

Impacts des Pratiques Phytosanitaires en Milieu Cotonnier sur le Niveau de Résistance Phénotypique des Populations de Anopheles Gambiae (Diptera, Culicidae) au Nord du Bénin.

[Impacts of Cotton Protection Practices on the Level of Phenotypic Resistance in Anopheles Gambiae Population in Northern Benin].

YADOLETON Anges^{1,2*}; DJENGUE Wilfried³; KLOTOE Jean-Robert¹; SEZONLI Michel³; CHABI Christophe⁴; AGBANRIN Ramziyath², HOUNDETON Geraldo²; SIDICK Aboubacar²; AHISSOU Fabrice²; AKOGBETO Martin^{2,3}.

¹Ecole Normale Supérieure de Natitingou-Université de Natitingou

²Centre de Recherche Entomologique de Cotonou

³Faculté des Sciences et Techniques - Université d'Abomey-Calavi



Résumé - les traitements insecticides destinés à la protection de la culture du coton ont été souvent évoqués comme principal facteur de sélection de la résistance des populations de *Anopheles gambiae* aux insecticides. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons étudié le niveau de résistance phénotypique de *An. gambiae s.l* dans les zones cotonnières du Bénin selon deux programmes de protection contre les ravageurs : le programme calendaire avec utilisation de fortes quantités d'insecticide, le programme à lutte étagée ciblée (LEC) avec très peu d'insecticide.

Dans un premier temps, notre enquête a porté sur la connaissance de la nature des pesticides utilisés contre les ravageurs de coton, leur origine et les doses appliquées puis la sensibilité des anophèles issus des sites d'étude aux papiers imprégnés de deltaméthrine (0,05%), de perméthrine (0,75%) de DDT (4%), et du bendiocarb (0,1%).

Il ressort des investigations que plusieurs familles d'insecticides notamment les pyréthrinoïdes sont les plus utilisés par les paysans au niveau des deux programmes.

Cette utilisation de pesticides a entraînée une résistance de *An. gambiae* vis-à-vis du DDT (4% comme taux de mortalité moyenne), de la perméthrine (30%) et de la deltaméthrine (42%), mais reste sensible au bendiocarb (100%) quelque soit le programme.

Cette étude confirme une fois encore que les traitements insecticides en agriculture sont responsables de la sélection de la résistance aux pyréthrinoïdes chez *An. gambiae* en Afrique de l'Ouest.

Mots Clés - *Anophèle Gambiae*; Coton; Insecticides; Agricoles; Résistance.

Abstract - Insecticide treatments for crops protection in cotton fields have often been cited as the main factor in the selection of insecticide resistance in *Anopheles gambiae* populations to explore this hypothesis further, the present study was designed to identify potential practices that may contribute to the emergence of insecticide resistance in *Anopheles gambiae* in cotton crop protection strategies such as the “Calendar Control Program (CCP)” and “Targeted Intermittent Control Program (TICP)” officially recommended already operate in Benin.

Firstly, Knowledge Attitude-Practice (KAP) surveys were organized in the study sites to generate adequate information on the use of insecticide on cotton fields. In each site, leaders of farmer’s organizations were interviewed using semi-structured questionnaires that focused on the treatment strategies, and the use of insecticides in the farms. Further, bioassays were performed on adult mosquitoes collected from various of each program to assess the susceptibility of malaria vectors to insecticide-impregnated papers (permethrin 0.75%, deltamethrin 0.05%, DDT 4%, and bendiocarb 0.1%) following WHOPES guidelines.

Results of this study showed that various pesticides particularly pyrethroids were used for pests control in CCP and TICP sites; ii)- Susceptibility tests showed that *An. gambiae* populations have developed resistance to DDT (4% as mean mortality despite the strategies), permethrin (30% in CCP and TICP), deltamethrin (38% and 46% as mean mortality in CCP and TICP respectively), but fully susceptible to bendiocarb .

These findings confirmed the role of insecticide treatments in mosquitoes resistance. Measure must be taken for better management of the use of insecticides for pest control.

Keywords: *Anopheles Gambiae*; Cotton; Agricultural Insecticide; Resistance.

INTRODUCTION

En Afrique sub-saharienne, le coton cultivé sur plus de 2 millions d’hectares est un véritable moteur de développement [1]. C’est la raison pour laquelle, la forte baisse de la productivité cotonnière enregistrée ces dernières années provoque dans les pays africains une crise sans précédent. La protection des planteurs contre le paludisme pourrait être une solution utile et prometteuse pour gagner en productivité. Une étude menée en Côte d’Ivoire par ces auteurs a montré que la morbidité palustre pouvait avoir un impact sur la productivité cotonnière. Cela peut s’expliquer par l’incidence négative sur les rendements d’un décalage des dates de semis, de sarclage ou de traitement. Des méthodes de lutte anti-vectorielle sont d’ailleurs mises en place par les programmes nationaux de lutte contre le paludisme mais leur efficacité à moyen terme est menacée notamment par l’utilisation massive de pesticides dans le monde agricole pour lutter contre les ravageurs des cultures [2].

En effet, les traitements agricoles destinés à protéger les cultures cotonnières sont un facteur de sélection d’insectes résistants non seulement chez les ravageurs mais aussi chez les vecteurs du paludisme [3]. Dans les années 1960, le rôle sélectif des traitements agricoles à base de composés organochlorés (OC) sur la résistance de *Anopheles gambiae* principal vecteur du paludisme, a été observé au Mali dans des zones qui n’avaient jamais fait l’objet de traitements en santé publique et où ces insecticides étaient largement utilisés en agriculture. En Côte d’Ivoire et au Burkina Faso, il a été montré à la fin des années 1990 que le niveau de

résistance des vecteurs aux insecticides de la famille des pyréthroïdes augmentait au cours de la saison cotonnière [3].

Ces traitements insecticides qui s’effectuent toutes les semaines [4-5] par les paysans envoient des particules chimiques dont certaines sont en contact avec le sol et les gîtes et par conséquent avec les larves de moustiques. La pression de sélection exercée par ces insecticides pourrait parallèlement conduire au développement de la résistance des moustiques, en particulier d’*An. gambiae* vis-à-vis de ces insecticides.

L’anophèle est un moustique qui pond ses œufs dans des petites flaques d’eau. Les résidus d’insecticides utilisés dans les champs cotonniers sont facilement, grâce à l’infiltration et au ruissellement, retrouvés dans ces coins d’eau.

Par ailleurs, on se demande s’il existe suffisamment d’informations sur la nature et les quantités des insecticides agricoles utilisés et les attitudes pratiques des utilisateurs surtout en milieu cotonnier. Cette série de questions nous amène alors à se pencher sur une thématique intitulée : "Impacts des pratiques de phytosanitaire en milieu cotonnier sur le niveau de résistance phénotypique des populations de *Anopheles gambiae* (Diptera, culicidae) au Nord du Bénin.

Les données enregistrées permettront de compléter les résultats actuellement disponibles sur les facteurs de la résistance des vecteurs aux insecticides [6-9].

I. MATERIEL ET METHODES

1-1 - Zones d'étude

L'étude a été réalisée dans 4 localités au Nord du Bénin (figure 1). Six sites cotonniers ont été échantillonnés dans les départements de Borgou et de l'Alibori au Nord du Bénin en fonction de deux stratégies de protection appliquées par les planteurs.

Les localités de Parakou (2°62 E, 9°33 N), Kandi (2°95 E, 11°16 N) et Banikoara (2°59 E, 11°31 N) représentent des sites à programme calendaire (programmes fenêtres dans lesquels les deux premiers traitements à l'endosulfan

ou au profénofos sont suivis de 4 traitements avec un mélange pyréthrinéoïde + OP à forte dose).

Les localités de N'dali (2°70 E, 9°84 N), Kandi (3°08 E, 11°27 N) et Banikoara (2°41 E, 11°31 N) représentent trois autres champs à programme à lutte étagée ciblée (LEC) (programme qui consiste à ne traiter avec une faible dose d'insecticide les plants cotonniers que lorsque le seuil d'attaque du cotonnier par les ravageurs est atteint c'est-à-dire 5 larves d'*Helicoverpa armigera* échantillonnés sur 50 plants de coton choisis de façon aléatoire).

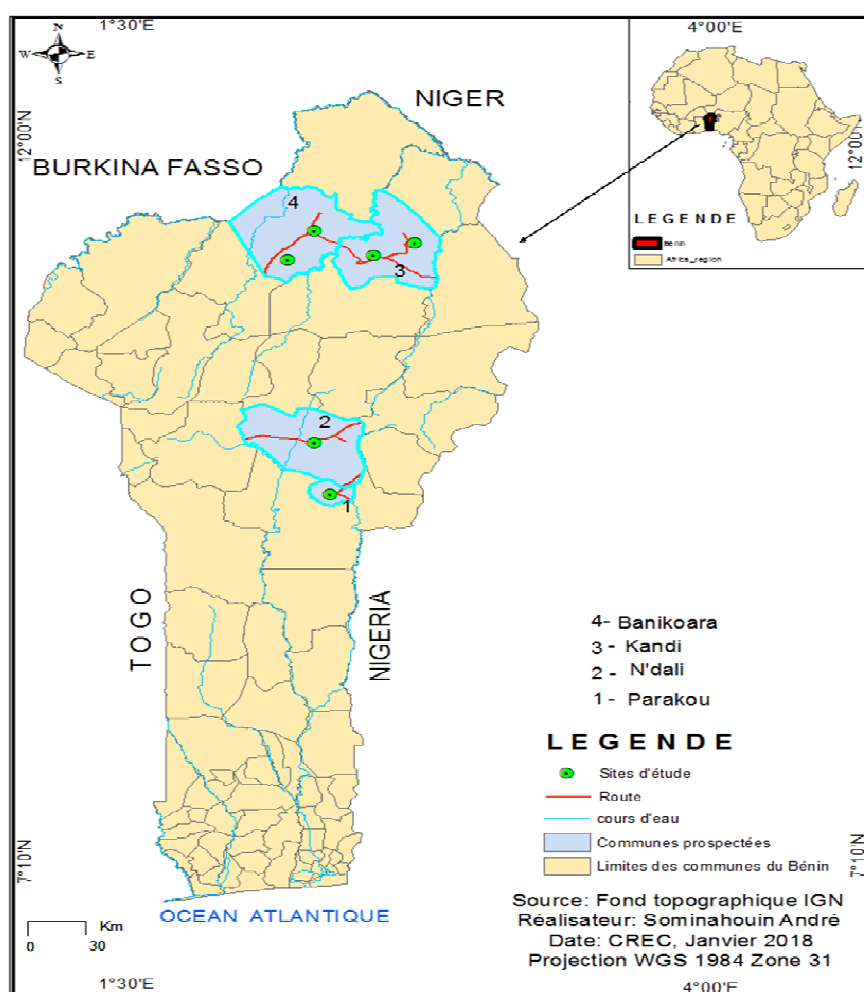


Figure 1 : Sites d'études

Ces localités sont caractérisées par une saison pluvieuse (Juin - Octobre) et une saison sèche (Décembre-Mai). La pluviométrie annuelle est de 1100 mm avec un pic maximum au mois de juillet. L'humidité relative est de 70% avec une température variant entre 25° et 40°. L'agriculture cotonnière constitue la principale activité de la population.

1-2 Sensibilité des anophèles aux insecticides

1-2-1 Echantillonnage des larves

Des prospections larvaires ont été organisées dans les diverses zones d'études en saison sèche (Décembre 2015) et en saison pluvieuse (Octobre 2016). Les récoltes de larves ont été effectuées selon la méthode du "Dipping" à l'aide de louches munies de manches longues, des seaux en plastique, des gobelets, des flacons, des récipients, une toile filtrante. Les larves récoltées ont été ramenées à l'insectarium du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) pour élevage. Les adultes issus de la métamorphose des larves ont été nourris à une solution à 20% de saccharose. Les femelles adultes de 2 à 5 jours ont été isolées pour être soumises au test de sensibilité/résistance.

1-2-2 - Enquêtes CAP.

Pour connaître les diverses classes d'insecticides utilisées par les paysans pour contrôler les ravageurs du coton, les cotonculteurs de chaque site cotonnier ont été soumis à un questionnaire quantitatif et qualitatif. La taille de l'échantillon a été déterminée suivant la méthode d'Anderson [10]. Les questionnaires ont porté sur : (1) l'utilisation ou non de pesticides par les paysans ; (2) les doses d'application et les fréquences de traitement des cultures ; enfin, (3) les lieux d'achat des pesticides.

1-2-3 - Tests de sensibilité

A l'aide d'un aspirateur à bouche, un lot de 25 moustiques femelles âgées de 2 à 5 jours a été introduit dans 4 tubes (n=100). Après 1 h d'observation, les moustiques ont été transférés dans un tube d'exposition tapissé de papier imprégné de deltaméthrine. Pendant l'exposition, les moustiques assommés ont été dénombrés toutes les 10 minutes. Après la période d'exposition, les moustiques ont été re-transférés dans les tubes d'observation, nourris avec une solution de miel à 10% puis maintenus en observation pendant 24 h. Un même nombre de moustiques introduits dans des tubes « non traités » ont servi de contrôle. Au terme de cette période d'observation, le taux de mortalité a été calculé. Les taux de mortalité dans la population ont été interprétés selon les critères recommandés par l'OMS [11]. La sensibilité des moustiques à ce produit (deltaméthrine) a

été comparée à celle d'un autre pyréthroïde : la perméthrine à 0,75% et d'un organochloré, le DDT à 4% (dose diagnostique). Nous avons testé le DDT pour vérifier s'il existe une résistance croisée entre les pyréthroïdes et les organochlorés. Les moustiques ont été aussi soumis aux papiers imprégnés de bendiocarb à 0,1% et les tests ont été réalisés selon le protocole OMS en tube cylindrique (WHO 1998).

1-3- Analyse des données

Les taux de mortalité ont été interprétés selon les critères recommandés par l'OMS (WHO, 1998). Pour une mortalité > 97% la population d'anophèle est dite sensible alors que lorsque le taux de mortalité est compris entre 80 - 97 %, on dit que la résistance est suspectée. Enfin, lorsque la mortalité < 80%, la population d'anophèle est dite résistante.

La formule d'Abbott [12] a été utilisée pour corriger le taux de mortalité lorsque celui du tube témoin dépasse 5%.

II. RESULTATS

2-1. Enquête sur l'utilisation des insecticides et fertilisants au Bénin.

La figure 3 montre que 97% des paysans interrogés font recours à plusieurs familles d'insecticides pour traiter les champs. Au cours de nos investigations, 67% de ces cotonculteurs (programme calendaire et LEC) déclarent se procurer des pesticides dans des structures illégales de vente de pesticides contre 33% dans les structures agréées par l'Etat (figure 2).

Dans les sites cotonniers à programme LEC et calendaire, la plupart des paysans utilisent des herbicides juste après les semis. La quasi-totalité de ces cotonculteurs déclarent appliquer l'engrais NPK (azote-phosphate-potassium) sur leurs parcelles 20 jours environ après la germination à la dose de 150 à 200 kg/ha, puis l'urée trois semaines plus tard à la dose de 1,5 kg/ ha. Quant à l'utilisation des pesticides, presque tous les paysans interrogés (programme LEC, Calendaire) affirment que la production du coton nécessite des traitements insecticides pour réduire les dégâts causés par les ravageurs. Dans tous les sites cotonniers échantillonnés, cette pratique est systématique.

2-2 - Sensibilité d'*Anopheles gambiae* aux insecticides

2-2-1 - Niveau de résistance des populations d'anophèles aux insecticides

Plus de 1800 moustiques ont été mis au contact des papiers imprégnés d'insecticide de perméthrine à 0,75% ; de

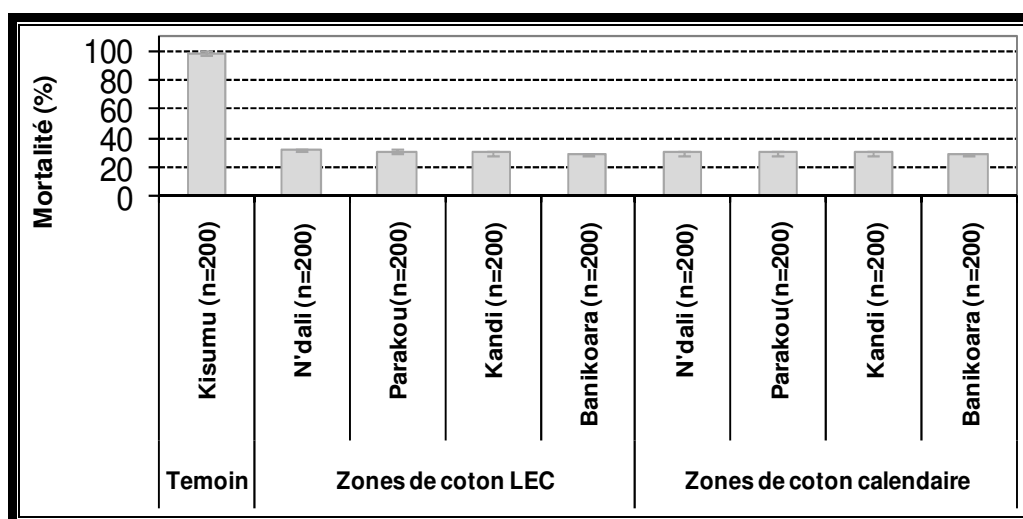


Figure 3 : Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* à la perméthrine à 0,75% selon le milieu et la zone de culture de provenance des anophèles.

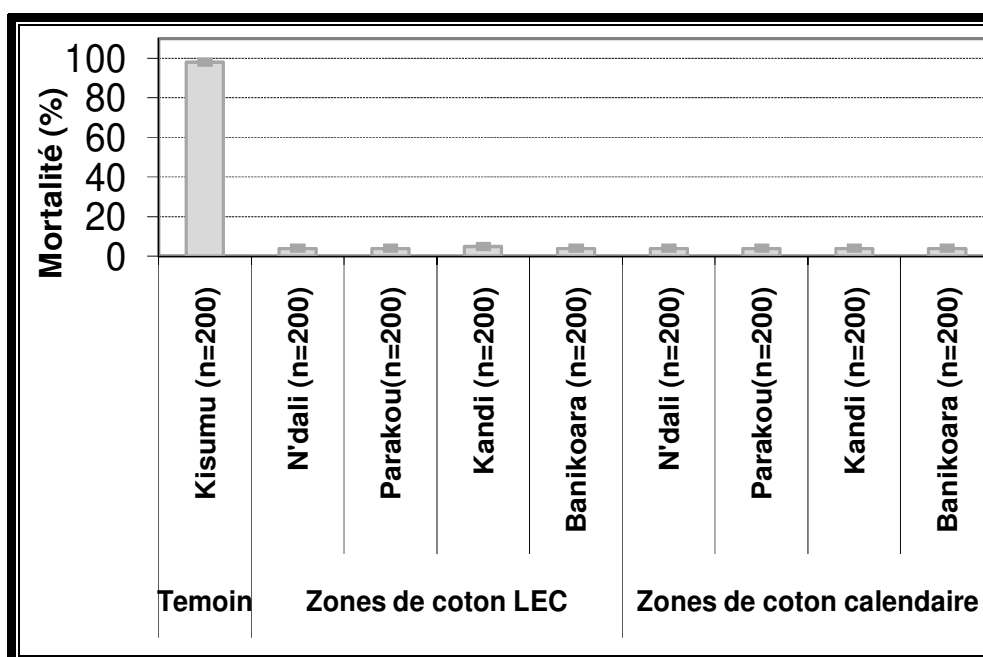


Figure 4 : Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* au DDT 4% selon la zone de culture et le programme phytosanitaire.

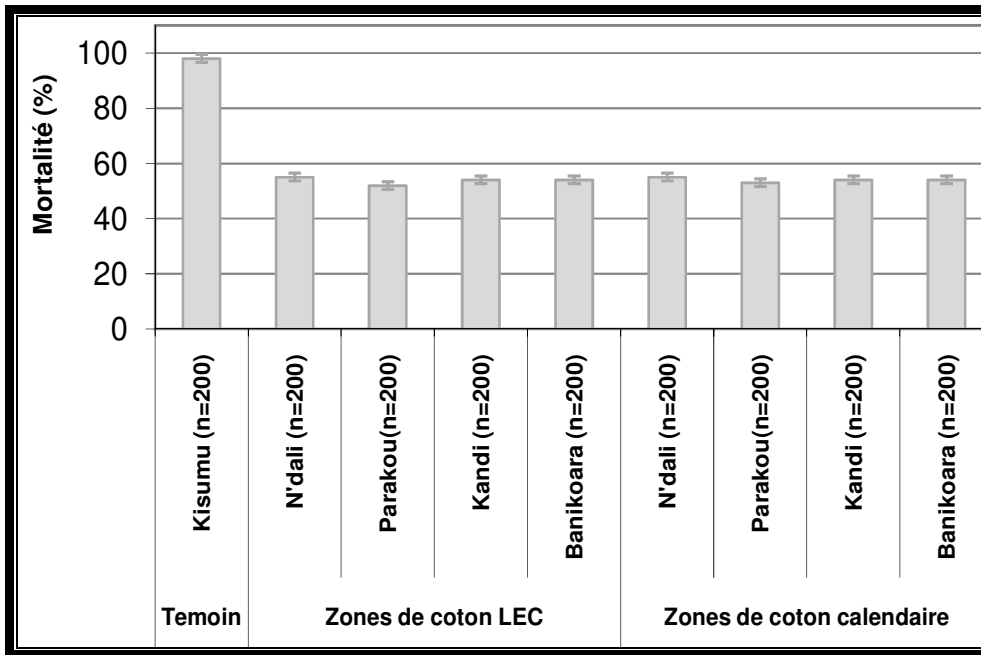


Figure 5 : Mortalité observée après exposition des populations d’*An. gambiae* à la deltaméthrine selon la zone de culture et le programme phytosanitaire.

deltaméthrine à 0,05% ; de DDT à 4% et de bendiocarb à 0,1%.

Les résultats obtenus suivant les insecticides utilisés montrent que :

✓ **La perméthrine**

En zone cotonnière (Parakou, N’dali, Kandi et Banikoara) à traitement calendaire, sur 200 moustiques testés dans chaque localité à la perméthrine, un pourcentage de mortalité de 30% en moyenne dans chacune de ces trois localités a été obtenu. Ces pourcentages indiquent une forte résistance des populations d’*An. gambiae s.l.* issues des milieux cotonniers à traitement calendaire (Figure 2). Le même constat a été fait dans les champs cotonniers à traitement LEC en ce qui concerne le taux de mortalité observé.

✓ **Le DDT**

Concernant le DDT, le niveau de résistance est plus élevé. A peine 4% des spécimens testés sont morts (figure 3) et cela quelque soit la localité et le programme.

✓ **La deltaméthrine**

Les populations de *An. gambiae* ont été résistantes vis-à-vis de la deltaméthrine avec un taux moyen de 48% de mortalité dans les zones de coton calendaire et 54% dans les zones de coton LEC (figure 4).

Par contre, ces mêmes populations ont été sensibles vis-à-vis du bendiocarb

III. DISCUSSION

Les résultats de nos travaux de recherche ont montré que *Anopheles gambiae*, principal vecteur du paludisme en Afrique au sud du Sahara a développé une forte résistance vis-à-vis des insecticides dans les zones de coton calendaire et à lutte étagée ciblée. Cette résistance aux insecticides montre qu’en milieu pulvérisé d’insecticides, l’avantage sélectif est conféré aux individus porteurs de l’allèle de résistance. Les particules chimiques contenues dans les insecticides exercent au sein d’une même population larvaire d’insectes une action létale sur un grand nombre des larves quand parallèlement, elles favorisent la sélection d’autres larves qui portent dans leurs génomes l’allèle de résistance.

En effet, l’utilisation et la généralisation des insecticides pour lutter contre les ravageurs des cultures en agriculture et principalement dans le coton, constituent les principaux facteurs ayant parallèlement favorisé la sélection des insectes porteurs de cet allèle de résistance au détriment de ceux sensibles aux produits chimiques. A titre illustratif, les pratiques paysannes en matière d’utilisation d’insecticides dans les zones maraîchères et surtout cotonnières pour lutter contre *Helicoverpa armigera* et *Plutella xylostella* (principal

ravageur du chou) constituent un facteur de sélection de la résistance non seulement au niveau des ravageurs des cultures mais aussi chez les vecteurs du paludisme [13]. Après les traitements avec insecticides, des particules chimiques entrent en contact avec les gîtes larvaires. Dans les années 1960, le rôle sélectif des insecticides à base de composés organochlorés (OC), utilisés exclusivement en agriculture, sur la résistance des populations d'*Anopheles gambiae* a été démontré au Mali dans des zones qui n'avaient auparavant fait l'objet de traitement en santé publique. En Côte-d'Ivoire et au Burkina Faso, il a été montré à la fin des années 1990 que le niveau de résistance des vecteurs aux insecticides de la famille des pyréthrinoïdes augmentait progressivement au cours de la saison cotonnière [8].

L'anophèle est un moustique qui pond ses œufs dans des petites flaques d'eau. L'effectif des populations devient très important pendant la saison des pluies qui est également celle de la culture cotonnière. Elle est aussi la période d'utilisation massive des insecticides pour la protection de la culture du coton et des autres plantes cultivées. La présence de résidus d'insecticides dans la couche superficielle des sols cotonniers ou d'autres sols grâce au ruissellement ou à l'infiltration est souvent suffisante pour contaminer les gîtes larvaires et favoriser la sélection de certaines larves de moustiques qui, une fois devenues adultes, présenteront des résistances aux produits chimiques.

Au Bénin, les pyréthrinoïdes ont été introduits en agriculture depuis 1980. On ne peut donc pas exclure qu'après 30 ans d'utilisation, on n'observe pas de signes de résistance chez certaines populations d'insectes notamment *Helicoverpa armigera*. La résistance d'*Helicoverpa armigera* aux insecticides s'est accrue depuis les années 1990. Par exemple, au Burkina - Faso, deux millions et demi de litres d'insecticides sont appliqués annuellement dans les champs cotonniers [8] pour lutter contre ce lépidoptère afin de limiter les pertes de production causée par cet insecte. Les travaux de Yadouleton et al.[14] ont montré que le niveau de résistance des populations d'*An. gambiae* issues des zones sous traitement insecticides est significativement plus important que celui des populations issues des zones sans traitement ($P < 0,05$). Ce constat confirme nos résultats et montre que l'utilisation des produits chimiques pour contrôler les ravageurs des cultures est un des facteurs qui contribuent à la sélection des gènes de résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des insecticides. Cette conclusion rappelle aussi les travaux de [15] qui ont montré que la résistance des moustiques aux pyréthrinoïdes et au

DDT est beaucoup plus élevée dans les zones cotonnières que dans les zones de cultures vivrières à faible utilisation d'insecticides.

IV. CONCLUSION

Le présent travail montre une fois encore que les traitements avec insecticides en agriculture sont responsables de la sélection de la résistance aux pyréthrinoïdes chez *An. gambiae* en Afrique de l'Ouest. Bien que les résultats soient encore préliminaires, ils débouchent néanmoins sur des perspectives scientifiques qui sont ambitieuses et prometteuses.

Il s'avère alors nécessaire de poursuivre cette étude sur plusieurs saisons pluvieuses afin de disposer de données moléculaires statistiquement plus significatives sur le gène knock down résistance et celle d'acétylcholinestérase

REFERENCES

- [1] Audibert M, Brun J-F, Mathonnat J, Henry M-C (2009), **Paludisme, production et revenu des producteurs de café et de cacao en Côte d'Ivoire, forth coming** in Revue d'Economie du Développement (March 2009).
- [2] Yadouleton AW, Padonou G, Asidi A, Moiroux N, Sahabi B, Corbel V, N'guessan R, Gbenou D, Yacoubou I, Kinde G, Akogbeto MC (2010a), **Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin**. *Malar J*, 9: 83.
- [3] Djogbéno L, Dabire R, Diabate A, Kengne P, Akogbeto M, Hougard JM, Chandre F(2008), **Identification and Geographic Distribution of the ACE-1R Mutation in the Malaria Vector *Anopheles gambiae* in South-Western Burkina Faso, West Africa**. *Am J Trop Med Hyg*, 78: 298–302.
- [4] Akogbeto M C, Djouaka, Noukpo H (2005), **Use of agricultural insecticides in Benin**. *Bull Soc Pathol Exot*, 98: 4005
- [5] Akogbéto M, Padonou GG, Gbenou D, Irish S, Yadouleton A. **Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa**. *Malar J*. 2010, 9: 204
- [6] Elissa N, Mouchet J, Riviere F, Meunier JY, and Yao K (1993), **Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Cote d'Ivoire**. *Ann Soc Belg Med Trop*, 73: 291-294.

- [7] Vulule JM, Beach RF, Atieli FK, Roberts JM, Mount DL and Mwangi RW (1994), **Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated bednets and curtains in Kenya.** *Med Vet Entomol*, 8: 71-75.
- [8] Diabate A, Baldet T, Chandre F, Akogbéto M, Guiguemde RT, Darriet F, Brengues C, Guillet P, Hemingway J, Graham JS, Hougard JM (2002c), **The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso.** *Am J Trop Med Hyg*, 67: 617–622.
- [9] Coetzee M, Craig M, and Le Sueur D (2000), **Distribution of African malaria mosquitoes belonging to the *Anopheles gambiae* complex.** *Parasitol*, 16: 74 - 77.
- [10] Anderson N, *Hobo L: Sociologie des sans-abris.* Paris Nathan, 1993.
- [11] WHO. **Evaluation de la santé. Rapport sur la Santé dans le monde. La vie au 21^e siècle, une perspective pour tous,** World Health Organisation (ed), Genève Suisse, 1998, 43-65.
- [12] Abbott W. **A method of computing the effectiveness of an insecticide.** *J Econ Entomol.* 1925;18:265–7.
- [13] Hougard JM, Duchon S, Darriet F, Zaim M, Rogier C. and Guillet P: **Comparative performances, under laboratory conditions, of seven pyrethroid insecticides used for impregnation of mosquito nets.** *Bulletin of the World Health Organization* 2003, 81:324-333.
- [14] Yadouleton AW, Martin T, Padonou G, Chandre F, Alex A, Djogbenou L, Dabiré R, Aïkpon R, Glitoh I, Akogbeto MC (2011), **Cotton pest management strategies on the selection of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* populations in northern Benin .** *Parasites and Vectors*, 4:60
- [15] Fanello C, Petrarca V, Torre D, Santolamazza A, Dolo F, Coulibaly G, Allouche MA, Curtis CG, ToureYT, Coluzzi M, **The pyrethroid knock-down resistance gene in the *Anopheles gambiae* complex in Mali and further indication of incipient speciation within *An. gambiae* s.s.** *Insect Mol Biol* 2003, 12: 241–245.