaceum* et deux espèces allotétraploïdes *G. barbadense* (ou coton égyptien) et *G. hirsutum*. C'est cette dernière espèce qui est la plus largement cultivée dans le monde, elle représente environ 90% des cotonniers cultivés. Bien que botaniquement plante pérenne, le cotonnier est cultivé en plante annuelle. Le matériel est essentiellement diffusé sous forme de lignées. En revanche, en Inde la culture d'hybrides s'est développée.

Les systèmes de culture associés à la production de coton varient très largement selon les pays et principalement entre pays industrialisés et pays du Sud. Dans de nombreux pays d'Afrique, la culture est pluviale. Dans les grands pays producteurs, comme aux Etats Unis où on rencontre des exploitations de plus de mille hectares, elle est généralement irriguée, et entièrement mécanisée. Dans la plupart des pays en développement, notamment ceux d'Afrique de l'Ouest et du Centre, la culture du coton est généralement peu intensive mais demande une main-d'œuvre importante. Les opérations culturales y sont effectuées à la main ou avec l'aide d'animaux de trait, bœufs, ânes ou chevaux, et la récolte est toujours manuelle. En Chine ou en Afrique, la surface cultivée par un agriculteur est souvent de moins d'un hectare.

3 LES ENJEUX :

Une des caractéristiques de la culture cotonnière est son fort besoin en insecticides. Un complexe important et varié d'insectes ravageurs attaque le cotonnier. Ceux qui causent les principaux dommages sont des lépidoptères carpophages : *Heliothis virescens* et *zea* (USA), *Helicoverpa armigera* (Afrique, Asie, Amérique du Sud, Australie), *Pectinophora gossypiella* ainsi qu'un coléoptère *Anthonomus grandis* essentiellement en Amérique du Sud. Des programmes d'éradication conduits aux USA ont permis de contrôler ce coléoptère, ce qui explique que les grandes compagnies privées américaines n'aient pas développé de programmes de transgénèse pour combattre cet insecte. Les piqueurs suceurs posent des problèmes souvent importants tant au niveau du développement de la plante que dans la dépréciation de la fibre du fait de dépôts de miellat au moment de l'ouverture des capsules (coton collant). On estime que plus de 25% des insecticides chimiques utilisés dans le monde le sont pour la protection de la culture cotonnière qui n'occupe qu'environ 4% des surfaces cultivées. Le nombre de traitements pendant une campagne de culture (140 à 230 jours selon les variétés) s'il n'est que de 4 à 6 en Afrique de l'Ouest, peut atteindre 15 aux Etats Unis et jusqu'à 25-30 en Chine.

Cette utilisation intensive des pesticides chimiques a des conséquences écologiques évidentes. Elle peut même dans certains pays comme en Chine poser des problèmes de santé humaine pour les paysans qui doivent traiter de très nombreuses fois avec des formulations parfois peu précises. Elle a par ailleurs conduit à l'apparition d'insectes résistants. C'est le cas en particulier en Chine et en Australie où les principaux parasites des capsules sont devenus résistants à tout insecticide chimique.

Même s'il est raisonnable de penser que des caractères de résistance aux insectes existent chez certains cotonniers sauvages, la sélection classique n'a apporté que des solutions partielles et indirectes comme la modification de la forme des feuilles (qui permet une meilleure pénétration des insecticides dans la végétation) ou l'absence de glandes à nectaire. Il est donc très compréhensible que le cotonnier ait été une des premières plantes cultivées à faire l'objet de recherches pour l'introduction par génie génétique de caractères de résistance aux insectes.

4 LA STRATEGIE D'OBTENTION

Les premiers cotonniers transgéniques ont été obtenus en 1989 (Umbeck *et al*, Firrozabady *et al*). La méthode utilise la régénération *in vitro* via l'embryogenèse somatique et le transfert de gènes par *Agrobacterium tumefaciens*. Si des études visant au développement de méthodes alternatives (biolistique sur tissus embryogènes, transformation de méristèmes *via Agrobacterium* par exemple) ont été utilisées, c'est la méthode d'inoculation d'*Agrobacterium* sur fragments d'hypocotyles et régénération de plantes transformées *via* l'embryogenèse somatique qui reste la méthode la plus employée (Pannetier *et al*, 1997). C'est par cette méthode que la grande majorité des cotonniers transgéniques cultivés actuellement dans le monde ont été obtenus. Il faut cependant mentionner la méthode dite du "pollen tube pathway" développée en Chine (Wanchao *et al*, 2004). grâce à laquelle la plupart des variétés chinoises portant des gènes de résistance aux insectes aurait été obtenue.

L'efficacité du processus de régénération *in vitro* du cotonnier reste encore largement génotype-dépendante et la plupart des variétés transgéniques cultivées sont issues de rétrocroisements entre un cotonnier transgénique d'une variété réagissant de façon correcte *in vitro* (le plus souvent une variété Coker) avec les variétés à commercialiser. Le processus de régénération de plantes de cotonnier transgéniques est relativement long et très consommateur de temps et de main-d'oeuvre. Différentes études sur la culture *in vitro* du cotonnier, dont le but est de développer une méthode de transfert de gènes rapide et applicable à une large variété de cultivars, ont été entreprises et publiées par des institutions publiques de recherche (Universités, Instituts de Recherche en Inde, Pakistan, Australie, Etats Unis, Chine...).

Les gènes conférant la résistance aux insectes sont des gènes de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (gènes Bt) qui synthétise au cours de la sporulation des protéines entomopathogènes. Les cibles principales sont des lépidoptères carpophages: *Heliothis zea* et *virescens* essentiellement aux USA, ainsi que *Helicoverpa armigera* pour la plupart des pays hors les Etats Unis. Les gènes qui codent pour une protéine entomopathogène active sur ces insectes sont les gènes *CRYIAb* ou *CRYIAc* (Crickmore *et al*, 1998). D'autres gènes *CRYIF* ou *CRY2Ab* ont été ensuite associés aux premiers pour élargir le spectre d'hôtes ou disposer d'un moyen pour retarder l'apparition de résistance chez les insectes cibles. Plus récemment, toujours dans l'objectif d'élargir le spectre d'hôtes, un gène codant pour une protéine Vip (Vegetative Insecticidal protein) synthétisée pendant la phase végétative de la bactérie a été utilisé (Lee *et al*, 2003).

Dans le cas des gènes *CRY*, ce n'est qu'après avoir modifié leur séquence pour optimiser l'usage des codons qu'une expression suffisante *in planta* a été obtenue (Mazier *et al*, 1997). Des gènes dits "synthétiques" ont ainsi été développés. Les promoteurs utilisés sont principalement des promoteurs constitutifs forts tel le promoteur P35S, promoteur de l'ARN 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur.

Des études ont été conduites sur l'utilisation de gènes codant pour des inhibiteurs de protéases (IP). L'objectif était, en les associant dans une même plante à un gène Bt, de disposer de deux modes d'action différents, afin de retarder l'apparition d'insectes résistants. La stratégie inhibiteurs de protéases n'a pas apporté, pour la plupart des espèces, les résultats espérés du fait de phénomènes de contournement rapidement mis en place chez les insectes cibles. Seuls les

cotonniers transgéniques cultivés en Chine portent un gène Bt et un gène d'IP (Sandui *et al*, 2004)

5 LES EVENEMENTS DE TRANSFORMATION EN 2006.

L'obtention de cotonniers ayant intégré un gène de *Bacillus thuringiensis* conférant la résistance à plusieurs lépidoptères a été rapportée en 1990 par Perlak et collaborateurs. Les premiers cotonniers transgéniques (BollgardI), développés par la société Monsanto et dont la culture a démarré en 1996 aux Etats-Unis, portent un gène construit à partir de la séquence du gène *CRYI*Ac. Depuis, différents événements de transformation ont été obtenus et leur développement par plusieurs compagnies privées est plus ou moins avancé (Tableau 1).

Tableau 1: Evénements de transformation actuellement au stade commercialisation dans diverses variétés ou au stade d'essais en champ

cry1Ac	BollgardI Monsanto	<i>Helicoverpa spp / Heliothis virescens</i> <i>Pectinophora gossypiella</i>	USA, Australie, AfSud,Inde,Chine, Argentine...
Cry1Ac/Ab + CpTi	Guo <i>et al</i> , Chine	<i>Helicoverpa spp / Heliothis virescens</i> <i>Pectinophora gossypiella</i>	Chine
Cry1Ac + Cry2Ab (2003)	Bollgard II Monsanto	<i>Helicoverpa spp / Heliothis virescens</i> <i>Pectinophora gossypiella</i> + <i>Spodoptera spp</i>	USA, Australie
Cry1Ac + Cry1F	WideStrike DowAgroSciences	<i>Helicoverpa spp / Heliothis virescens</i> <i>Pectinophora gossypiella</i> + <i>Spodoptera spp</i>	Prévue 2005 USA
Vip3A* (2006?)	VipCot Syngenta	<i>Helicoverpa spp / Heliothis virescens</i> <i>Pectinophora gossypiella</i> <i>Spodoptera spp...</i>	En essais

*vegetative insecticidal protein

On constate que l'association de deux gènes apporte essentiellement un élargissement du spectre d'hôtes et permet de combattre, outre les lépidoptères carpophages, des lépidoptères qui sont des ravageurs des feuilles (*Spodoptera spp*) mais qui peuvent également en cas de forte infestation causer des dégâts aux capsules. La plupart des cotonniers produits en Chine associent un gène Bt et un gène d'inhibiteur de protéase (gène CpTi). Ce gène d'I.P permettrait de renforcer la protection de la culture en fin de campagne (Dr. Li Fuguang, communication personnelle).

6 LA CULTURE DES COTONNIERS TRANSGENIQUES EN CHIFFRES

La culture des cotonniers transgéniques atteint aujourd'hui au total (résistance aux insectes ou résistance aux herbicides ou les deux caractères associés) 9,8 millions d'hectares, soit 26% des 35 millions d'hectares de cotonniers cultivés dans le monde. Sur ce critère (place des variétés transgéniques par rapport à la surface totale de l'espèce) le coton occupe la deuxième place parmi les 4 plantes transgéniques les plus cultivées: soja 60% de 91 millions d'hectares, colza 18% de 26 millions d'hectares et soja 14% de 147 millions d'hectares (James, 2005).

Huit pays cultivent des cotonniers transgéniques : USA, Mexique, Argentine, Afrique du Sud, Colombie, Chine Inde et Australie. Pour ces 4 derniers, le cotonnier transgénique est la seule espèce génétiquement modifiée actuellement cultivée. Il est important de noter que 90% des 8 millions d'agriculteurs produisant du coton transgénique sont des petits paysans à faible ressource des pays en voie de développement ou émergents. Cependant ce pourcentage est largement dû à l'importance de la culture des cotonniers transgéniques en Chine qui n'est pratiquée qu'en petit paysannat. Pour situer l'importance qu'a prise dans les dernières années la culture des cotonniers transgéniques dans ce pays, on peut retenir qu'elle occupe 70 % de la surface totale dédiée à la production de coton. Dans deux des principales provinces productrices de coton (province du Hebei et du Henan) la culture du cotonnier transgénique a atteint en 2005 près de 100% (Dr. Li Fuguang, communication personnelle).

On note au cours des trois dernières années une augmentation relative, des cultures transgéniques plus importante dans les PVD que dans les pays industrialisés. Pour le cotonnier c'est particulièrement le cas en Inde et en Chine (Tableau 2).

Tableau 2: Surfaces en cotonniers transgéniques pour les 4 principaux pays en 2003 et 2005. Sources : C. James 2003,2005.

Pays	Surface cotonniers transgéniques millions d'hectares		% de la surface totale en culture cotonnière		Types de cotonniers
	2003	2005	2003	2005	
USA	4,23	4,4	75	82	Bt, Bt+HT, HT
Chine	2,8	3,7	58	70	Bt
Inde	0,09	1,3	1	14	Bt
Australie	0,09	0,3	60	80	Bt, Bt+HT, HT
Total mondial	7,3	9,8	21	28	Bt, Bt+HT, HT

Bt : résistance aux insectes ; HT: résistance à un herbicide

Bt + HT : 2 caractères de résistance associés

On observe sur la Figure 2 illustrant l'évolution des surfaces en cotonniers transgéniques de 1996 à 2004 que la part des cotonniers résistant aux herbicides diminue par rapport aux cotonniers résistant aux insectes (que le caractère de résistance à ces ravageurs soit ou non associé à la résistance à un herbicide). Ici encore cette vision globale est due essentiellement à l'importance des cultures de cotonniers résistant aux insectes en Inde et en Chine, pays dans lesquels les cotonniers résistant aux herbicides ne sont pas utilisés (désherbage manuel vu la taille des exploitations), le problème majeur du point de vue de l'agriculteur étant la protection contre les insectes ravageurs des capsules.

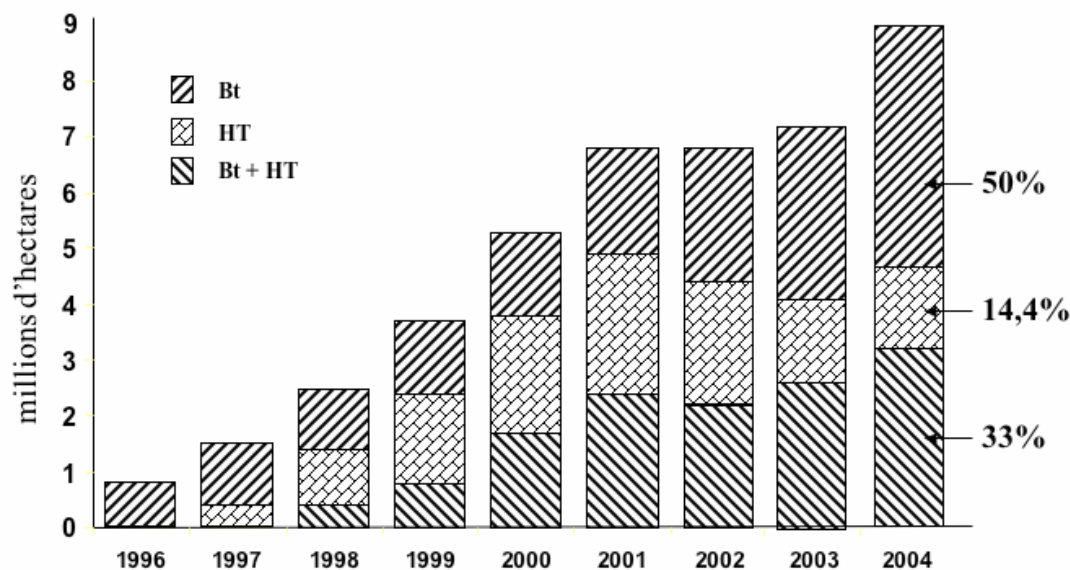


Figure 2: Evolution des surfaces des différents types de cotonniers transgéniques de 1996 à 2004.
Sources C. James 2001, 2002, 2003, 2004.

7 LES IMPACTS

Les publications faisant état de résultats concernant les impacts socio-économiques et écologiques (évolution de l'entomofaune non-cible, flux de gènes); la gestion des cotonniers résistant aux insectes (en particulier pour éviter ou au moins retarder le plus possible l'apparition d'insectes résistants), sont nombreuses. Nous ne reprendrons ici que quelques points particuliers.

L'efficacité de la stratégie "plante insecticide" (plante exprimant un gène codant pour une protéine entomopathogène) pour lutter contre des insectes cibles, ravageurs majeurs du cotonnier est illustrée par de nombreux travaux. Même si on peut noter l'importance du volet marketing de grandes compagnies comme Monsanto, qui a pu favoriser la promotion de la culture des cotonniers transgéniques, il est clair que leur adoption est largement fondée sur des expériences positives. Il convient cependant d'analyser les performances des cultures transgéniques en prenant en compte le type d'insectes cibles, la pression parasitaire ainsi que le système de culture.

On sait par exemple que la protéine CRYIAC est plus efficace sur les *Heliothis zea* et *virecens* (ravageurs majeurs aux Etats-unis) que sur *Helicoverpa armigera* qui provoque d'importants dégâts en Afrique, Asie et Australie. Cette sensibilité moindre d'*H. armigera*, particulièrement en fin de campagne, a conduit les Australiens à renforcer les mesures en matière de gestion de l'apparition de la résistance.

Un débat important lié à l'efficacité de la protection contre les insectes porte sur la diminution de l'emploi des pesticides et par conséquent sur l'intérêt économique et écologique de l'utilisation des *cotonniers* transgéniques. Les résultats compilés dans un article de revue (Shelton *et al*, 2002) montrent que s'il y a bien réduction de l'emploi d'insecticides, celle-ci peut varier avec la zone de culture, la pression parasitaire de l'année étudiée ou encore les systèmes de culture.

En Chine où 4 millions de petits exploitants cultivent du coton Bt, les rendements sont supérieurs d'environ 20% à ceux des cotonniers "classiques" et la diminution des pesticides employés a été de 78000 de tonnes soit un quart des pesticides (rapport FAO 2004 - http://www.fao.org/newsroom/fr/focus/2004/41655/article_41669fr.html). Pray et collaborateurs (2002) font également état d'une diminution significative de l'usage des insecticides, réduction

qui a des conséquences très positives sur la santé des agriculteurs. Dans un document de synthèse sur les cotonniers transgéniques, l'ICAC (International Cotton Advisory Committee) mentionne (Fitt *et al*, 2004) un certain nombre de publications rapportant des gains économiques et des réductions de l'usage des pesticides tout à fait significatifs en Inde, Chine, Australie, USA, Afrique du Sud (Bennet *et al*, 2002).

Concernant ce dernier pays et plus particulièrement la culture du coton Bt en petit paysannat, une autre étude (Hofs *et al*, 2006a) indique que si la culture de cotonniers Bt a permis une diminution de l'utilisation de certains insecticides comme les pyréthriinoïdes, l'emploi d'autres insecticides est resté stable. C'est le cas des organophosphorés, qui malheureusement sont plus dommageables que les premiers pour la santé humaine. Les mêmes auteurs (Hofs *et al*, 2006b), montrent que le gain financier apporté aux agriculteurs cultivant des cotonniers Bt varie, en petit paysannat, de façon très importante d'un cultivateur à un autre. Cette importante variabilité qui ne permet pas de conclure à un effet favorable de la culture de cotonniers Bt en petit paysannat est due à l'influence de facteurs limitants (pas d'irrigation, peu ou pas de fumure...) dans ces systèmes de culture. Par contre, dans le même pays mais pour les grandes exploitations le gain financier est significatif. (Hofs *et al*, 2006c).

En Chine, où l'adoption des cotonniers transgéniques est massive et où les bénéfices tant économiques qu'écologiques sont rapportés dans de nombreux travaux, il est important de noter que l'introduction de ces variétés s'opère dans un contexte particulier. L'usage des insecticides était devenu extrêmement intensif et a conduit à l'apparition d'insectes résistants. Il existe un grand nombre de centres de recherche travaillant sur la transgénèse du cotonnier. Bien que Monsanto ait été à l'origine de l'introduction des cotonniers transgéniques, l'offre de variétés chinoises est aujourd'hui variée et renouvelée régulièrement; le prix de la semence transgénique reste peu élevée.

Différents exemples indiquent que l'information des paysans sur ces variétés transgéniques est un facteur important de réussite. On peut citer le travail de Puyun Yang et collaborateurs (2005) qui montrent que des méthodes d'IPM associées à la culture de cotonniers Bt réduisent de façon significative le nombre de traitements ainsi que la quantité d'insecticides par rapport à la culture de cotonniers Bt en pratiques paysannes traditionnelles.

La plupart des travaux font état du peu d'incidence de la culture des cotonniers Bt sur la faune non cible, en particulier les piqueurs suceurs, les insectes prédateurs et les parasitoïdes. On peut citer les travaux suivants: en Chine (Wu et Guo, 2003), en Afrique du Sud (Hofs *et al*, 2004, 2005), en Australie (Fitt, 2004). Si dans certains pays, une augmentation de certains insectes non cibles a pu être rencontrée, elle n'a pas eu de conséquence sur le nombre de traitements nécessaires pour leur contrôle (Wilson *et al*, 2004). En revanche, une étude mentionne une augmentation significative de certaines punaises au Sud Est des Etats Unis (Greene *et al.*, 2001).

La gestion du problème de l'apparition d'insectes résistants a été conduite sur la base de la stratégie dite "haute dose-refuges" (Bourguet et Chaufaux, 2000). Il s'agit, considérant que la résistance est récessive aux concentrations de toxine produite par les plantes transgéniques, de mettre en place un réservoir de plantes non transformées qui permettent de maintenir une population d'insecte sensibles ; les hétérozygotes portant l'allèle de résistance étant éliminés grâce à l'expression forte de la toxine dans les plantes transgéniques. Cette stratégie a été mise en application de façon différente selon les pays. Aux USA, les refuges de plantes conventionnelles doivent représenter 20% de la surface cultivée avec des plantes transgéniques et ne doivent pas être traités. En Australie (où le lépidoptère *H. armigera* est moins sensible à la toxine Bt et est résistant aux insecticides) les consignes sont plus strictes : 30% de refuges, fenêtre précise de semis, destruction des plants rapidement après récolte, labourage du sol pour destruction d'éventuelles nymphes résistantes ; il existe de plus un programme strict de surveillance de l'évolution de la résistance. Par contre en Chine, où les parcelles sont de petite taille et où le cotonnier voisine avec de nombreuses autres cultures, les plantes cultivées à proximité des

cotonniers Bt sont considérées comme des refuges naturels. Enfin en Afrique du Sud, il n'existe pas en petit paysannat de méthodes mises en place pour la gestion de la résistance et aucune culture refuge n'est plantée. A ce jour, aucune résistance des insectes cibles à la toxine Bt exprimée *in planta* n'a été signalée (Tabashnik *et al*, 2005).

8 CONCLUSION

L'examen des résultats des dix années montre que les cotonniers transgéniques exprimant un gène de la bactérie *Bacillus thuringiensis* constitue un outil efficace pour la lutte contre les lépidoptères carpophages. La diminution de l'emploi des insecticides chimiques a été très généralement constatée même si, en fonction de la pression parasitaire, des pratiques culturales, de l'intensité des traitements sur les variétés conventionnelles, elle peut être plus ou moins importante. L'apparition d'insectes résistants n'a pas été rapportée à ce jour et de nombreux travaux ont été et sont encore réalisés sur la gestion de ces variétés. Il convient cependant de rester vigilant sur leur utilisation pour en tirer un bénéfice durable. Les résultats à moyen et long termes des variétés les plus récentes: associant plusieurs gènes *CRY* ou exprimant un gène *Vip* seront particulièrement intéressants à analyser. Il est clair que l'adoption des variétés transgéniques ainsi que la gestion de leur culture et des filières de production doivent être considérées au cas par cas. Le problème se pose aujourd'hui pour l'Afrique (Hillocks, 2005) où certains pays annoncent l'introduction de cotonniers résistant aux insectes et où des essais au champ sont déjà en place depuis plusieurs années comme au Burkina Faso. Enfin les recherches sur l'exploitation de nouvelles sources de résistance en particulier contre les piqueurs suceurs qui causent des dommages importants à la culture cotonnière seront de toute première importance.

Journée de l'A.S.F du 2 février 2006

BIBLIOGRAPHIE

- BENNETT, R., BUTHELEZI, T.J, ISMAEL, Y., MORSE, S. -2002- Bt cotton, pesticides, labour and health: A case study of smallholder farmers in the Makhathini flats, republic of South Africa. *Outlook on Agriculture* 32, 123-128.
- BOURGUET, D., CHAUFaux, J. -2000- Les insectes font de la résistance. *Biofutur*. 2000. No. 201, 42-45 .
- CRICKMORE, N., ZEIGLER, D. R., FEITELSON, J., SCHNEPF, E., VAN RIE, J., LERECLUS, D., BAUM, J., DEAN D. H. -1998- Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins *Microbiology and molecular biology review* 62, 807-813.
- FIROOZABADY, E., DEBOER, D., MERLO, D., HALK, E., AMERSON, L., RASHKA, E., MURRAY, E; -1987- Transformation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of transgenic plants. *Plant Mol. Biol.* 10, 105-116.
- Fitt, G.P. 2004. Implementation and impact of transgenic Bt cottons in Australia. Pp. 371-381 in *Cotton Production for the New Millennium. Proceedings of the third World Cotton Research Conference*, 9-13 March, 2003, Cape Town, South Africa, 1778 pages. Agricultural Research Council - Institute for Industrial Crops, Pretoria, South Africa.
- Greene J.K., S.G. Turnipseed, M.J. Sullivan and O.L. May. 2001 - Treatment thresholds for stink bugs in cotton. *J. Econ. Entomol.* 94, 2: 403-409.
- HILLOCKS RORY. J. -2005- Is there a role for Bt cotton in IPM for smallholders in Africa? *International Journal of Pest Management*, 51 (2), 131-141.

HOFS J. L.; SCHOEMAN A.; VAISSAYRE M.-2004- Effect of Bt cotton on arthropod biodiversity in South African cotton fields.. *Agricultural and Applied Biological Sciences* 69 (3): 191-194.

HOFS J. L.; SCHOEMAN A.; MELLET M.; *et al.*- 2005- Impact of genetically modified cotton on the biodiversity of the insect fauna: the case of Bt cotton in South Africa. *International Journal of Tropical Insect Science* 25 (2), 63-72

HOFS, J. L.; FOK, M., VAISSAYRE, M. -2006a- Impact of Bt cotton adoption on pesticide use by smallholders: a 2-year survey in Makhatini Flats (South Africa). *Crop Protection* 25 (9), 984-988

HOFS, J. L., HAU, B., MARAIS, D. -2006b- Boll distribution patterns in Bt and non-Bt cotton cultivars: I. Study on commercial irrigated farming systems in South Africa. *Field Crops Research* 98 (2/3), 203-209.

HOFS J. L.; HAU B.; MARAIS D., FOK, M. -2006c- Boll distribution patterns in Bt and non-Bt cotton cultivars: II. Study on small-scale farming systems in South Africa. *Field Crops Research* 98 (2/3), 210-215.

JAMES C (2001,2003, 2004, 2005): ISAAA Briefs.

LEE, M. K.; WALTERS, F. S.; HART, H.; PALEKAR, N.; CHEN, J. S. -2003- The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab delta - endotoxin. *Applied and Environmental Microbiology* 69 (8), 4648-4657.

MAZIER, M.; PANNETIER, C.; TOURNEUR, J.; JOUANIN, L.; GIBAND, M. -1997- The expression of *Bacillus thuringiensis* toxin genes in plant cells *Biotechnology Annual Review* 3 : 313-347 1997

PANNETIER, C.; GIBAND, M.; COUZI, P.; TAN, V. LE MAZIER, M.; TOURNEUR, J.; HAU, B.- 1997 - Introduction of new traits into cotton through genetic engineering: insect resistance as an example. *Euphytica* 96 (1), 163-166.

PERLAK, F. J.; DEATON, W. R.; ARMSTRONG, T. A.; FUCHS, R. I.; SIMS, S. R.; GREENPLATE, J. T.; FISCHHOFF, D. A.-1990- Insect resistant cotton plants. *Nature Bio/Technology* 8 (10), 939-943.

PRAY, C.E., HUANG, J., HU, R., ROZELLE, S. -2002- Five years of Bt cotton in China- the benefits continue. *The Plant Journal* 31, 423-430.

SHELTON , A.M., J-Z. ZHAO, ROUSH R.T. 2002 - Economic, ecological, food safety and social consequences of the deployment of Bt transgenic Plants. *Annu. Rev. Entomol*, 47 : 845-881

TABASHNIK, B.E., DENNEHY, T.J., CARRIERE, Y. -2005- Delayed resistance to transgenic cotton in pink bollworm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102 (43), 15389–15393.

UMBECK, P., JOHNSON, G., BARTON, K., SWAIN, W; -1987- Genetically transformed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants. *Bio/Technology* 5, 263-266.

WANCHAQ, NI., ZHANG, Y., JIA, S. - 2004 - Cotton transformation. In *Transgenic cotton*, JIA Shirong (Ed.) Science Press Beijing/New york pp 113-125.

WILSON, L.J., MENSAH, R.K., FITT, G.P. -2004- Implementing integrated pest management in Australian cotton. In: A.R. Horowitz, I. Ishaaya (Eds.), *Insect Pest Management: Field and Protected Crops*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York. pp. 97-118.

WU, K., GUO, Y. -2003- Influences of Bt cotton planting on population dynamics of cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, in northern China. *Environment Entomol* 32, 312-318.

WU, K., FENG, H., GUO Y. (2004) Evaluation of maize as a refuge for management of resistance to Bt cotton by *Helicoverpa armigera* (Hübner) in the Yellow River cotton-farming region of China. *Crop Protection* 23, 523-530.

ZHANG, T., ZHOU, S. -2003- The economic and social impact of GMOs in China. *China Perspectives*, 47, 50-57.

FITT, G.P., WAKELYN, P.J., JAMES, C., ROUPAKIAS, D., HAKE, K., ZAFAR, Y., PAGES, J., GIBAND, M. -2004- report of the second expert panel on Biotechnology of Cotton. International Cotton Advisory Committee pp65.