

CSNB - AVIS TECHNIQUE PRÉALABLE

I. Identification de l'OGM

Désignation de l'OGM: sorgho ABS188

Structure demandeuse: Pioneer-Hi-Bred international inc., Du Pont Business

Espèce: *Sorghum bicolor* L. Moench.

Caractéristiques insérées: niveaux améliorés de vitamine A et de biodisponibilité de zinc et de fer.

Méthode de modification: Transformation par l'*Agrobacterium*

Utilisation proposée: Expérimentation, en serre de rétention, de sorgho génétiquement modifié.

II. Informations générales

Pioneer-Hi-Bred international inc., Du Pont Business, par l'intermédiaire du mandataire local, l'Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA), a soumis à l'Agence Nationale de Biosécurité (ANB) une demande d'autorisation en vue d'une expérimentation en serre de rétention au Burkina Faso sur du sorgho génétiquement modifié. La modification concerne l'amélioration du niveau en vitamine A et une meilleure biodisponibilité en zinc et en fer. Cette expérimentation doit se mener en serre de rétention.

Le sorgho, *Sorghum bicolor* (L) Moench, est une herbacée annuelle de la famille des *Poacea* (ex-Graminées), sous famille des *Panicoïdées*, tribu des *Andropogonées*, et du genre *Sorghum* (Doggett, 1988). C'est une espèce monoïque considérée comme autogame. Le taux d'allogamie varie selon la race considérée : nul pour les variétés cléistogames (dont les fleurs ne s'ouvrent pas au moment de la fécondation), il est de l'ordre de 5 à 7% pour les variétés à panicules compactes (Doggett, 1988) et varie largement (20 à 29%) pour les variétés à panicules lâches notamment de la race *Guinea* (Ollitrault, 1987 ; Chanterau et Kondombo, 1994).

Le sorgho est la cinquième céréale cultivée dans le monde, après le blé, le riz, le maïs et l'orge. C'est la plus importante culture vivrière dans les régions tropicales semi-arides d'Afrique et d'Asie du Sud-Est (Murty et al., 1995). Il occupe en moyenne 43,2 millions d'hectares (période 1998-2007) soit 6,4% des superficies céréalières totales. La production en grain est estimée à 57,5 millions de tonnes pour la même période, ce qui représente 2,7% des

productions céréalières (FAOSTAT, <http://faostat.fao.org>). Le rendement moyen est de l'ordre de 1350 kg/ha. Ce chiffre couvre des disparités importantes entre les Etats-Unis (3500 kg/ha) et l'Afrique (865 kg/ha). En Afrique, le sorgho occupe 24,8 millions d'hectares, soit 56,6% des superficies mondiales consacrées à cette céréale. Au Burkina Faso, le sorgho est la première céréale alimentaire, et à ce titre, il occupe environ 1,4 millions d'hectares par an, soit 48% des superficies céréalières cultivées. La production grain (d'environ 1,8 millions de tonnes par an) est utilisée pour l'alimentation humaine (sous diverses formes) et animale (fourrage). Les tiges sont utilisées comme matériaux de construction et comme combustible.

Le sorgho soit de haute valeur énergétique mais la disponibilité du fer et du zinc des grains ainsi que le taux de vitamine A demeurent faibles. Par ailleurs, le sorgho a de nombreux ravageurs : des insectes tels que les pucerons, la mouche des pousses, les foreurs de tiges et la cécidomyie. La principale maladie dans les zones tropicales est l'anthracnose foliaire et la pourriture rouge des tiges causées par le champignon pathogène *Colletotrichum graminicola*. Dans les conditions de température et d'humidité favorables on peut assister à un développement de moisissures des grains causées par un complexe d'agents pathogènes (*Curvularia lunata*, *Fusaria*, *Aspergillus*, *Phoma sorghina*, *Mcrophomina phaseoli*, *Bipolaris spp.* etc.).

Le sorgho a un caractère allélopathique. Le constituant principal du sorgho qui cause l'activité allélopathique est le sorgolène (2-hydroxy-5-methoxy -3-(8':z,11':z)-8':,11':,14':-pentadécatriène) -p-benzoquinone). Le sorgolène est trouvé dans les exsudats de la racine de la plupart des espèces de sorgho et s'avère être une allélotoxine très efficace qui perturbe des fonctions mitochondriennes et empêche la photosynthèse. Il est recherché intensivement comme supprimeur d'herbe.

Le sorgho a naturellement des races sauvages (*S. brevicarinatum*, *S. nicoticum*, *S. verticilliflorum* et autres écotypes de sorgho) qui peuvent se comporter parfois comme de mauvaises herbes. Cependant certains d'entre eux sont des sources importantes de gènes de résistance aux maladies, aux insectes, source de tolérance à la sécheresse etc. Dans le cadre de l'étude envisagée, on ne pourra pas avoir des races sauvages parce que le sorgho sera cultivé en serre dans des pots.

Le sorgho cultivé comme sauvage peut produire du cyanure dans les jeunes plantules et dans le péricarpe des grains immatures qui peuvent empoisonner le bétail dans certaines conditions. Les concentrations de 0 à 25 mg HCN/100g dans un tissu sec sont considérées non toxiques pour le pâturage; les niveaux de concentration de 50 à 75 mg HCN / 100g sont considérés comme douteux et, les concentrations de 100mg HCN /100g comme fortement

dangereuses. Les diverses espèces animales réagissent différemment quand elles consomment les jeunes plants de sorgho ou les graines immatures contenant ces glycosides cyanogéniques car certains ont la capacité de détoxification (Vough et Cassel, 2009).

Le sorgho génétiquement modifié (sorgho ABS188) a été transformé par la technologie *Agrobactérium* et présente les caractéristiques d'un sorgho enrichi. Le grain a une plus grande biodisponibilité en fer (Fe) et en zinc (Zn), et une concentration plus accrue en vitamine A (B-carotène).

III. Description de l'OGM

Le sorgho ABS188 a été génétiquement modifié à travers une transformation par l'*Agrobactérium* utilisant l'introduction d'un fragment d'ADN. Les gènes utilisés sont venus du sorgho (Sorgho bicolore), de la bactérie *Escherichia* (CRT I), du maïs (*Zea mays*) et de la pomme de terre irlandaise (*Solanum tuberosum*), l'isomérase de phosphomannose (PMI) isolé par PCR d'*Escherichia coli*. Ainsi aucun agent pathogène de l'humain ou des animaux n'a été introduit. Le gène CRTI est longtemps utilisé pour la synthèse des caroténoïdes dans plusieurs espèces transgéniques telles que le riz, la patate douce, la pomme de terre, etc.

Le vecteur *Agrobactérium* pABS188 comprend les séquences suivantes:

- GBL1 PRO (ALT1) : Promoteur de la globuline 1 du maïs (PHP20926) avec un changement d'une paire de base (1pb) et une addition 1pb près de l'extrémité 3' pour corriger divers sites ouverts de lecture (ORFs). TATAAATGCGCG changé en TATAAATCCCGCG
- SB-LPA1 (TR1) : Fragment du gène codant pour la faible teneur en acide phytique (LPA1) du sorgho bicolore ; en vue de réduire l'expression du gène endogène dans le sorgho
- ADH1 INTRON6 : 6^{ème} intron de gène alcool déshydrogénase 1 du maïs
- GLB1 (ALT1) TERM : Termineur de la cassette de la globuline 1 du maïs, PHP20926, avec des changements de 2pb à coté de l'extrémité 5' en vue d'extraire divers sites ouverts de lecture (ORFs). GCTCGCCAAAA changé en GCTCGCTCAAA.
- GZ-W64A PRO : Promoteur du gène gamma zéine 27KD (protéine de stockage de la graine) du maïs
- ZM-PSY1 : séquence codante de synthétase de la phytoene, EST cfp3n.pk008.p15.fis du maïs

- SB-LEG1 TERM : séquence génomique descendante du gène Légumine du sorgho (inclut les 3' UTR). Isolée à partir de la lignée P898012 de sorgho
- SB-BKAF PRO : Promoteur de la beta kafarine du sorgho gouvernant des expressions de gènes dans l'endosperme du grain. Le promoteur a été isolé en utilisant les données de GSS. (Les kafarines du sorgho sont équivalentes aux zéïnes du maïs)
- POIS SSU TP : Petit peptide de transit de sous-unité de Rubisco du pois
- CRT I (UE) : gène CRT I (réductase de caroténoïde) de la bactérie *Erwinia*, pour la biosynthèse de vitamine A. De Peter Beyer, U. de Freiburg.
- SB-GKAF TERM : Termineur du gène gamma Kafarine du sorgho. Isolé à partir de la séquence génomique du sorgho (la lignée P898012 de sorgho).
- UBI1ZM PRO : Promoteur du gène d'ubiquitin du maïs
- UBI1ZM 5UTR : 5UTR du gène d'ubiquitin du maïs
- UBI1ZM INTRON1 (PHI) : Premier intron de gène d'ubiquitin du maïs ; isolé dans la lignée B73 de maïs à PIONEER.
- PMI (ABS) : isomérase de phosphomannose (PMI) isolé par PCR de *Escherichia coli* (TOP10) ; site BssHII introduit près de l'extrémité 3'.
- PINII TERM : Région termineur du gène protéinase inhibiteur II de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*).

L'insertion de LPA1 a visé la réduction de la formation de l'acide phytique qui rend le Fe et le Zn moins disponibles pour l'homme. Les deux gènes PSY1, CRT1 ont été introduits dans le sorgho pour produire la phytoène synthétase et la phytoène désaturase nécessaires à la synthèse de la bêta-carotène (vitamine A).

Le génotype potentiellement instable ne peut se produire que dans les cas où le nombre de copies de gènes insérés est élevé. Dans le cas du sorgho ABS188, cela ne sera pas possible parce que le processus de transformation utilisé est un système d'agro-bactérie et qu'un système rigoureux de sélection des plants transgéniques a été appliqué. Les critères suivants ont été appliqués lors de la phase de sélection des plants transgéniques : complète intégration du gène (pas de troncation), stable expression du gène (stabilité du caractère) dans les générations avancées, site unique d'insertion (simple locus) d'une copie unique du gène inséré (une seule copie du gène). La transformation génétique par *Agrobacterium* transfère le plus petit nombre possible de copie de gène (1 ou 2) et conserve de ce fait la stabilité génétique pendant des décennies. C'est le cas connu par exemple chez le soja, le maïs, le canola, le riz, le blé et le sorgho (Zhao, 2006). Des produits d'*Agrobacterium*, tels que SYN-IR6Ø4-5 (MIR604), MON-89Ø34-3 (MON89034), SYN-E3272-5 (événement 3272), ACS-BNØ11-5

(OXY-235), 23-18-17, 23-198, DAS-59122-7 (DAS-59122-7) ont été contrôlés et commercialisés dans un certain nombre de pays (www.agbios.com).

Il ya ségrégation mendélienne du caractère génétique introduit au cours d'une génération. En effet la PCR (Polymerase Chain Reaction) quantitative a été effectuée sur les plantes T0 et T1 et a confirmé la présence d'une copie simple des éléments génétiques insérés (LPA1, PSY1, CRT I, et PMI). On a analysé les grains T1 des plantes T0 autofécondées pour l'expression des caroténoïdes et la ségrégation mendélienne (3 :1). On a alors analysé des sous-ensembles des grains à caroténoïde et sans caroténoïde pour confirmer la co-ségrégation de la suppression des phytates avec le phénotype de caroténoïde. Des études mendéliennes de ségrégation des grains T1 basées sur la coloration jaune des grains ainsi que les concentrations en phytate ont été effectuées. Le caractère génétique introduit est stable pendant plusieurs générations. Les concentrations en phytate (IP6) et en caroténoïdes (lutéine, zeaxanthène et bêta-carotène) des grains ont été déterminées pour les plants T0 (T0 transformée et T0 non-transformée), T1 (T1 transformée et T1 non-transformée), T2 (T2 transformée et T2 non-transformée) et le matériel génétique source non-transformé (lignée TX430). Ces analyses ont prouvé la stabilité des caractères dans les générations d'autofécondation.

IV. Les protéines exprimées (gènes exprimés)

Dans le sorgho ABS188 bio fortifié, l'expression de la kinase myoinositol est atténuée, réduisant de ce fait la capacité de la graine à accumuler le phytate ce qui permettra d'augmenter la biodisponibilité du Fer et du Zinc. La suppression des gènes est accomplie au niveau de la graine pour promouvoir l'expression induite par initiation des brins d'ARN en vue de supprimer l'expression du gène de transcription de la kinase. L'expression de la phytoène synthase et des enzymes de dénaturation du phytogène se fait au niveau de l'endosperme. La concentration en pro-Vit A (bêta-carotène) du grain sera accrue, semblable à celle du riz doré. La synthèse des caroténoïdes dans le sorgho ABS188 est remarquable sur la graine (le grain prend une couleur dorée) et peut servir de marqueur visuel pour la reconnaissance du sorgho transgénique. La mesure directe des quantités d'ARN et/ou de la protéine n'ont pas encore été effectuées.

V. Les caractéristiques agronomiques

Les comparaisons entre le sorgho transgénique et le sorgho non-transgénique n'ont montré aucune différence entre les deux pour ce qui concerne les taux de germination des graines dans 6 essais. En outre, la vitesse de germination, la hauteur de la plante, la vitesse de croissance des plantes, le cycle semis-floraison, la durée de la floraison, le cycle floraison-maturité, et l'uniformité des grains pour l'usinage n'ont pas présenté de différence entre les plantes transgéniques et les plantes non-transgéniques. La modification génétique ne vise pas à modifier les caractéristiques allélopathiques du sorgho, elle ne modifie aussi ni la dormance, ni la viabilité des graines. Elle ne vise à modifier ni la dispersion des pollens, ni la dispersion des graines, ni la multiplication végétative. On ne prévoit pas aussi la survenue d'effets génétiques secondaires indésirables.

VI. Les aspects environnementaux – Sécurité environnementale

Aucun avantage sélectif ou désavantage n'est conféré au sorgho ABS188 par la transformation génétique opérée. En effet, l'amélioration de la biodisponibilité du fer et du zinc ainsi que la concentration en provitamine A du grain n'ont pas affecté la germination, le taux de croissance et la productivité de la plante. Les niveaux de diminution des phytates des grains n'ont pas engendré des réductions de vigueur de la plante GM par rapport à la plante non-GM. De ce fait, l'OGM n'a pas d'effet potentiel sur la biodiversité. Aussi, le caractère allélopathique connu du sorgho ne pourra pas nuire à d'autres espèces car dans la présente expérimentation, la plante de sorgho sera cultivée en pots dans la serre et il n'y aura pas d'autres espèces à proximité.

Pour ce qui est de l'échange de gènes avec l'extérieur, le sorgho est une plante préférentiellement autogame. Cependant, Ejeta et Grenier (2005) et Warwick et Stewart (2005) ont montré que l'existence des formes intermédiaires de sorgho dans la plupart des régions des zones chaudes et tempérées, confirme une évidence d'introggression entre formes cultivées et sauvages. Casa et *al.* (2005) ont montré qu'il y'avait des introgressions entre formes cultivées et sauvages à l'origine d'une différenciation génétique relativement moins importante. Des hybridations sont fréquemment observées entre les races *aethiopicum* et *arundinaceum* (évoluant dans les mêmes habitats) au nord du Nigéria. Le taux est variable en fonction des caractéristiques de l'inflorescence (race botanique), et de la partie de la panicule considérée. Les taux d'allogamie rapportés sont de l'ordre de 5 à 7% (Doggett, 1988) pour les

variétés à panicule compacte. Djé *et al.* (2004) ont rapporté des valeurs de 7 à 16% sur les variétés locales à panicules plus compactes de race *Durra* et *Durra-Bicolor* du Nord-Ouest au Maroc et de 20 à 29%, sur les sorghos de la race *Guinea*. Le sorgho GM est viable dans les environnements ouverts comme le sorgho conventionnel. Environ 70% de pollen de sorgho peuvent germer dans les cinq minutes qui suivent leur libération (Lansac *et al.* 1994 ; Tuinstra et Wedel ; 2000). Dans l'expérimentation prévue, les précautions d'isolement ne permettront pas d'avoir d'autres sorghos à proximité du site retenu et le sorgho OGM sera contenu dans une serre de niveau 2.

Toujours dans le but de la sécurité environnementale, l'expérimentation prévoit après la récolte, de détruire par combustion les plantes restantes et autres résidus végétaux. La terre utilisée dans les pots sera stérilisée à l'autoclave avant et après les expériences pour tuer tout germe.

VII. Les aspects liés à la santé humaine et animale

Le sorgho peut produire des substances toxiques telles que le cyanure mais sa toxicité pour l'homme et les animaux est peu probable car il n'y a eu aucun rapport de toxicité accrue dans la plante. Les expériences exécutées à Porto Rico et en Californie n'ont pas montré de toxicité quelconque pour les humains ou pour les animaux (Anon, 2008). Aussi, le sorgho GM n'a pas été signalé comme source d'allergène affectant les humains. Par ailleurs à cause des mesures d'isolement de l'expérimentation dans la présente étude, le sorgho GM ne sera pas accessible aux animaux et aux humains ; ce qui contribue à éliminer l'éventualité de l'empoisonnement par le cyanure des jeunes organes du sorgho.

D'autre part, des expériences sont en cours pour évaluer la toxicité des protéines exprimées (LPA1, PMI, CRT1 et PSY1) dans les ABS. Il faut noter que les mêmes gènes (PMI, CRT1 et PSY1) ont été utilisés pour développer le riz doré et l'évaluation n'a pas pour l'instant révélé leur toxicité. (http://www.goldenrice.org/Content2-How/how-3a_biosafety.html).

VIII. Mesures sécuritaires pour l'expérimentation

L'expérimentation en serre sera effectuée à la station de l'INERA de Kamboinsé situé à 15Km de Ouagadougou (12.4°N, 1.5°W) en zone Soudano-sahélienne du Burkina Faso avec des précipitations de 750 mm par an. L'endroit a été choisi pour que les plantes OGM

cultivées en serre soient à côté du laboratoire de biologie moléculaire bien équipé pour les analyses.

Le sorgho transgénique ABS188 à importer de PIONNEER sera constitué de 800 graines T2 ou T3 (plant T0 autofécondée 2 ou 3 fois) homozygote pour le locus ABS et seront semées en pots dans une serre de niveau de sécurité 2. Toutes les entrées dans la serre ont un double-verrouillage avec l'accès limité seulement au personnel autorisé, avec un registre pour vérifier les entrées et sorties. La serre aura également des salles de vestiaire, une salle de stérilisation et un magasin. Tous les passages où pourrait passer le pollen sont protégés par une grille à mailles fines de 50 microns pour empêcher la sortie des grains de pollen. Des scientifiques de l'INERA ont été formés sur les principes et le contrôle de la serre de niveau de sécurité 2 et assureront le fonctionnement. Par ailleurs, la serre est loin des parcelles d'expérimentation et des villages (plus de 500 m de distance).

Après la culture du sorgho transgénique en serre pendant 4 mois, les graines des trois lignes centrales seront récoltées et entreposées dans un lieu de stockage approprié selon les normes de biosécurité. Les plantes restantes et autres résidus végétaux seront détruits par combustion. Tous les sorghos (cultivés ou non avec des mauvaises herbes) se développant à moins de 20 m autour de la serre seront détruits régulièrement avant floraison pendant la durée des expériences.

La terre utilisée dans les pots sera stérilisée à l'autoclave avant et après les expériences pour tuer tout germe. Le mur de la serre sera décontaminé et ainsi la serre pourra être employée pour autre expérimentation sur les OGM.

IX. Conclusion

L'ANB après appréciation du rapport d'évaluation des risques du sorgho transgénique ABS188 par le CSNB, a autorisé par les arrêtés numéro 2011/0008 /MRSI/SG/ANB du 14 Juin 2011 et N° 2011/0009 /MRSI/SG/ANB du 14 Juin 2011, ce qui suit :

- 1) l'importation de 800 graines de semences de sorgho transgénique ABS188 ;
- 2) l'expérimentation en serre de biosécurité de niveau 2 du sorgho transgénique qui devrait porter sur :
 - a. la production de grains pour l'analyse moléculaire de l'expression des caractères et des gènes insérés ;
 - b. l'introgession des gènes ABS dans le matériel local et l'évaluation de leur niveau d'expression dans différents fonds génétiques et dans les séries de filiations d'autofécondation et de back-cross ;

- c. l'évaluation de l'expression phénotypique des gènes ABS dans le matériel génétique local ;
- d. la production d'une plus grande quantité de grains pour de futures expériences en serre de biosécurité.

Ces autorisations sont assorties des conditionnalités suivantes :

- (v) La firme Pioneer-Hi-Bred international est tenue de prendre toutes les mesures nécessaires pour garantir la sécurité de l'ensemble des matériels faisant l'objet de mouvements transfrontières conformément aux règles et normes nationales et internationales correspondantes. Elle doit en particulier :
 - Notifier à l'ANB, au moins sept (07) jours à l'avance, le premier mouvement transfrontière de semences ; cette notification doit se faire par écrit et doit comporter les informations suivantes : la nature des semences, la date d'envoi, la date d'arrivée présumée sur le territoire national, le moyen de transport et l'adresse complète de la compagnie de transport, l'adresse complète de la personne morale ou physique chargée de la réception des colis et un plan de gestion d'urgence en cas de dissémination involontaire incluant le coût estimatif de l'opération ;
 - Importer les semences en utilisant des contenants parfaitement étanches et indiquer sur le document accompagnant le colis et si possible sur le contenant, la mention : « ce colis contient des semences transgénique et est destiné à (adresse du destinataire) » ;
 - Réceptionner le matériel à l'aéroport en présence de l'ANB
 - Présenter le colis au service des douanes à l'entrée ; s'acquitter des formalités douanières et ne retirer le colis que lorsque l'autorisation d'enlèvement est accordée par le service des douanes ;
 - S'assurer que les mesures nécessaires sont prises pour prévenir toute dissémination involontaire durant les opérations de déchargement et de transport jusqu'au destinataire final ;
 - Respecter toutes autres conditions prescrites pour développer, utiliser, disséminer les OGM sur tout le territoire Burkinabè ;
 - Se conformer à toute autre législation applicable et réglementaire dans le domaine des importations au Burkina Faso.
- (vi) La firme Pioneer-Hi-Bred international est tenue de s'acquitter des frais de contrôle et d'inspection des opérations auprès de l'ANB avant toute opération

d'importation des semences. Elle est aussi tenue de s'acquitter des frais de contrôle et d'inspection des sites d'expérimentation auprès de l'ANB avant le début des semis.

- (vii) La firme Pioneer-Hi-Bred international doit, avant le début de l'essai :
- Apporter des précisions sur le schéma du dispositif expérimental et sur la gestion des 800 graines ;
 - S'assurer auprès de l'ANB de la conformité de la serre (niveau 2) ;
 - Fournir la liste du personnel concerné par les essais et leurs antécédents médicaux ;
 - Fournir les codes d'autorisation et les résultats antérieurs des essais référencés menés aux Etats Unis et à Porto Rico ;
 - Fournir les données existantes sur la toxicité du matériel transformé ;
 - Fournir les références bibliographiques des réponses aux exigences relatives aux informations sur le matériel transformé.
- (viii) La firme Pioneer-Hi-Bred international est, par ailleurs, soumise au respect des mesures de sécurité nécessaires conformément aux éléments ci-dessous :
- Respect du dispositif expérimental défini ;
 - Notification à l'ANB de toute modification intervenant au cours de la mise en œuvre du protocole expérimental ;
 - Notification à l'ANB, au moins quatorze (14) jours à l'avance, des dates de semis et de récolte ;
 - Collecte et diffusion de toutes les données prouvant l'innocuité du gène ;
 - Utilisation de contenants étanches lors des opérations de récolte, de transport et de stockage des semences ;
 - Destruction par brûlage en présence d'huissier et de représentant de l'ANB des semences et des résidus de récolte ;
 - Application des modalités de surveillance du lieu des essais (conditions d'accès, fréquence de la surveillance, nombre de gardien prévu) ;
 - Application d'un plan d'urgence en cas de dispersion accidentelle
 - Présentation des résultats des expérimentations réalisées sur le sorgho transgénique ABS188.

L'Agence nationale de biosécurité et les structures impliquées sont chargées de veiller au respect des arrêtés portant autorisation d'importation de semences du sorgho transgénique

ABS188 et, autorisation pour des essais en serre de rétention. Notamment, l'ANB est tenue de procéder périodiquement au contrôle et à l'inspection des dispositifs de sécurité ainsi qu'au suivi de l'évaluation des impacts environnementaux tout au long de la durée de l'expérimentation.

X. Références bibliographiques

- Anon 2008. Monsanto/Renessen High Lysine Corn LY038
(<http://www.agbios.com/dbase.php?action=Submit&evidx=513>)
- Casa M. A., Mitchell S. E., Hamblin H. T., Sun H., Bowers J. E., Paterson A. H., Aquadro C. F., Kresovich S., 2005. Diversity and selection in sorghum: simultaneous analyses using simple sequence repeats. *Theor. Applic. Genet.*, 111 :23-30.
- Chantereau J., Kondombo C., 1994. Estimation du taux d'allogamie chez le sorgho de race Guinée. In Progres in food grain research and production in semi-arid Africa, JM Menyonga et al. Ed, Ouagadougou, Burkina Faso, SAFGRAD, 309-314.
- Doggett H., 1988. Sorghum. London and Harlow (GB), Longman Scientific and Technical, (2^{ème} édition), 512 p.
http://www.goldenrice.org/Content2-How/how3a_biosafety.html
- FAOSTAT, <http://faostat.fao.org>
- Lansac A. R., Sullivan C. Y., Johnson B. E. and Lee K. W., 1994. Viability and germination of the pollen of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Ann. Bot.* 74:27-33.
- Murty D. S., Tabo R., Ajayi., 1995. Production et gestion des semences d'hybride du sorgho. ICRISAT, Inde, 41 :68 p.
- Ollitrault P., 1987. Evaluation génétique des sorghos cultivés (*Sorghum bicolor* L. Moench) par l'analyse conjointe des diversités enzymatiques et morpho-physiologique ; relation avec les sorghos sauvages. Thèse de doctorat en Science de la vie, Université Paris XI, Orsay, 187 p.
- Tuinstra M. R. and Wedel J., 2000. Estimation of pollen viability in grain sorghum. *Crop Science* 40:968-970.
- Vough L. R. and Cassel E. K., 2009. Prussic Acid Poisoning of Livestock: Causes and Prevention. Extension Exyra 4016.
(<http://www.agbiopubs.sds.sdsstates.edu/Articles/ExEx4016.pdf>).
- Zhao Z., 2006. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). In Kan Wang (Ed) of *agrobacterium* protocols. Methods on Molecular biology. Humana Press Inc. Totowa, N.

L e Comité Scientifique National de Biosécurité