RP 1 5481

CIRAD-CA

UPR « Systèmes cotonniers »

University of Pretoria

University of Pretoria
Department of Plant Production
& Soil Science

INRA
Institut National de la Recherche Agronomique
Centre de Rennes - Le Rheu

Etude des flux de gènes entre le cotonnier cultivé et les espèces voisines dans les agrosystèmes sud africains.

Projet « Impact des OGM », Ministère de la Recherche
MFD/AO OGM 0217

Rapport de la campagne agricole 2004-2005

Coordinateurs de Projet :

Jean-Luc HOFS (Afrique du sud)
Bernard HAU (France)

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

CIRAD
000015221

DK-53 1861

CHAPITRE III

Estimation de la dispersion du pollen dans des populations de cotonniers

J-L Hofs [a], A.-M. Chèvre[b], J. Pierre[b], B. Hau[a], D. Marais[c]
a : Cirad-Ca, UPR Systèmes Cotonniers, Montpellier, France.
b : Inra, Centre de Rennes, France.
c : Université de Pretoria, Dept. of Plant Production and Soil Science, Afrique du Sud.

Etude bibliographique

La dispersion du pollen chez le cotonnier en conditions naturelles est très variable.
La présence d'insectes influence fortement les taux d'hybridations (intercroisements) (Elfawal et al. 1976 ; Moresco et al. 1999) et fluctue en fonction du lieu et du temps (Moffett et al. 1975, 1976). De nombreuses études basées sur l'observation au champ rapportent des taux d'hybridation inférieurs ou égal à 10% (Meredith & Bridge 1973 ; Gridley 1974 ; Theron & Van Staden 1975 ; Elfawal et al. 1976 ; Umbeck et al. 1991 ; Llewellyn & Fitt 1996). Des pourcentages plus élevés atteignant 25% ont été mentionnées mais sont moins fréquents (Smith 1976 ; Moresco et al. 1999). Certains auteurs (Richmond 1951 ; Oosterhuis & Jernstedt 1999) ont rapporté des fréquences atteignant 80%.

Chez les cotonniers diploïdes, la dispersion naturelle du pollen n'a pas été aussi profondément investiguée que chez les espèces tetraploïdes cultivées. Aucune donnée d'intérêt n'a pu être rassemblée sur *G. herbaceum*. Cependant une espèce proche de *G. herbaceum* a été étudiée : *G.arboreum* (var *neglectum*, forma *bengalensis* Hutchinson and Ghose) dont le cultivar indien (39-Mollisoni) a été utilisé par Afzal et Khan (1950) dans des essais de dispersion. Dans ces essais, les taux d'allogamie ne sont pas différents de ceux observés chez G.hirsutum (2% environ à 1 m de distance).
En Australie, Brown et al. (1994) indiquent que les taux d'allogamie chez *G. australe* et *G. sturtianum* sont faibles sans pour autant indiquer des distances de dispersion précises.

De nombreux auteurs (Thomson 1966 ; Mungomery & Glassop 1969 ; Galal et al. 1972 ; Theron & Van Staden 1975 ; Elfawal et al. 1976 ; Chauhan et al. 1983 ; Umbeck et al. 1991 ; Llewellyn & Fitt 1996) s'accordent à dire que les intercroisements sont localisés près de la source de pollen et décroissent significativement avec la distance.
Ces résultats proviennent de populations homogènes de cotonniers, c'est-à-dire de champ sans discontinuité de végétation. Dans le cas de parcelles séparées par un terrain nu les taux d'hybridations sont relativement plus élevés pour une distance donnée par rapport à la source (Green & Jones 1953 ; Galal et al. 1972).

Le tableau 3-1 présente une sélection non exhaustive des fréquences de croisements naturels chez le cotonnier upland en fonction de distances très variées.

Tableau 3-1 : fréquences de croisements naturels selon la distance de la source chez G.hirsutum

Distances à la source (m)			1	5	10	15	25	30	100	150
Auteur	année	Lieu	Pourcentages de croisements naturels							
Stephens		Texas	100	57	-	-	-	-	-	-
Simpson	1954	Tenn.	27.2		4.5	2.5	2.6	-	-	-
Afzal	1947	Inde	1.78	0.19	0.085	0.0135	0.0188	0.0808	0	0
Llewellyn	1996	Austral	0.15	0.08	-	0.03	-	-	-	-
Xanthopoulos	2000	Grèce	3.85	-	0.31	-	-	-	-	-
Brown (1)	1918	Miss	5.6	<1	0	0	0	0	0	0
(2)	1919		14 .8	3.2	1.9	0.6	-	-	0.06	-
Pope et al.	1944	Ten	-	-	-	-	-	-	-	0.9

Etudes de terrain

Les études relatives à la modélisation de la dispersion du pollen dans des peuplements de cotonniers sont regroupées dans l'action 5 du projet « flux de gènes ». Durant cette campagne 2004-2005 trois essais ont été mis en place dans des stations de recherche sous la supervision d'agronomes de l'ARC :

1) essai de dispersion dans une population homogène de cotonniers à Rustenburg.
2) essai de dispersion dans une population homogène de cotonniers à Makhathini.
3) essai de dispersion entre parcelles (population discontinue) de cotonniers à Rustenburg.

L'essai de dispersion dans une population homogène de cotonniers à Rustenburg a été reconduit sur la parcelle utilisée l'année précédente et dont les cotonniers avaient été recépés après récolte. Les plantes ont repoussé et ont donné une densité de population suffisamment satisfaisante que pour réutiliser le matériel végétal en deuxième année (moyennant une modification de la taille des capteurs de pollen).

Les résultats observés à Rustenburg en 2003-2004 avançaient l'hypothèse du rôle de *Astylus atromaculatus* dans la pollinisation croisée et la discontinuité de fréquences qui pourraient en être la cause. Entendu que l'objectif de l'étude dépasse l'approche descriptive pour tendre vers une approche plus prévisionniste, il était nécessaire de vérifier la possibilité de transposer le résultat de Rustenburg dans un autre environnement où le coléoptère serait absent. Par conséquent, l'essai de dispersion dans une population homogène de cotonniers a été implanté à la station de recherche agronomique de Makhathini selon un protocole similaire à celui de Rustenburg en 2003-2004 (seule la superficie du champ récepteur a été modifiée).

Enfin, pour répondre aux questions concernant la dispersion du pollen dans le cas de parcelles discontinues, un essai a été établi prenant en compte une séparation de sol nu et une parcelle de tournesols.

L'ensemble des récoltes a été traité à la station ARC de Rustenburg. Le semis des graines viables des capteurs récoltés en juin 2005 dans les 3 essais a eu lieu le 17/10/2005. Les comptages ont été effectués durant les mois de novembre et décembre.

Présentation des résultats

Les résultats sont présentés sous deux angles à la fois différents et complémentaires. Dans un premier temps et à la suite de la présentation du protocole de chaque essai, nous reprendrons l'approche « ponctuelle » de dispersion des fréquences présentée dans le rapport de la campagne antérieure et qui aborde les résultats en fonction de la position des fréquences d'hybridation dans le champ. En fin de chapitre (page 83) nous présenterons une approche plus globale de la dispersion en tenant compte des fréquences moyennes d'hybridation en fonction de l'éloignement de la source de pollen.

1 Essai de dispersion dans une population homogène de cotonniers à Rustenburg

Protocole expérimental

Au centre d'une parcelle de cotonnier (Nu Opal) de 1 hectare, a été semé une micro parcelle de 10m*10m d'une variété de cotonnier (DPL 5690RR) possédant un gène marqueur (Round Up Ready). La parcelle centrale est appelée émettrice [PE] ou encore source, son enceinte est appelée parcelle réceptrice [PR]. Après une campagne d'essai en 2004, les cotonniers ont été coupés à 10 cm du collet, en intercampagne. Les premières repousses sont apparues mi-septembre 2004. Le recépage des plants (appelé ratooning) a l'avantage d'obtenir une floraison plus précoce. La densité de population avoisinait 30.000 plants/ ha, soit une occupation plus relâchée du terrain qu'en 2004.

Observations réalisées en cours de campagne :
Observation des pollinisateurs (rapportée dans la partie 2).
Indication des vents dominants.
Enregistrement des conditions climatiques (nombre de jours de pluie pendant la floraison, quantité en mm).

Description des capteurs :

Compte tenu de la faible densité de population dans le champ, la taille, la structure et le nombre des capteurs ont été modifié par rapport à l'année précédente : le capteur était constitué de toute plante contenue dans un périmètre de 2 x 3 m à la position indiquée.
Comme sur une mappemonde, nous avons défini l'emplacement d'un capteur par rapport à sa « longitude » et sa « latitude », exprimée en mètre ou degré par rapport au méridien 0 (matérialisée par la ligne centrale verticale du plan parcellaire) et l'équateur (matérialisé par la ligne horizontale centrale du plan parcellaire). Nous appellerons ce système de localisation « référentiel champ » [RC].
Tous les 10 mètres, selon une grille 10*10 à travers la PR, des « capteurs de pollen » ont été identifiés.

Conditions environnementales

Les côtés est et nord (en coordonnées géographiques [CG]) du champ étaient bordés par des cultures de tournesol. La parcelle de cotonnier la plus proche était située à 750 mètres de la bordure du champ expérimental. La zone résidentielle longeait le côté ouest du champ et au sud [CG], se trouvait une zone de taillis. L'utilisation de ruches additionnelles en bordure de champ n'a pas eu lieu cette année.

Le nombre de jours pluie n'a pas été trop élevé dans l'ensemble (Figure 3-2): c'est au mois de décembre 2004 que la pollinisation a été le plus perturbée (12 jours). A noter qu'un jour considéré comme pluvieux correspond à une précipitation supérieure à 1mm.

Les vents dominants soufflent dans la direction nord-est – sud ouest.

Figure 3-1 : Schéma de l'essai de dispersion dans un peuplement homogène (Rustenburg).

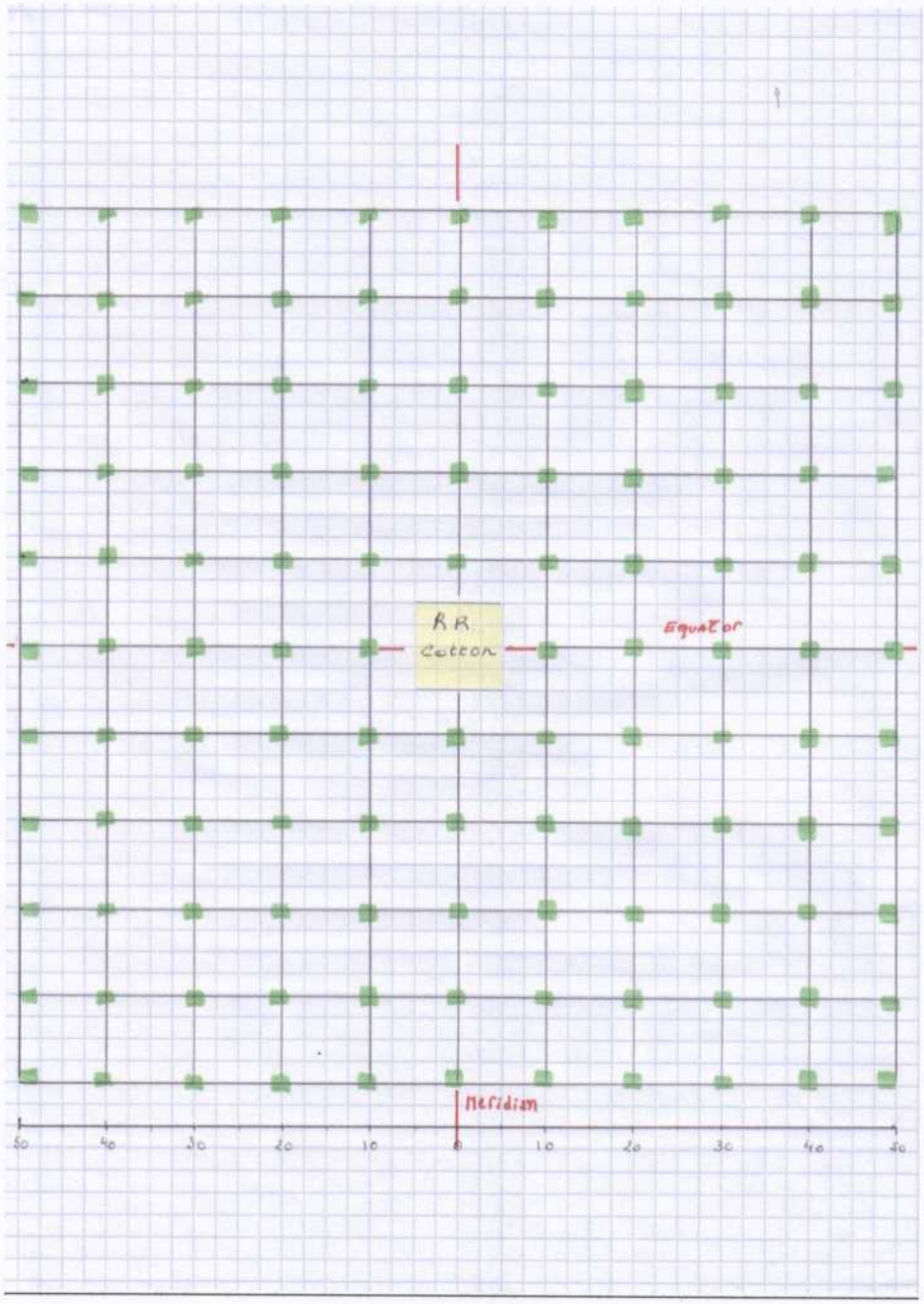
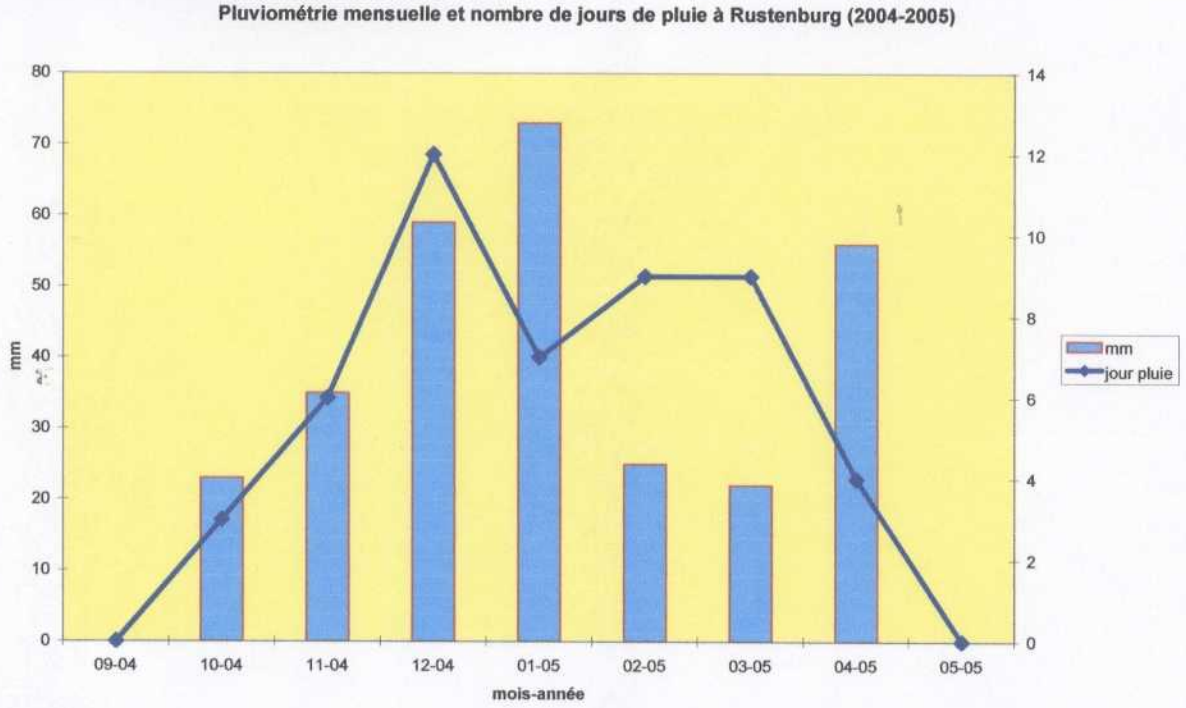


Figure 3-2 : Précipitations mensuelles à Rustenburg



Récolte et conditionnement des semences

Les capteurs composés d'un nombre variable de plants, ont été récoltés individuellement dans des sachets de papier. Le coton-graine a été égrené et les graines conservées dans leur sachet individuel. Elles ont été ensuite délintées à l'acide et triées, puis les graines saines ont été séchées au soleil sur des cadres de treillis. Une fois sèches, les semences ont été comptées, pesées et placées dans sachets numérotés conformément à la grille de récolte du champ d'essai.

Semis de la descendance pour test d'hybridation et sélection

En octobre 2005 un terrain a été préparé pour le test de résistance au Glyphosate (RoundUp ™). Les graines ont été semées à la main. Dans notre plan expérimental, un capteur correspondait à une ligne de semis dont la longueur était variable mais n'excédait pas 50 m. et dépendait de la quantité de semences disponibles. L'entièreté des graines a été semée en adaptant la densité de semis dans la ligne.

Les descendances des capteurs étaient regroupées en blocs correspondant aux lignes du champ de dispersion (désignées par une lettre –A,C ,E…). Ces blocs étaient encadrés de deux lignes de témoins : un témoin de la même nature que le récepteur (NuOpal) et un autre, Round Up Ready comme la PE. Ces témoins ont permis d'évaluer l'efficacité de l'application d'herbicide et la comparaison des symptômes.

Trois semaines après le semis, les plantules émergées ont été comptées sur l'entièreté de la ligne. Elles ont ensuite reçu deux applications de Glyphosate à une concentration de 2 l/ha dans un intervalle de 15 jours. La lecture des symptômes consistant à compter le nombre de

plants sains (ne présentant pas de signes de dessèchement ou brûlures) a été réalisée 10 jours après chaque pulvérisation.
Une seconde pulvérisation d'herbicide après la (première) lecture se justifie par la volonté de réduire le risque de compter des plantules n'ayant pas incorporé le gène et ayant esquivé le traitement comme résistante. Généralement l'absence de symptômes provient d'un mauvais réglage des buses de l'asperseur ou d'un recouvrement d'une plantule par un plant de plus grande taille. Cette seconde cause est contrôlée et remédiée si besoin lors de la première lecture. Cette méthode évite l'utilisation coûteuse (et peu disponible dans un pays en développement) d'un test de confirmation PCR au laboratoire à partir des plantules « résistantes » récoltées individuellement.

Résultats

Rappel des résultats de 2003-2004

Nous présentons les résultats de la campagne précédente sous une forme graphique plus aisée à interpréter que le patchwork édité dans le rapport d'activités 2003-04.
La PE RR est représentée par le bloc de niveau 100% de fréquence. Les résultats sont présentées sous deux angles par rapport à l'orientation géographique du champ (face est et ouest) pour permettre la visualisation de l'entièreté des fréquences de croisement.

La distribution de fréquences observée dans nos essais en 2003-04 est relativement différente de celles publiées jusqu'alors. Les ordres de grandeur des fréquences sont nettement plus importants à Rustenburg. Dans le périmètre central correspondant à une bande de 5 mètres de large entourant la PE, les fréquences de croisement ont atteint, en un point, 54% à 2 mètres de la source (Figures 3-3 et 3-4). La moyenne du périmètre central (2.26%) est plus conforme aux observations antérieures mais reste quand même élevée. Les fréquences ne sont pas uniformément décroissantes et ne semblent pas répondre à une loi particulière. Dans le périmètre extérieur de 5 à 50 mètres de la source (Figures 3-5 et 3-6), les fréquences sont généralement inférieures à 1%. Cependant on observe à des distances variables des pics avoisinant 16% à 15-20 mètres de la source, 5% à 25 mètres et 11% à 35 mètres. La localisation de ces pics fait apparaître une distribution de fréquence encore plus inconstante que dans le petit périmètre.

Figure 3-3 : Face ouest du champ expérimental, Rustenburg 2003-04, zone centrale (10 m). Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.

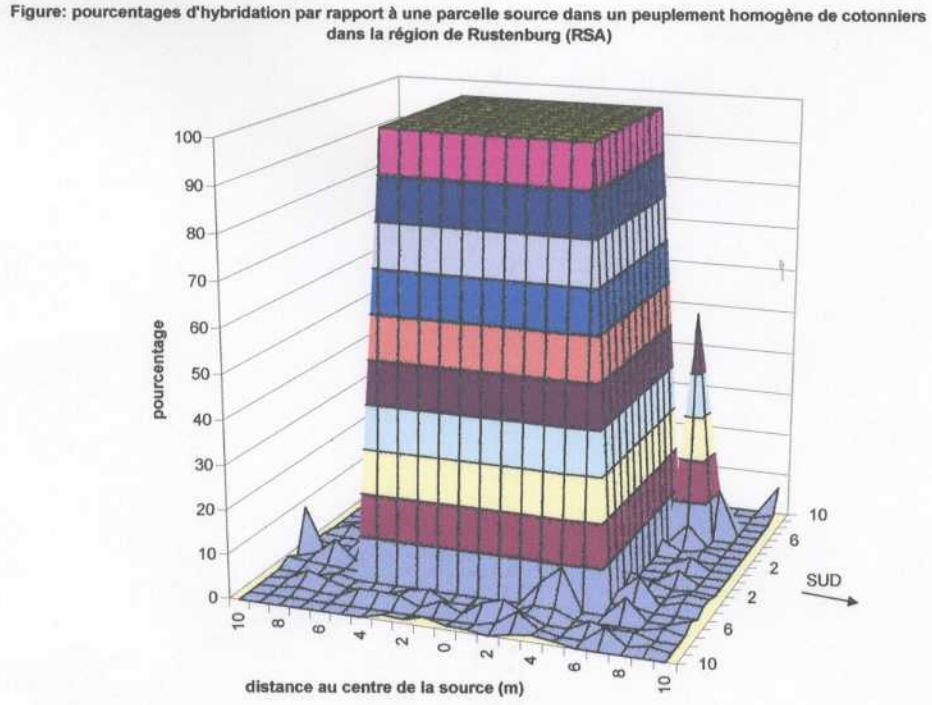


Figure 3-4 : Face est du champ expérimental, Rustenburg 2003-04, zone centrale (10 m) Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.

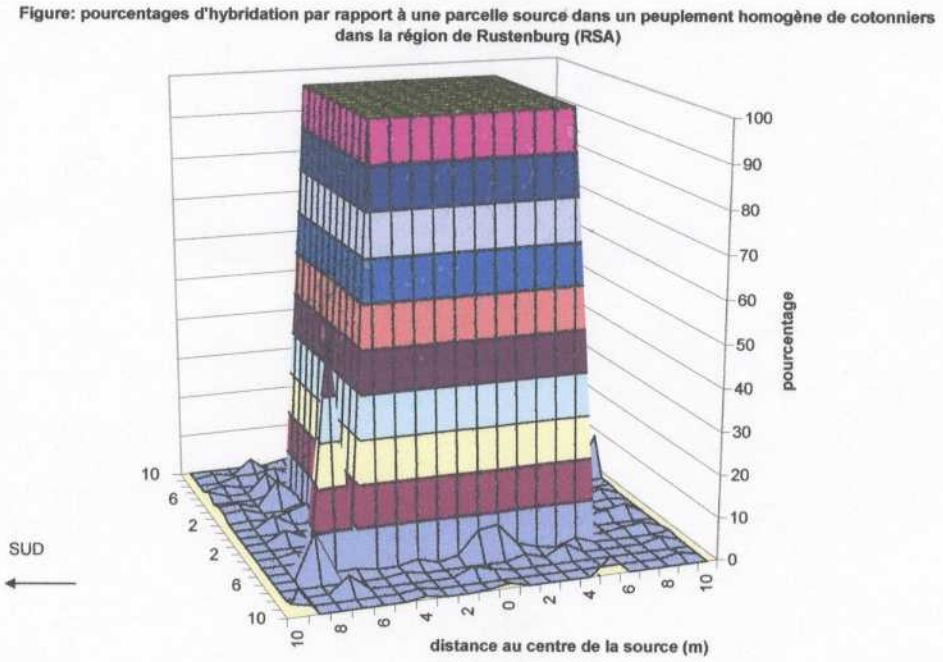


Figure 3-5 : Face ouest du champ expérimental, Rustenburg 2003-04, périmètre extérieur
Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.

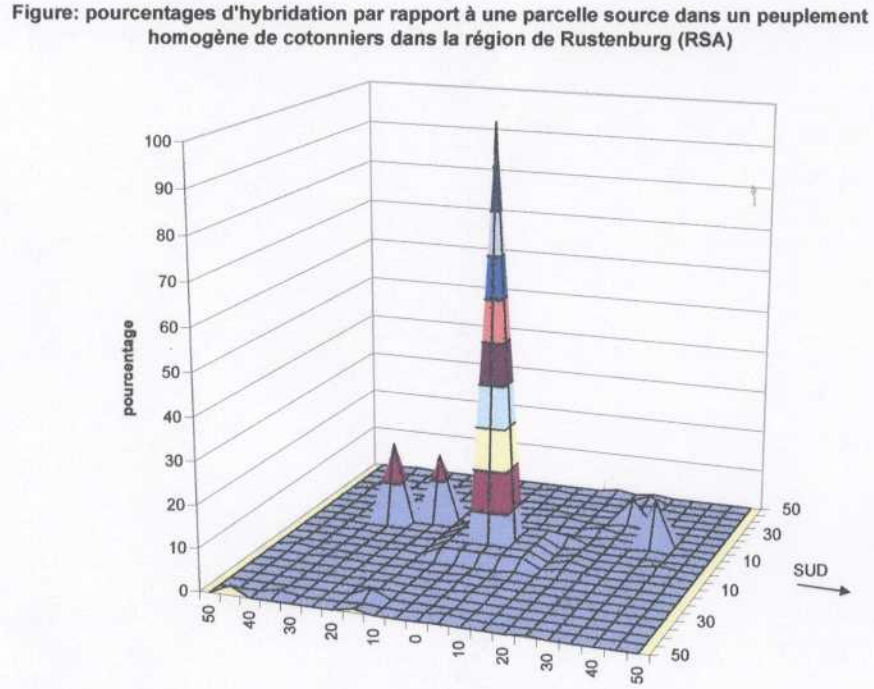
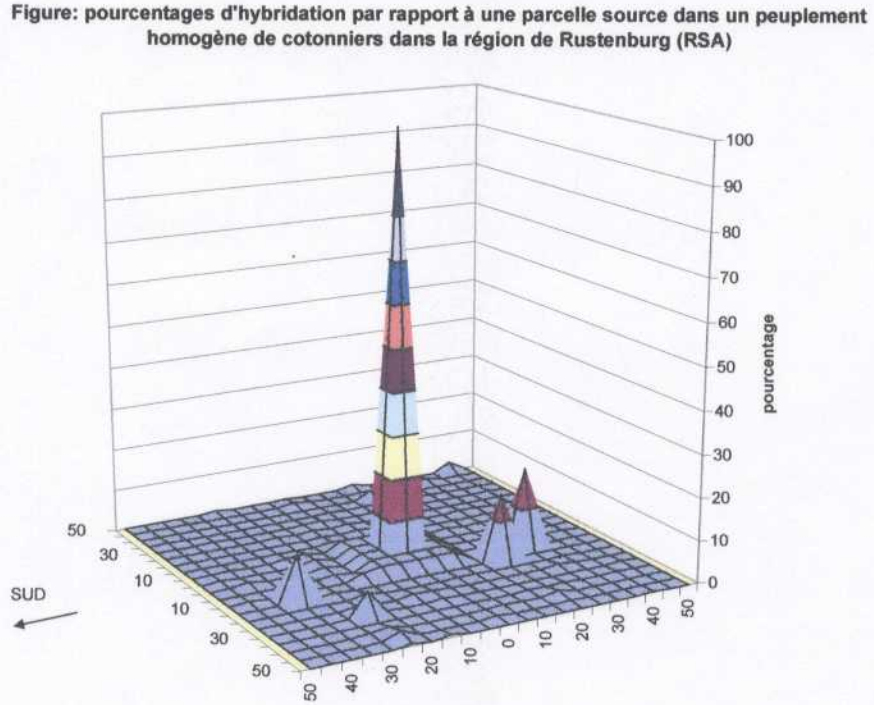


Figure 3-6 : Face est du champ expérimental, Rustenburg 2003-04, périmètre extérieur (50 m)
Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.



Les résultats de 2004-2005

Le traitement au Glyphosate des lignes témoin a confirmé, comme la saison passée, le caractère résistant des semences issues du lot utilisé dans le semis de la PE et a attesté de la grande sensibilité de la variété NuOpal.
Le pouvoir germinatif des semences récoltées sur les capteurs est toujours faible (15-20%). La cause a pu être élucidée après discussion avec Antoon Cornelissen, Responsable de la division de sélection cotonnière à la Station ARC de Rustenburg selon lequel la mauvaise germination des graines provient des conditions climatiques (basses températures) relevées en fin d'été (février et mars). Pour peu que les semis soient tardifs, la qualité des semences s'en ressent et c'est la raison pour laquelle la région de Groblersdal (dans la province du Mpumalanga) est préférée à celle de Rustenburg pour la multiplication semencière commerciale.
Les graines sont de petite taille, de faible maturité et leur Seed Index (délinté) moyen est de 7.5 g.

Les fréquences (pourcentages) d'hybridation observées à l'issue de la saison 2004-2005 sont relativement moins importantes et d'amplitude moins élevée que la saison précédente. La figure 3-7 donne une image globale de la dispersion du pollen à partir de la parcelle centrale de RR matérialisée par le pic de 100%. Les fréquences d'hybridation estimées dans la partie réceptrice du champ sont toutes inférieurs à 10% contrairement à ce qui avait été observé l'année précédente. Par contre le caractère discontinu et aléatoire de la dispersion est comparable aux résultats de 2003-2004. Le pic maximal d'hybridation (6.88%) est observé à 10 mètres à l'ouest de la PE.

Le format de la figure 3-7 ne permet pas de mettre ce pic de 6.88% d'hybride en évidence en raison de sa promiscuité avec la PE. Pour lever cette lacune, nous présentons une figure (Figure3-8) dans laquelle la PE artificiellement réduite à une fréquence égale à zéro. Cet artefact nous permet de mieux visualiser les pics de fréquences autour du centre du champ.

En 2004-05, l'intensité de la dispersion semble avoir été plus importante qu'en 2003-04. En 2003-04, les hybridations s'étaient produites principalement dans les zones géographiques sud-est et nord-est du champ avec un léger « spot » dans la partie nord-ouest. En 2004-05, la dispersion a été plus intense dans les zones (géographiques) sud-est et nord-est, qui n'en forment plus qu'une. Le flux a gagné la zone centrale et s'est accentué dans la partie nord-ouest.

Figure 3-7 : Essai de Rustenburg, 2005, population homogène, expression des fréquences sur une échelle de 100%.
Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.

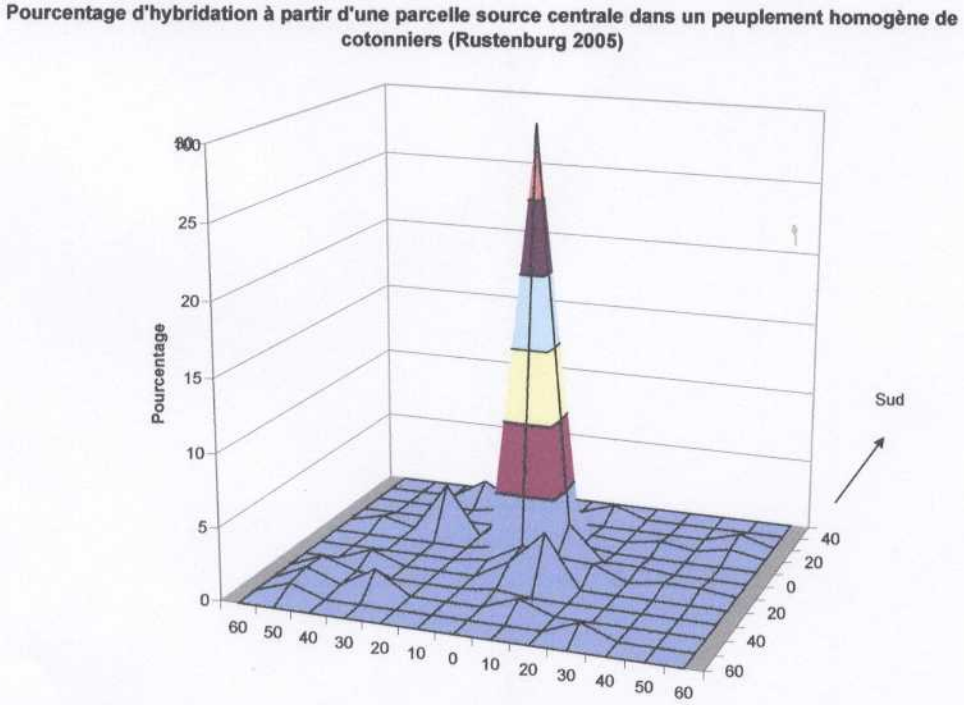
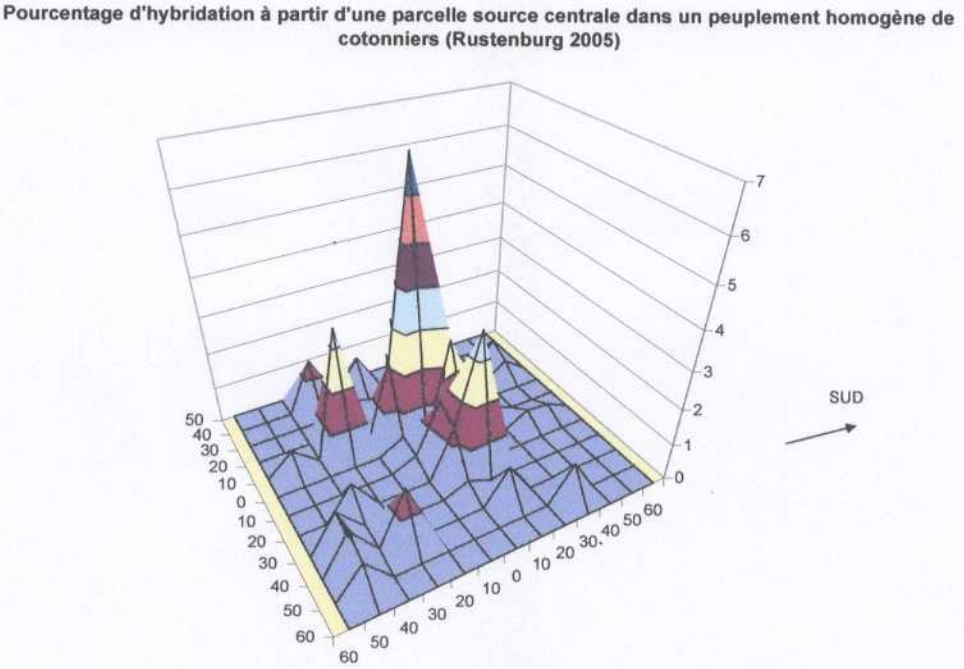


Figure 3-8 : Essai de Rustenburg, 2005, population homogène, expression des fréquences sur une échelle de 7% (parcelle émettrice effacée).
Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.



Discussion

La direction des vents dominants ne semble pas influencer significativement le flux global de pollen dans le champ (sous-entendu qu'il pourrait conditionner le déplacement de certaines espèces telles que *Astylus atromaculatus*).
L'existence de pics de fréquence élevés provient généralement d'un capteur ayant produit un faible effectif de plantules F1 ($n < 50$). Bien que les pourcentages ne soient pas faux en soit, ils pourraient néanmoins être sous-estimés.
L'essai met en évidence des taux d'hybridation qui sont, en moyenne, de même ordre que ceux observés en 2004. Cependant les fréquences maximales observées en 2005 sont moins élevées que l'année précédente et cette différence pourrait être liée au changement de la taille des capteurs. En effet les capteurs choisis en première année d'essai étaient composés d'un nombre défini de plants (1, 3 et 9 selon leur positionnement par rapport à la PE) alors que l'année suivante, les capteurs étaient composés d'un nombre variable de plants pour peu que ceux-ci se situent dans un périmètre défini (2,5 m²). Une plus grande surface de captage a pu entraîner une dilution des fréquences « ponctuelles » qui se traduirait par un nivelage et par l'obtention de valeurs « moyennes ». L'absence des deux ruches d'appoint en 2004-05 ne peut pas être retenue puisque les abeilles domestiques ont été plus nombreuses durant cette dernière saison.
Les fréquences d'hybridation relativement élevées (supérieures à 1%) observées près des limites extérieures du champ suggère que malgré une tendance à la diminution en fonction de la distance, des pics de fréquence considérables peuvent encore apparaître au-delà des 50 mètres.

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

2 Essai de dispersion dans une population homogène de cotonniers à Makhathini (KwaZulu natal)

Protocole expérimental

Au centre d'une parcelle de cotonnier (Nu Opal) de 2500 m², est semé une micro parcelle de 10m*10m d'une variété de cotonniers possédant un gène marqueur (Round Up Ready). La parcelle centrale est appelée émettrice, son enceinte est appelée PR. Semis a été réalisé à une densité moyenne de 0.33*1m le 6 décembre 2004.

Observations réalisées en cours de campagne :
Observation des pollinisateurs (rapportée dans la partie 2).
Indication des vents dominants.
Enregistrement des conditions climatiques (nombre de jours de pluie pendant la floraison, quantité en mm).

Tous les 5 mètres, selon une grille 9*9 à travers la PR, des « capteurs de pollen » seront identifiés (très rapprochés, près du centre de la parcelle et plus distants vers le milieu).

Description des capteurs :

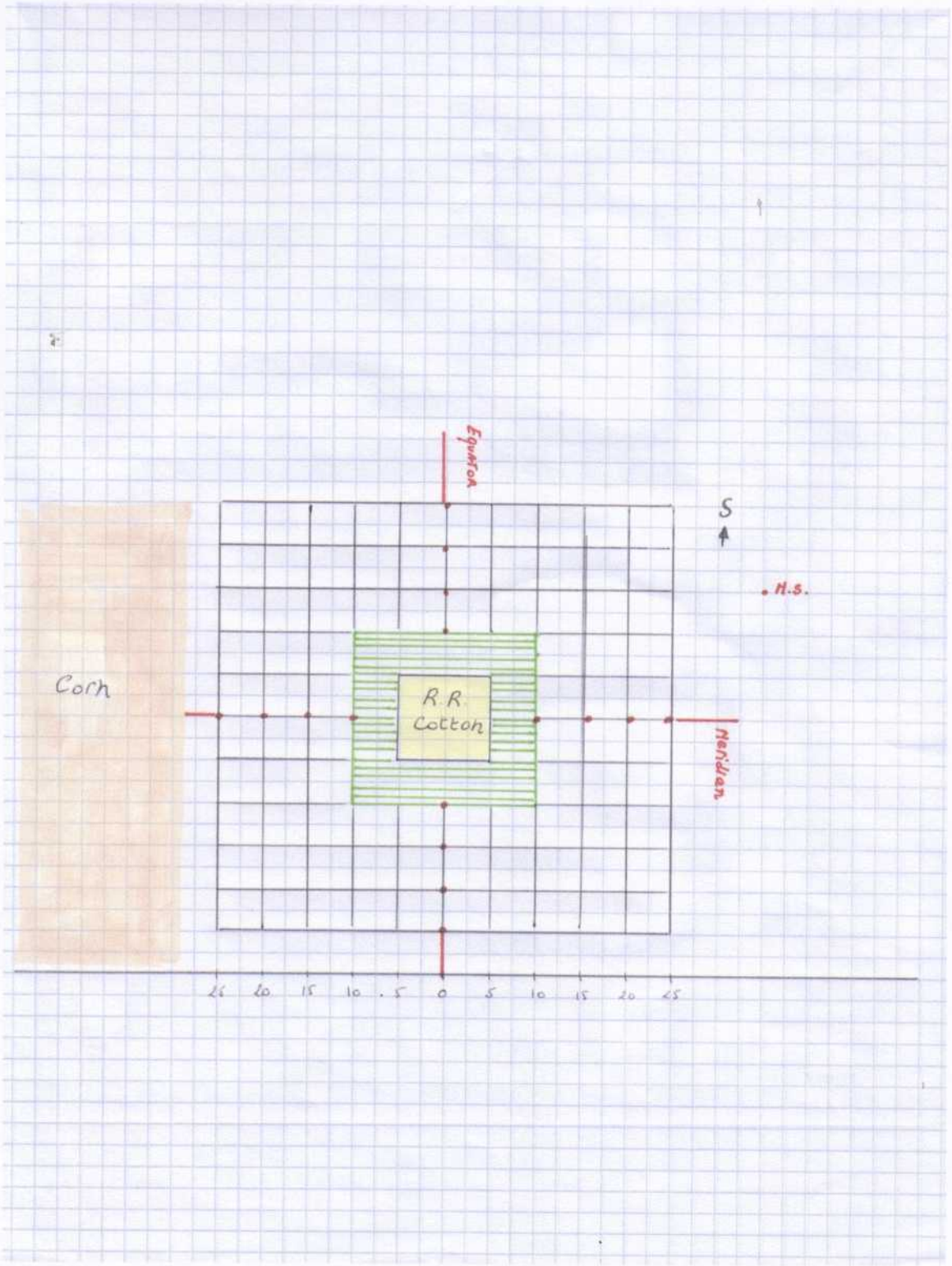
Comme sur une mappemonde, nous avons défini l'emplacement d'un capteur par rapport à sa « longitude » et sa « latitude », exprimée en mètre par rapport à la méridienne 0 (matérialisée par la ligne centrale verticale du plan parcellaire) et l'équateur (matérialisé par la ligne horizontale centrale du plan parcellaire).

(x) Sur Equateur et Méridien 0 (soit 4 directions cardinales) et latitude/longitude 6,11,15, 25 W, E, S, N, à 1, 5, 10, 20 m de la PE
Capteur : 3 plants mâle-stériles et 3 plants mâle-fertiles,
Soit à récolter 6 plants* 4 distances*4 points cardinaux= 96 plants (16 capteurs x)

(°) Sur latitudes et longitudes 6, 7, 8, 9 et 10 (soit les 5 premières lignes (latitude) et les 5 premiers mètres (longitude) à partir de la parcelle centrale), à 1, 2, 3, 4 et 5m de la parcelle pollinisatrice, soit tous les mètres
Capteur : 1 plant mâle-fertile, soit à récolter 21*21 –11*11(carré central)= 320 plants (320 capteurs °)

(*) Sur latitude et longitude 15, 20, 25, à 10, 15, 20 m de la parcelle pollinisatrice,
Capteur : 3 plants mâles fertiles, soit à récolter 3plants *(6 lignes*11 sites+5lignes*6 sites) = 288 plants (96 capteurs *) – 8 capteurs(x) *3 plantes déjà récoltés sur Equateur et Méridien (capteurs x à 15 et 25 mètres)= 264 plants et 88 capteurs

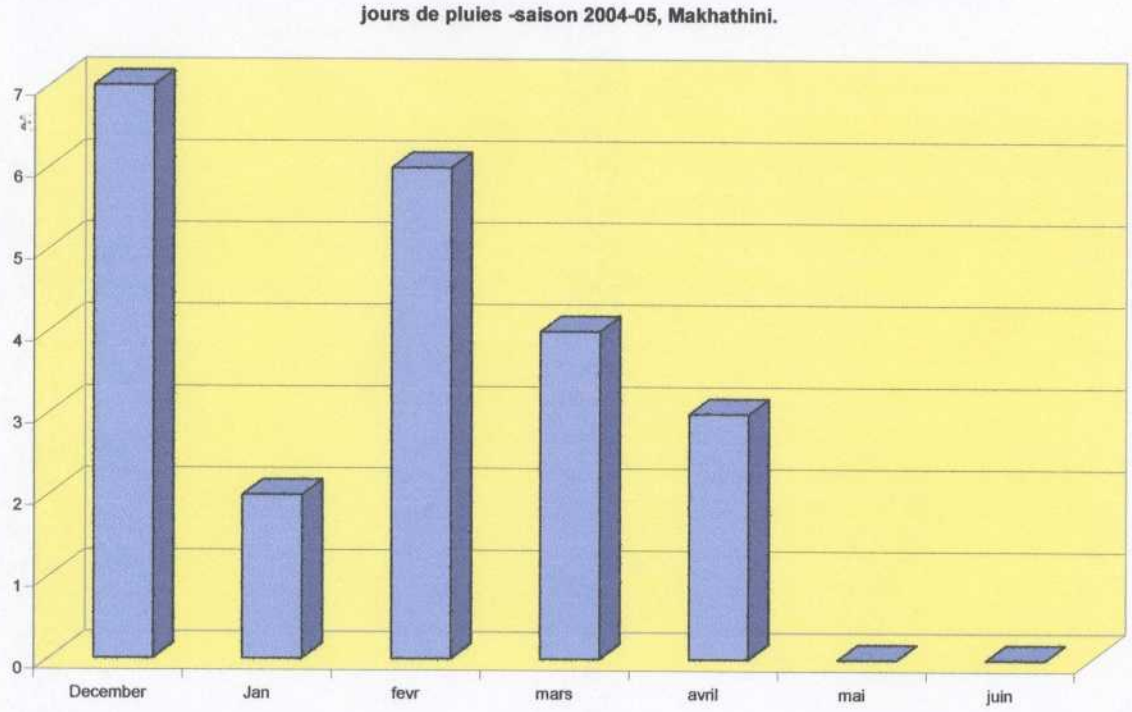
Figure 3-9 : Schéma de l'essai de dispersion dans un peuplement homogène (Makhathini)



Conditions environnementales

Le champ d'essai a été implanté dans une partie (relativement) isolée de la station de recherche agronomique des Makhathini Flats. La plus proche bordure du champ était distante de 350 mètres d'un essai variétal de coton et à 400 m d'une ligne de variété transgénique RR. Pour limiter une éventuelle contamination par le pollen RR exogène, nous avons semé en bordure de l'essai une bande de 20 mètres de maïs.
La saison culturale a été relativement sèche et le nombre de jours de pluie n'a pas perturbé significativement l'activité des insectes.

Figure 3-10 : Fréquence mensuelle des pluies (jours/mois) à Makhathini, 2004-05



La direction des vents dominants est à prédominance sud-nord ou nord-sud.

Résultats

Dans le périmètre composé des capteurs à un plant (Figures 3-11 et 3-12), à proximité de la PE, on détecte des fréquences maximales supérieures à 20% (jusqu'à 40% pour deux pics). Leur répartition spatiale n'est pas homogène. Les fréquences plus faibles, inférieures à 10%, se retrouvent plus régulièrement réparties dans le périmètre.

Dans le périmètre extérieur (figure 3-13), composé des capteurs à trois plants, les fréquences maximales (2 pics de 7%) s'observent dans la zone nord (RG) du champ sous le vent dominant.Les autres fréquences (entre 0.1 et 2 %) s'observent dans la zone nord-nord-ouest (RG) du champ à des distances comprises entre 20 et 25 m de la source. Aucune fréquence n'a pu être détectée dans la zone sud est (RG).

Discussion

La structure de la dispersion du pollen à Makhathini n'est pas uniforme et présente des pics relativement élevés (30-40%) dans le voisinage de la PE (moins de 5m). En moyenne, la dispersion tend à se réduire avec la distance. Nous n'avons pas pu définir à ce point de l'analyse si cette relation suivait une fonction linéaire comme décrite dans Fryxell (1956).
Deux des trois fréquences maximales observées dans le périmètre des 5m sont situées du côté du rideau de maïs supposé protéger le champ du flux de pollen étranger. Compte tenu de la distance existant entre l'essai de dispersion et les parcelles d'essai variétaux, et la dispersion des lignées RR dans le dispositif expérimental, la probabilité d'une fécondation avec du pollen exogène peut être considérée comme faible.

La dispersion du pollen à moyenne distance (périmètre des 25 m) est relativement faible, à l'exception de deux pics inférieurs à 8%, et localisée. La présence de ces deux maxima ne peut être attribuée à Astylus atromaculatus puisque cette espèce n'a pas été recensée dans la région de Makhathini. Ici encore, ces valeurs élevées correspondent à des effectifs de plantules germées relativement bas ($n < 50$).

Figure 3-11 : Face est de l'essai de Makhathini, 2005, périmètre récepteur central (5 m). Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.

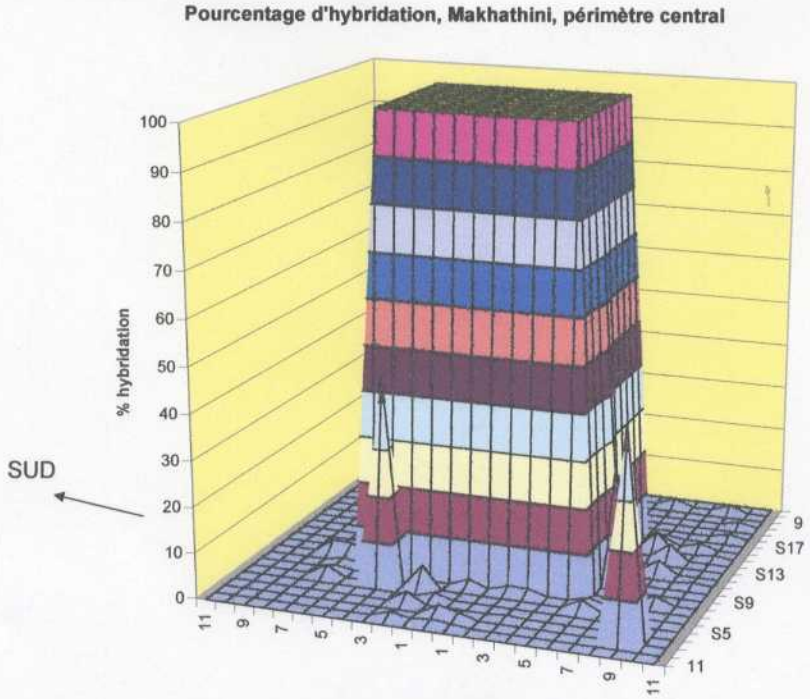


Figure **3-12 : Face ouest de l'essai de Makhathini, 2005, périmètre récepteur central (5 m). Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.**

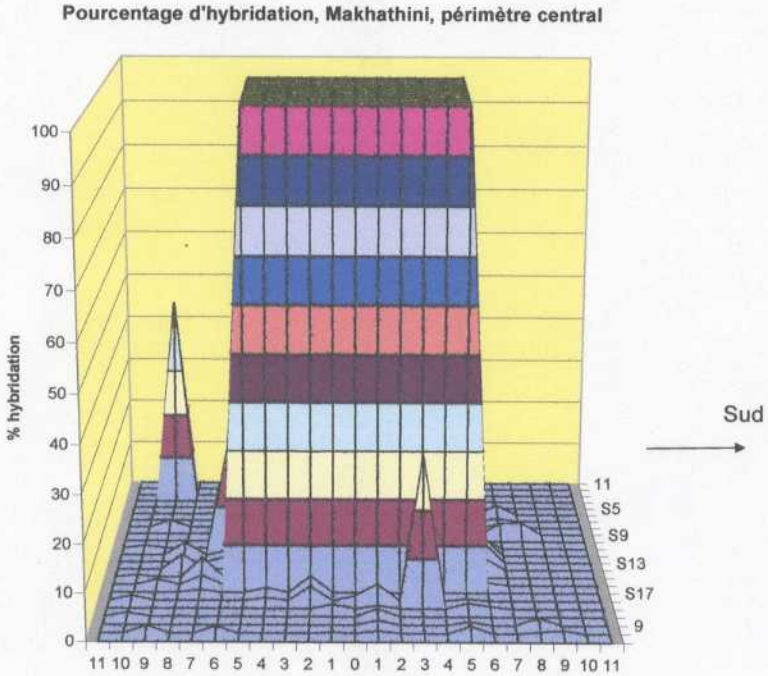


Figure 3-13 : Face sud de l'essai de Makhathini, 2005, périmètre récepteur extérieur (25 m). Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ. Parcelle émettrice et parcelle réceptrice centrale effacées.

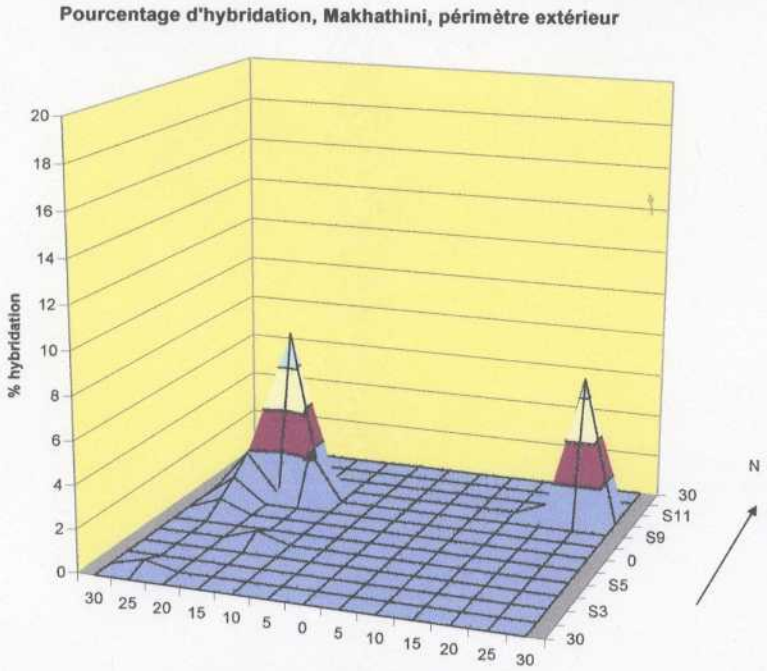
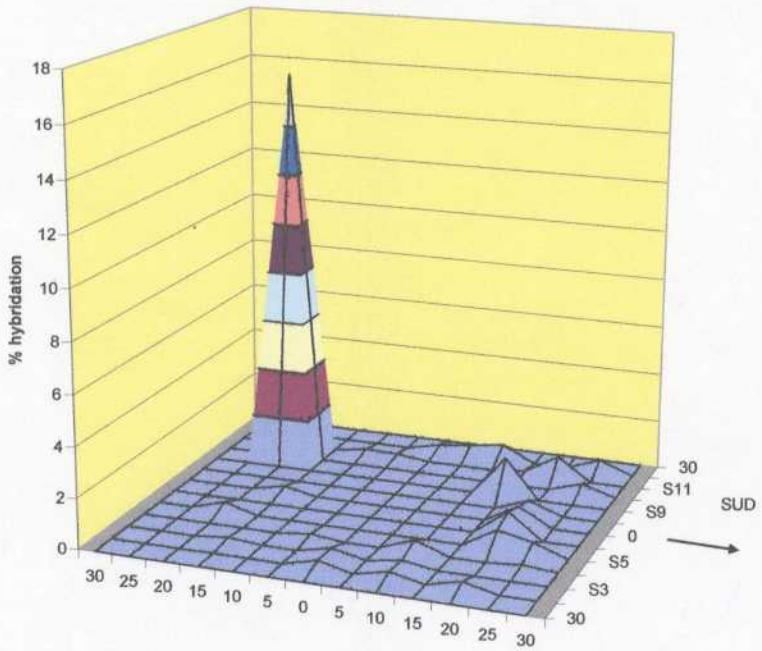


Figure 3-14 : Face ouest de l'essai de Makhathini, 2004, périmètre récepteur central (25 m). Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ. A comparer avec la Fig.3-13.



3 Essai de dispersion dans une population non homogène de cotonniers à Rustenburg

Nous avons précédemment étudié la dispersion du pollen dans une parcelle de taille relativement grande (1ha) ne présentant pas de discontinuité : le champ était uniformément occupé par un peuplement végétal ayant plus ou moins le même développement végétatif. Ces essais nous ont donné certains éléments de réponse en ce qui concerne les risques de dispersion. En pratique, le risque de dispersion concerne cependant d'autres cas de figure tels que les parcelles voisines séparées par un chemin, une friche ou une autre culture. Chaque configuration méritant une étude particulière, et possédant des moyens limités nous avons rédigé un protocole expérimental hybride réunissant deux parcellaires différents : une parcelle de coton centrale séparée d'une parcelle de coton par une bande de culture de tournesol et dans le second cas par une bande de terre labourée et entretenue.

Protocole expérimental

Comme dans les essais précédents, nous avons défini l'emplacement d'un capteur par rapport à sa « longitude » et sa « latitude », exprimée en mètre par rapport à la méridienne 0 (matérialisée par la ligne centrale verticale du plan parcellaire) et l'équateur (matérialisé par la ligne horizontale centrale du plan parcellaire).

Au centre d'un terrain d'un hectare (1 ha) une parcelle de coton de 10 m x10 m, dite source, a été semée avec des graines d'un cultivar RoudUp Ready™ (Opal RR).
Une seconde variété (NuOpal) a été semée sur une largeur de 30 mètres à partir des deux bordures latérales orientées NO-SE, laissant un vide de 40 mètres dans la partie médiane du champ. Exprimé en terme de référentiel équateur/méridien propre à l'essai, ces bandes réceptrices se situent entre les méridiens 50 et 20 ouest et est. le vide est comblé par deux parcelles de 10 x 40 m de tournesol, symétriquement opposée par rapport au centre et semées à la même date. Ils sont délimités l'un par les méridien 15 et 5 ouest et par les parallèles 50 et 5 sud et l'autre par les méridien 15 et 5 est et par les parallèles 50 et 5 nord. La configuration du champ est présentée en figure 3-15. Le champ était situé à 1550 m de l'essai décrit dans le chapitre 1, distance que nous considérons suffisante pour ne pas interférer significativement sur les taux d'hybridation.
Les observations réalisées en cours de campagne sont les mêmes que celles décrites dans le chapitre 1.

Description des capteurs :

Dans les parcelles latérales les capteurs sont distants de 5 mètres dans 2 bandes de 25 mètres de large et 100 mètres de long, partant de l'extrémité du champ (ligne 50 à 25). Les capteurs sont composés de 9 plants. Dans les lignes des 20, 19, 18, 17 et 16 m, de parte et d'autre de la ligne médiane du champ, les capteurs sont distants de 1m et correspondent à un plant.

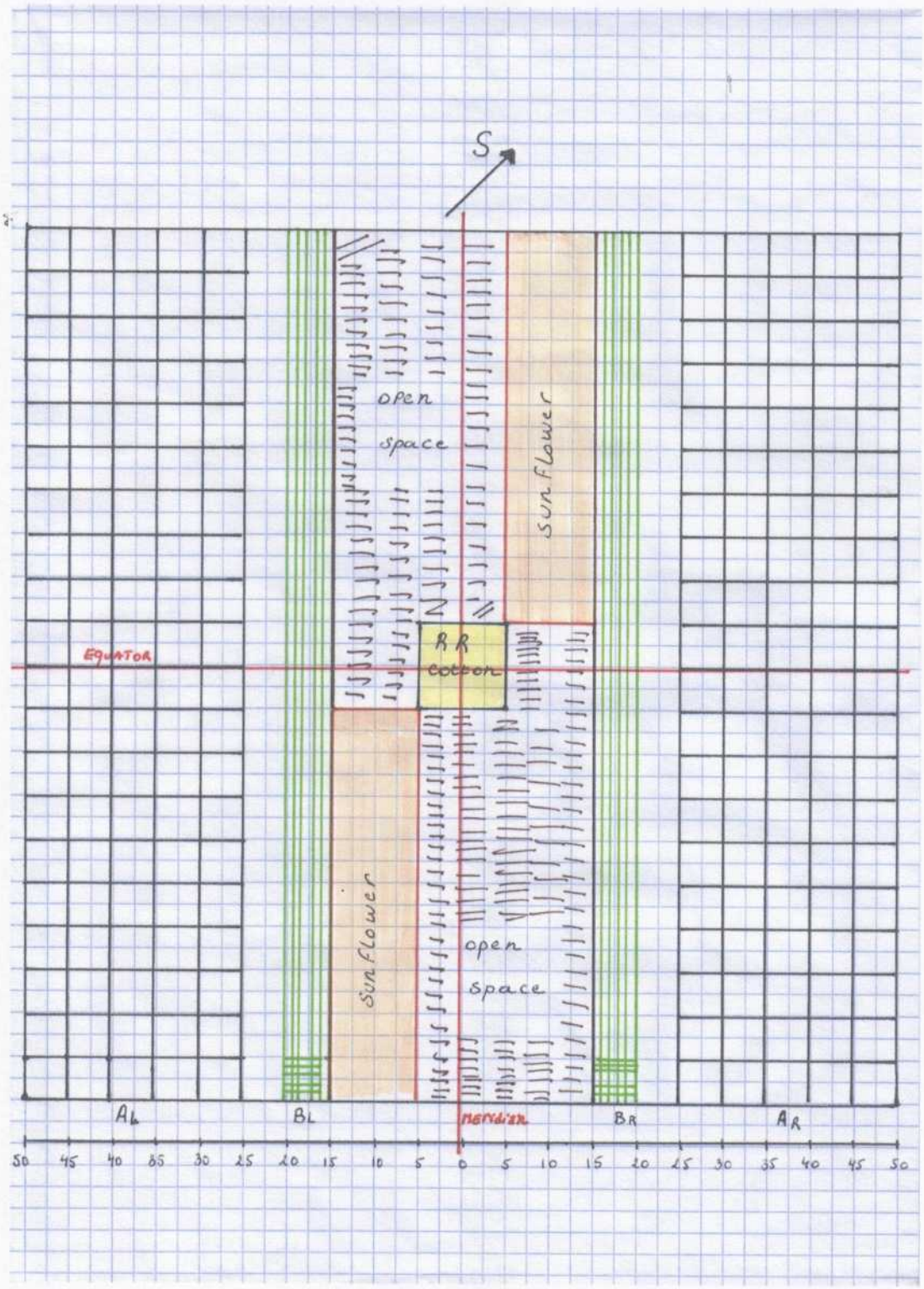
Remarque sur le développement végétatif

L'ensemble de la parcelle a subi des dommages dus à la grêle vers 45 JAS. Cet accident a retardé la floraison de plus de trois semaines. La partie émettrice ayant été affectée de façon similaire aux parties réceptrices, nous avons jugé bon de poursuivre l'essai en employant de fortes doses d'engrais pour relancer la production de branches fructifères.

Evaluation de la dispersion

L'évaluation de la fréquence de dispersion du pollen s'est faite de la même façon qu'au chapitre 1.

Figure 3-15 : <u>Schéma de l'essai de dispersion dans un peuplement non homogène (Rustenburg)</u>



Résultats

La dispersion du pollen (figures 3-16 et 3-17) s'est réalisée préférentiellement dans la zone située au nord/nord-est (CG) du champ (méridien 50 ouest [RC]), le long d'une zone arborée (*Cassia* et *Combretum*). Les fréquences d'hybridation varient fortement dans cette bande de 30 m de large (correspondant à une distance minimale de 20 m et maximale de 66 m de la source). Tout comme dans les essais précédents les fréquences maximales ne se rencontrent pas à proximité immédiate de la source : un pic de 41% est observé à 33 mètres de la plus proche bordure de la PE (25°N ,30°W). Une fréquence de 16% est reportée à 48 m (40°N, 35°W) et 4.8% a été détecté à 66 m (50°S ,50°W).
Dans la bande opposée, aucun croisement n'a été détecté au-delà du méridien 35°E (correspondant à des distances comprises entre 30 m et 66 m de la source). Le transport de pollen a été particulièrement actif dans le méridien 25°E pour lequel les pourcentages de descendants résistants sont relativement homogènes (12.4%). Au-delà de cette ligne, les résultats sont éparses. Le résultat le plus éloigné est une fréquence de 6.7% reportée à 35m (10°N, 40°E).

Dans les bandes contenant les capteurs de 1 plant (figure 3-18), à proximité de la PE (minimum 11 mètres et maximum 46 m), les fréquences varient entre 0 et 40%.

Afin de déceler d'éventuelles différences de fréquence selon la distance relative à la source et la présence ou l'absence d'une bande de tournesol, nous avons regroupé les fréquences en quatre groupes (partie1 à 4). Leur répartition en fonction de la distance relative à la PE a été effectuée en pondérant la position de la ligne par l'éloignement du capteur par rapport au méridien 0 (figure 3-15).
Ainsi par exemple, se retrouvent sur la cote 20, les capteurs situés 1) sur la ligne des 16m sur l'axe situé à 20m du méridien 0 et 2) sur la ligne des 17 m sur l'axe situé à 10m du méridien 0.

Tableau 3-2 : fréquences d'hybridation moyennes dans les parties du champ.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents après transformation √

partie	Moyenne (ETm)	Regroupements
1 (tournesol)	2.793 (0.18)	A
2 (vide)	2.788 (0.20)	A
3 (tournesol)	2.652 (0.17)	A
4 (vide)	2.398 (0.15)	A

Tableau 3-3 : fréquences d'hybridation moyennes en fonction de l'éloignement de la source (1=proche/ 11 m, 14 = le plus éloigné/46m , incrément moyen= 3m).

Classement et regroupements des groupes non significativement différents après transformation √

distance	Moyenne (ETm)	Regroupements
4	4.002 (0.28)	A
3	3.100 (0.13)	A
13	3.032 (0.32)	A
11	2.962 (0.25)	A
6	2.884 (0.05)	A
9	2.704 (0.36)	A
10	2.693 (0.08)	A
7	2.688 (0.11)	A
2	2.586 (0.34)	A
5	2.221(0.23)	A
1	2.179 (0.25)	A
12	2.157 (0.22)	A
14	2.093 (0.12)	A
8	1.905 (0.03)	A

L'analyse de la variance des données de fréquence transformées nous indique que pour un niveau α=0.05, il n'est pas possible de déceler des différences significatives entre distance à la source et entre partie de champ (tableaux 3-2 et 3-3). Ce résultat suggère que les fréquences moyennes ne varient pas significativement dans une gamme de distances comprises entre 11 m et 46 m.

Sur les lignes de capteurs plus éloignés (lignes 25 à 50m) le résultat n'est pas plus contrasté : la présence de bandes de séparation n'affecte pas significativement les taux moyens d'hybridation (1.14% ± 0.46 en zone protégée et 1.72 ± 0.83 en zone dégagée).

Figure 3-16 : Essai de Rustenburg 2005, population hétérogène (vue d'ensemble).
Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.

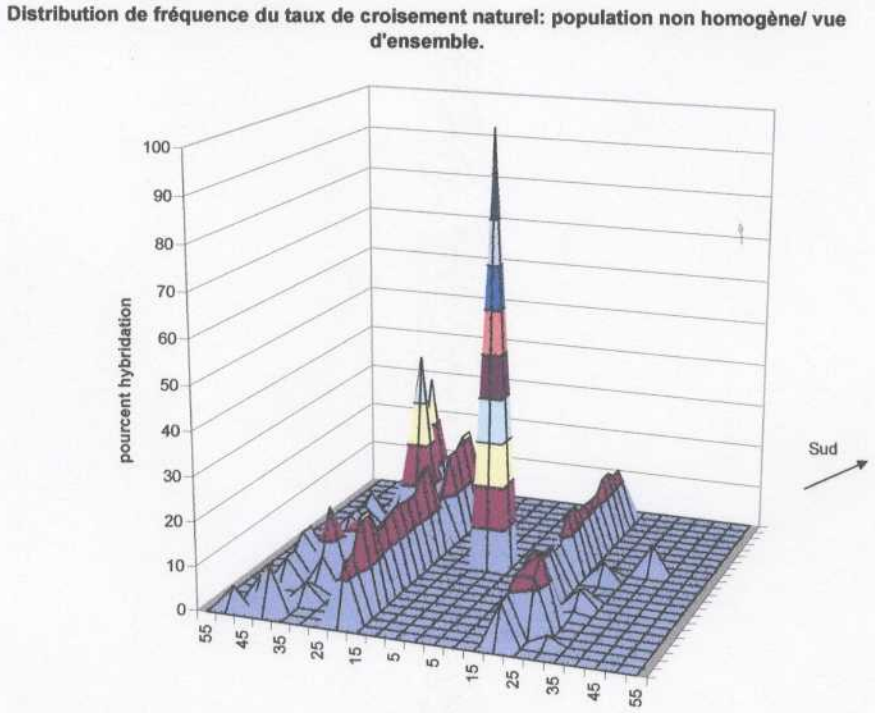


Figure 3-17 : Essai de Rustenburg, 2005, population hétérogène, périmètre extérieur (50m).
Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.

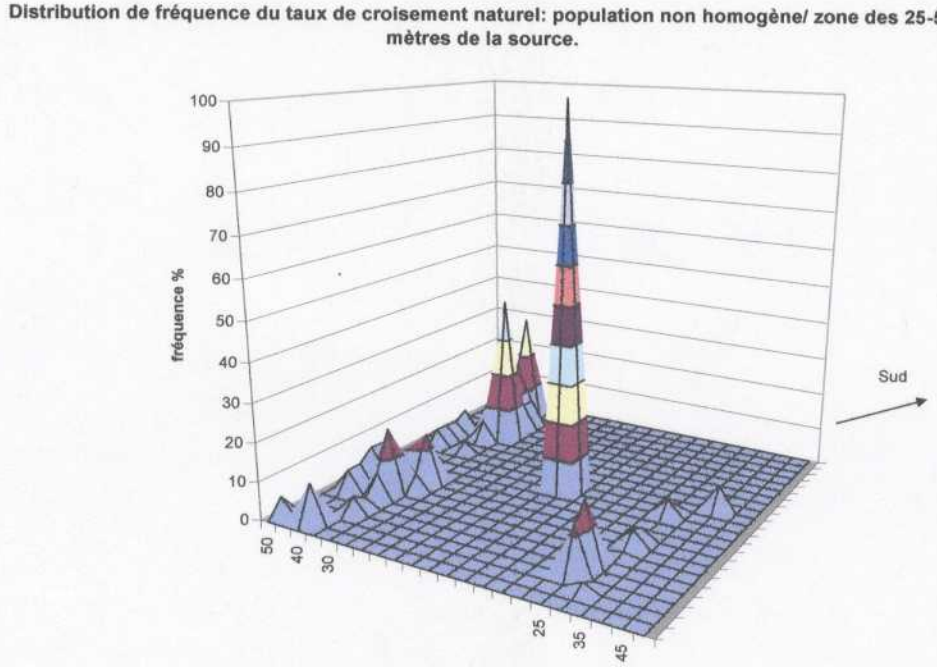
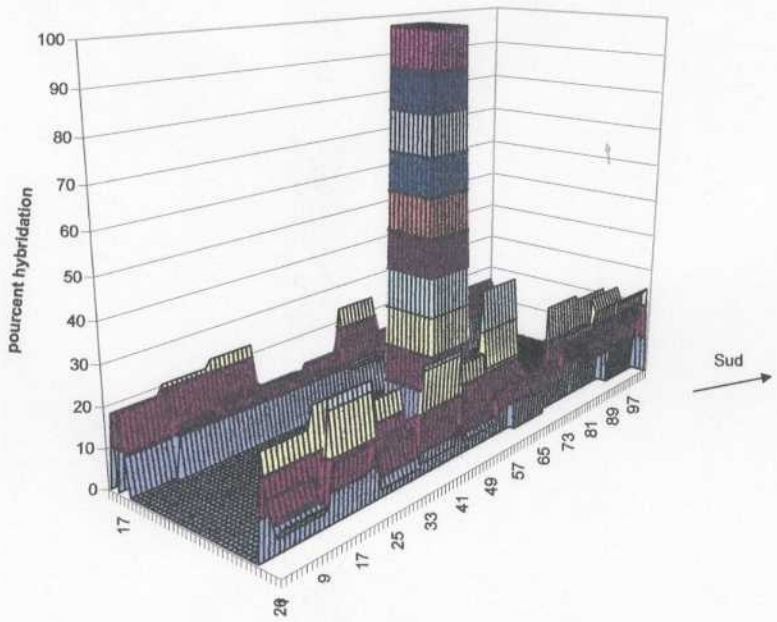


Figure 3-18 : Essai de Rustenburg 2005, lignes latérales proches de la parcelle émettrice. Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur position dans le champ.



Discussion

Les fréquences nulles observées dans la zone comprise entre 50° et 45° E (R.C.) ont deux causes : l'absence de semences viables à la récolte dans la zone sud (R.C.) et à l'absence de plants hybrides résistants dans la zone nord (R.C.).

Dans les conditions qui ont prévalu à Rustenburg, la présence d'une bande de séparation avec du tournesol n'a pas eu d'effet significatif sur la diminution du taux d'hybridation en comparaison avec une bande de terrain non cultivé de surface équivalente ; et cela quelque soit la distance à la PE.
Nous n'avons pas trouvé dans la littérature des résultats concernant l'utilisation du tournesol dans la composition des bandes d'isolement. Par contre, le maïs est fréquemment mentionné. Pope et al. (1944) ont comparé les fréquences d'hybridation chez le cotonnier séparé par une bande de la même espèce avec des bandes de maïs. Ils ont montré que, à distance égale, les bandes de séparation de maïs diminuaient les taux d'hybridation de 50% en moyenne. Cette réduction n'était pas rigoureusement proportionnelle à la largeur de la bande de séparation : la plus grande diminution se produisait lors du passage d'un dispositif de 3 à 6 lignes de maïs. Dans l'essai de Rustenburg, la bande de tournesol qui était relativement large (11 lignes) n'a pas eu d'effet réducteur Ce constat pourrait être attribué à plusieurs raisons: 1) interférence de la zone boisée à l'ouest (RC) ; 2) attractivité du tournesol pour les abeilles et *Astylus* qui peuvent utiliser cette bande comme escale entre la PE et la zone réceptrice ; 3) inversement, si l'on considère la bande de séparation comme un « puis entomologique » où la culture d'isolement est plus attractive que le cotonnier, la plus courte période de floraison du tournesol et par conséquent la période d'attraction entomophile plus limitée dans le temps rend la barrière inefficace.

Approche globale de la dispersion

Nous scinderons la présentation en deux parties à l'égal de l'approche ponctuelle en discernant le périmètre proche de la source de pollen situé dans un rayon de 8 m à partir de la bordure et le périmètre éloigné comportant les capteurs distants d'au moins 10 m de la source. Rappelons que dans le premier cas, les capteurs étaient positionnés selon un maillage de 1 x 1 m autour de la PE. Dans le second, le maillage était plus lâche : 5 x 5 m ou 10 x 10 m.

1. Evaluation de la dispersion moyenne dans un périmètre proche de la source de pollen

Les données des essais de Rustenburg en 2004 et de Makhathini en 2005 ont pu être exploitées afin d'estimer l'évolution des fréquences moyennes d'hybridation dans un périmètre compris entre 6 et 13 mètres du centre de la PE, soit encore une zone distante de 1 à 8 mètres autour de la bordure « source ». Par souci de clarté **nous exprimerons les distances par rapport à la bordure de la parcelle émettrice**. Cette étude concerne uniquement les peuplements homogènes puisque l'implantation d'un peuplement hétérogène nécessite une rupture de continuité d'une largeur plus ou moins égale à celle de la PR (10 mètres).

Les résultats sont synthétisés dans le tableau 3-4. Dans l'essai de Rustenburg, les fréquences moyennes observées dans les rayons de 1, 2 et 4 mètres sont significativement supérieurs à celle observée dans le rayon des 7 mètres.
A Makhathini, les fréquences moyennes observées dans les rayons de 5 et 4 mètres sont significativement inférieures à celles des rayons de 1 et 3 mètres et les valeurs obtenues dans le rayon de 1m sont supérieurs à celles rencontrées dans le rayon de 3 mètres. Il existe donc une diminution significative du taux d'hybridation entre la première ligne de cotonnier jouxtant la bordure de la source (à 1 m) et l'extérieur du périmètre (5 m).

Ces deux séries de données permettent aussi de réaliser une comparaison des taux dans deux environnements bien distincts ; Rustenburg hébergeant *Astylus atromaculatus* [*Coleoptera* : *Meloidae*] (voir chapitre 2) alors que Makhathini en est exempt.
A Makhathini, l'hybridation est maximale à 1 m de la source et sa valeur est supérieure (non significativement) à celle observée à Rustenburg. Pour les distances de 4, 5 et 6 m de la source de pollen, les fréquences notées à Rustenburg sont significativement supérieures à celles obtenues à Makhathini. Les moyennes générales n'ont pas pu être statistiquement différentiées et suggèrent que la pollinisation a été « en gros » similaire dans les deux régions.

Dans cet espace les courbes de fréquences du pollen (Figure 3-19), fonction de la distance à la source suivent une fonction polynomiale de troisième degré. La distribution des fréquences observées fait état d'une grande variabilité de la dispersion.

Tableau 3-4 : Fréquences moyennes d'hybridation en fonction de la distance à la source de pollen. Comparaison de l'essai de Rustenburg 2004 et Makhathini 2005. Périmètre 1-8 m de la source.

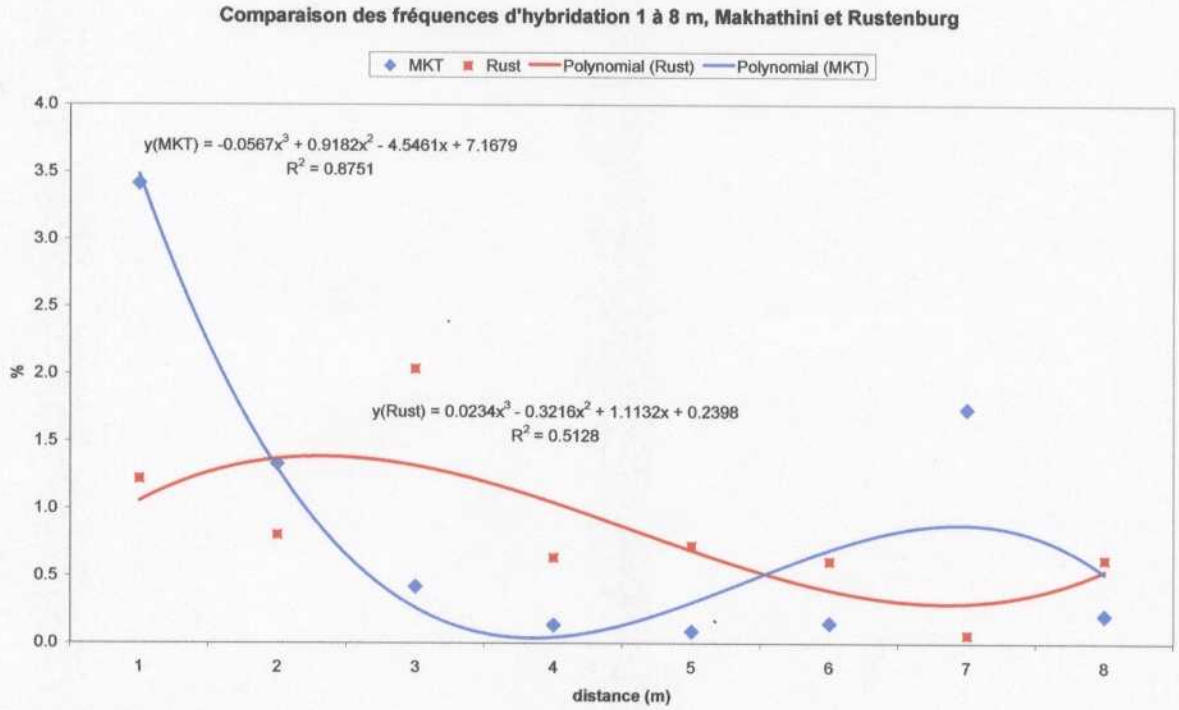
Distance (m)	Rustenburg 2004 % hybridation (ETM)	(1)	(2)	Makhathini 2005 % hybridation (ETM)	(1) 5	4	3	(2)
1	1.218 (0.411)	a		3.414 (1.322)	a	a	a	
2	0.802 (0.245)	a		1.329 (1.038)				
3	2.035 (1.122)			0.419 (0.126)	a	a	b	
4	0.635 (0.159)	a	a*	0.135 (0.065)		b		b
5	0.722 (0.221)		a**	0.081 (0.034)	b			b
6	0.608 (0.537)		a***	0.149 (0.085)				b
7	0.060 (0.042)	b		1.737 (1.625)				
8	0.622 (0.537)			0.206 (0.151)				
Moyenne	0.867 (0.190)			0.772 (0.240)				

(1) : différences intra essai ; (2) différences inter esssai

Les valeurs présentant une lettre (a ou b) sont considérées comme significativement différentes par Test t, au niveau α=0.05. * t_{obs} = 2.917, ddl= 110 ; ** t_{obs} = 2.862, ddl= 136; *** t_{obs} = 2.082, ddl= 54.

Figure 3-19 : Comparaison des fréquences moyennes d'hybridation dans un périmètre proche de la source de pollen : Rustenburg 2004 et Makhathini 2005

Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur distance par rapport à la bordure de la parcelle émettrice.



2. Evaluation de la dispersion moyenne dans un périmètre éloigné de la source de pollen

La diversité des protocoles d'essais et leur situation géographique nous a permis de réaliser plusieurs comparaisons. L'évaluation des courbes de dispersion sur les distances moyennes a tenu compte des résultats obtenus dans les périmètres proches des sources de pollen afin d'établir une courbe prévisionnelle pouvant être considérée comme une courbe « modèle ». Ici encore, **nous exprimerons les distances par rapport à la bordure de la parcelle émettrice**.

2.1 Fréquences moyennes d'hybridation dans un peuplement homogène.

2.1.1 Essai de Rustenburg 2004

Dans le périmètre concerné par l'étude, la comparaison des fréquences moyennes d'hybridation n'indique pas distinctement de différences significatives en fonction de la distance de la PE. Une exception est cependant à signaler : la fréquence moyenne observée dans un rayon de 60 m de la PE est significativement inférieure à celles trouvées dans les rayons de 40, 35 et 10 m (tableau 3-5). La fonction de dispersion sera discutée au point 2.1.3.

Tableau 3-5 : Fréquences moyennes d'hybridation en fonction de la distance à la source de pollen. Comparaison de l'essai de Rustenburg 2004. Périmètre 10-60 m de la source.

Distance (m)	Rustenburg 2004 % hybridation (ETM)	Différences	t_{obs}	ddl
60	0.189 (0.189)	b		
55	0.015 (0.011)			
50	0.079 (0.037)			
45	0.069 (0.029)			
40	0.105 (0.026)	a	-2.392	82
35	0.138 (0.047)	a	-1.943	77
30	0.446 (0.246)			
25	0.602 (0.535)			
20	0.506 (0.400)			
15	0.186 (0.062)			
10	0.127 (0.083)	a	-2.976	49
Moyenne	0.224 (0.069)			

Les valeurs présentant une lettre (a ou b) sont considérées comme significativement différentes par Test t, au niveau α=0.05.

2.1.2 Essai de Makhathini 2005

Les taux d'hybridation sont relativement faibles à Makhathini. La comparaison des fréquences moyennes des points de captage équidistants de la source (tableau 3-6) ne montre pas de différences significatives. Notons cependant que la fréquence observée à 30 mètres est relativement basse.

Tableau 3-6 : Fréquences moyennes d'hybridation en fonction de la distance à la source de pollen. Comparaison de l'essai de Makhathini 2005. Périmètre 10-30 m du centre de la source.

Distance (m)	Makhathini 2005 % hybridation (ETM)	Différences	t_{obs}	ddl
30	0.031 (0.031)	-	-	-
25	0	-	-	-
20	0.469 (0.256)	-	-	-
15	0	-	-	-
10	0.136 (0.67)	-	-	-
Moyenne	0.182 (0.88)	-	-	-

Les valeurs présentant une lettre (a ou b) sont considérées comme significativement différentes par Test t, au niveau α=0.05.

2.1.3 Essai de Rustenburg 2005

Le dispositif expérimental de l'essai de Rustenburg étant particulier par son dispositif de maillage de capteurs 10 x10 m, les fréquences sont présentées dans le tableau 3-7 par plage de 10 mètres. La fréquence moyenne d'hybridation observée dans les abords immédiats de la parcelle émettrice est significativement supérieure aux taux rencontrés dans le reste du champ. Dans un rayon de 20 à 70 mètres, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les fréquences.

Tableau 3-7 : Fréquences moyennes d'hybridation en fonction de la distance à la source de pollen. Comparaison de l'essai de Rustenburg 2005. Périmètre 15-70 m du centre de la source.

Distance (m)	Moyenne	Ecart-type de la moyenne	Différences	t_{obs}	ddl
60-70	0.157	0.107	b	- 2.770	18
50-60	0.187	0.064	b	-4.764	45
40-50	0.174	0.072	b	-3.885	30
30-40	0.246	0.172	b	-3.053	26
20-30	0.414	0.240	b	-2.372	22
10-20	1.923	0.775	a		
Moyenne	0.339	0.081	-	-	-

2.1.4 Comparaison de trois essais : Makhathini 2005, Rustenburg 2004 et Rustenburg 2005.

Les résultats individuels des essais ont été présentés plus haut. Pour rendre la comparaison possible avec l'essai de Rustenburg 2005, les données des essais de Makhathini 2005 et Rustenburg 2004 ont été regroupées par incrément de 10 mètres au lieu de 5 mètres.
Les fréquences d'hybridation notées dans l'essai de Rustenburg 2005 sont significativement supérieures à celles des deux autres dans le périmètre des 10-20 m (tableau 3-8). Pour le reste, la comparaison des fréquences n'a pas donné lieu à des résultats significativement différents.

Tableau 3-8 : Fréquences moyennes d'hybridation dans le périmètre 10-20 m pour les 3 essais de dispersion en peuplement homogène.

essai	moyenne (ETM)	Différences	t_{obs}	ddl
Rustenburg 2005	1.923 (0.775)	a	-	-
Rustenburg 2004	0.127 (0.083)	b	3.639	26
Makhathini 2005	0.136 (0.113)	b	3.581	27

Les valeurs présentant une lettre (a ou b) sont considérées comme significativement différentes par Test t, au niveau α=0.05.

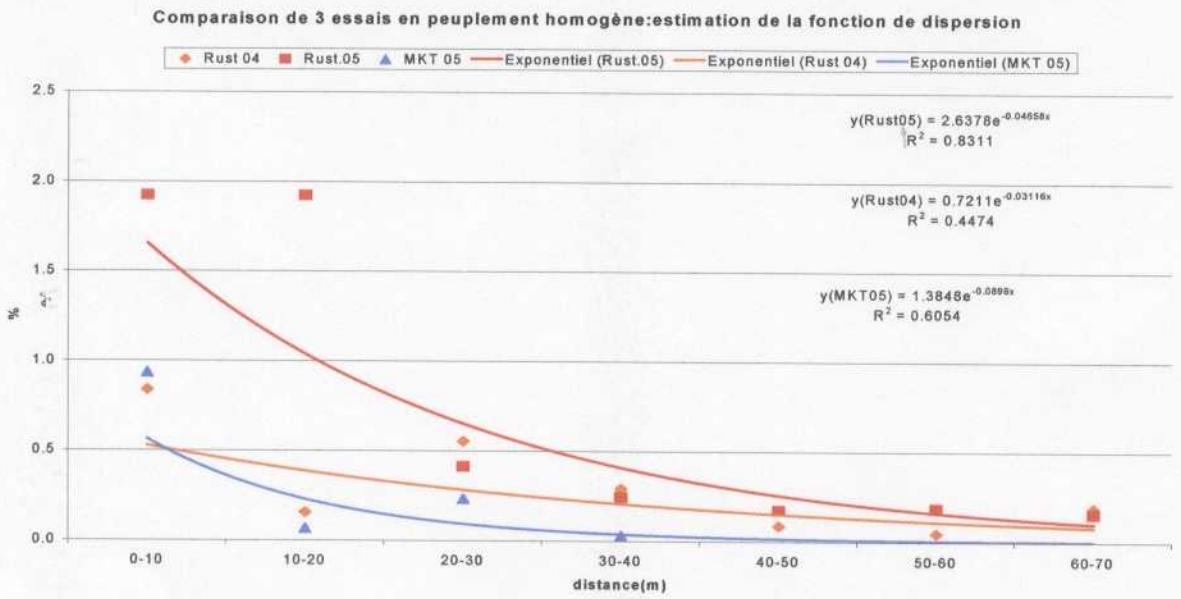
L'analyse statistique des deux séries de données de Rustenburg 2004 et Rustenburg 2005 n'indique aucune différence significative dans les fréquences d'hybridation
L'estimation de la dispersion par le calcul de courbes de tendances (Figure 3-21) confirme les résultats du point 2.1.4 et suggère que la dispersion du pollen à Makhathini s'effectue sur de moins longues distances qu'à Rustenburg.

L'estimation de la distance de la source pour laquelle le risque de dispersion du pollen peut être considéré nul (équivalent à 4 10^{-2} %) donne une valeur de 40 m dans le cas de Makhathini et 90 m dans le cas de Rustenburg.
Les mêmes courbes nous renseignent aussi sur la distance au-delà de laquelle les fréquences d'hybridations sont inférieures à la norme de 0.9% adoptée par la CEE en matière de traçabilité des OGM. Les valeurs estimées sont assez différentes à Rustenburg d'une année à l'autre : en 2004, une distance de la source de 3 mètres aurait été suffisante pour obtenir un taux moyen inférieur au seuil imposé alors que l'année suivante une distance de 25 m aurait été nécessaire. A Makhathini, les données collectées durant une campagne nous permettent d'estimer le seuil à environ 5 m de la source.

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

Figure 3-21 : Comparaison et modélisation des fréquences moyennes d'hybridation dans un périmètre éloigné de la source de pollen : Rustenburg 2004 et 2005 et Makhathini 2005

Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur distance par rapport à la bordure de la parcelle émettrice.



2.2 Fréquences moyennes d'hybridation dans un peuplement hétérogène

2.2.1 Rayons contenant les capteurs à un plant (maillage 1 x 1 m)

L'estimation du taux d'hybridation dans les premières lignes de capteurs compris entre les méridiens 16 et 20 donne une valeur moyenne assez élevée : 14.0% ± 1.376. Les capteurs à un plant situés dans cette zone couvrent un rayon de 50 m à partir du centre de la PE.

2.2.2 Rayons contenant les capteurs à 9 plants (maillage 5 x 5 m)

La fréquence moyenne d'hybridation de l'essai est élevée (tableau 3-9). Le test t permet d'établir des différences significatives entre la fréquence moyenne à 55 m et celles calculées à 40 et 35 m. Ces résultats laissent suggérer que la dispersion peut avoir des fréquences non négligeables jusqu'à 50 mètres de la source.

Tableau 3-9 : Fréquences moyennes d'hybridation en fonction de la distance à la source de pollen. Peuplement hétérogène.

Distance(m)	Moyenne	Ecart-type de la moyenne	Différences	t_{obs}	ddl
60	0.407	0.407			
55	0.607	0.434	b		
50	1.202	1.127			
45	1.163	0.423			
40	2.459	0.716	a	-2.080	61
35	2.531	0.845	a	-2.026	54
30	2.402	1.575			
25	0.811	0.811			
moyenne	1.543	0.301	-	-	-

2.3 Comparaison des fréquences de deux types de peuplement : Peuplement homogène et peuplement hétérogène.

Dans l'hypothèse de la similitude des effets causés par les bandes de tournesol et les bandes non cultivées, nous n'avons pas différencié les bandes de séparation par leur nature. Les données ont été analysées comme si les zones réceptrices étaient isolées de la PE par un seul type de discontinuité (sol nu par exemple).

Les fréquences moyennes d'hybridation dans un peuplement hétérogène de cotonnier sont supérieures à celles rencontrées à des distances identiques dans un peuplement homogène. Ces fréquences sont significativement supérieures dans les rayons de 35 à 45 m de la source (tableau 3-10).

Tableau 3-10 : Fréquences moyennes d'hybridation en fonction de la distance à la source de pollen. Comparaison de deux types de peuplement : homogène et hétérogène.

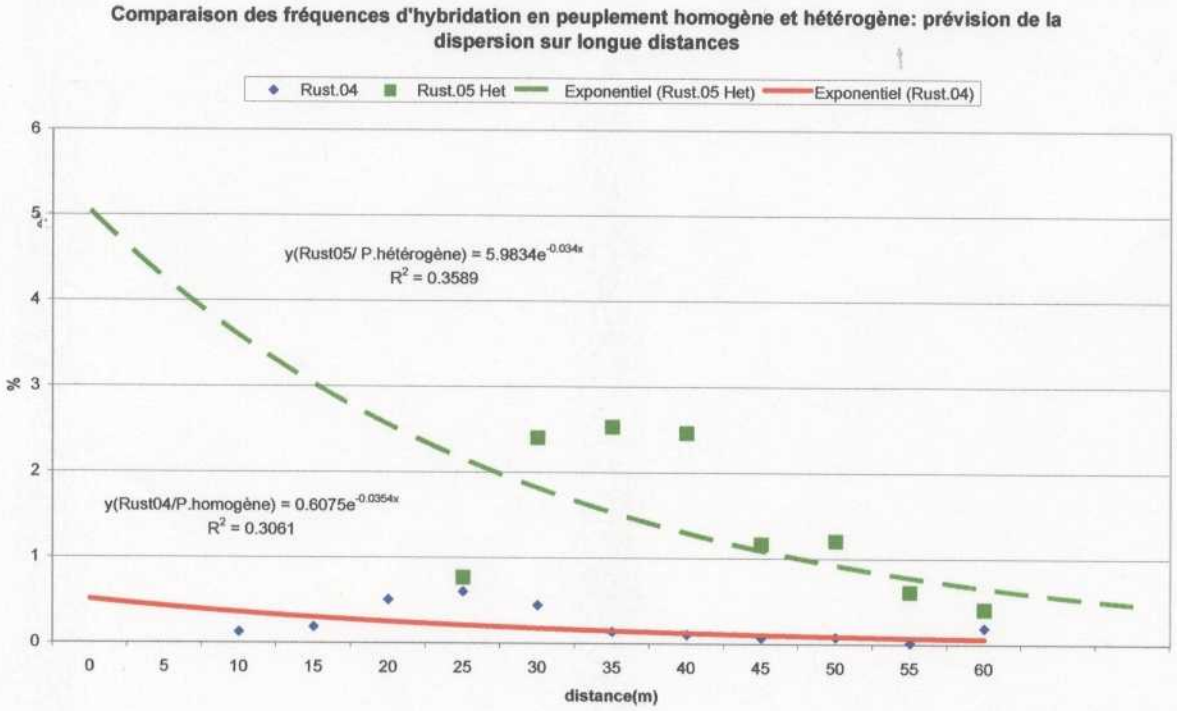
Distance (m)	Moyenne (ETm) Pop. Hétérogène	Différences	Moyenne (ETm) Pop. Homogène	Différences	t_{obs}	ddl
60	0.407 (0.407)		0.189 (0.189)			
55	0.607(0.434)		0.015 (0.011)			
50	1.202 (1.127)		0.079 (0.037)			
45	1.163 (0.423)	a	0.069 (0.029)	b	-2.997	124
40	2.459 (0.716)	a	0.105 (0.026)	b	-4.163	89
35	2.531 (0.845)	a	0.138 (0.047)	b	-3.823	77
30	2.402 (1.575)		0.446 (0.246)			
25	0.811 (0.811)		0.602 (0.535)			
Moyenne	1.543 (0.301)		0.224 (0.069)			

L'estimation des courbes de dispersion du pollen nous amène à penser que la dispersion se dissipe plus lentement dans un peuplement hétérogène (fig 3-22). Une simulation à partir des équations de courbe exponentielle montre que la dispersion du pollen dans un peuplement homogène tendrait vers 0 % (4.10^{-2}) d'hybridation à 80 m alors qu'un peuplement hétérogène composé d'une zone non occupée par du cotonnier tendrait vers le même seuil à 300 m.

Les fonctions de dispersion estimées sont respectivement pour le peuplement homogène (Rustenburg 2004) et le peuplement hétérogène :

- y (Rust04)= $5.9834\ e^{-0.034x}$
- y (Rust05 hetero) = $0.607\ e^{-0.0354x}$

Figure 3-22 : Comparaison et modélisation des fréquences moyennes d'hybridation dans deux types de peuplement : peuplement homogène (Rustenburg 2004) et peuplement hétérogène (Rustenburg 2005)
Proportion de plants résistants dans la descendance des plantes capteurs mâle fertiles en fonction de leur distance par rapport à la bordure de la parcelle émettrice.



Discussion générale et conclusion

Le calcul des fréquences et l'interprétation des résultats

Le poids des fréquences maximales, malgré leur faible nombre, influence fortement les valeurs moyennes présentées dans les tableaux 3-5 à 3-10. Cette tendance se ressent plus particulièrement dans les rayons de 20 à 40 m et engendre un saut de fréquence inexplicable. Ces accroissements pourraient être lissés par le calcul de moyennes pondérées, pour une distance donnée, par la somme des effectifs issus de chaque capteur. Les résultats pourraient aussi être complétés par le calcul d'un intervalle de confiance de la fréquence associé à chaque capteur.

L'effet de l'année

Les essais menés en peuplement homogène à Rustenburg durant deux saisons consécutives montrent la stabilité de la répartition spatiale des fréquences maximales. Par contre l'amplitude de ces fréquences peut varier considérablement d'une saison à l'autre. Ces variations sont probablement fonction de l'abondance des insectes visiteurs, des conditions climatiques, de la surface couverte par le capteur et de la densité du réseau de capteurs (maillage) .

L'étude des fréquences moyennes d'hybridation indique qu'il peut avoir des différences inter-année pour une distance donnée dans un périmètre proche de la source de pollen. Pour les moyennes et longues distances (à partir de 20 m), les fréquences ne sont plus statistiquement différentiables d'une année à l'autre.

Dans les environnements choisis en RSA, la dispersion peut être fortement variable sur une courte distance. Les fréquences moyennes maximales sont généralement observées dans un périmètre situé entre 10 et 40 m de la source. Les fréquences moyennes décroissent rapidement à partir de ce point pour tendre vers 0% entre 80 et 90 m. Cette estimation de la limite de dispersion est comparable aux résultats de Brown (1919).

L'effet du milieu

La dispersion du pollen peut varier d'une région à l'autre. Notre étude montre que l'hybridation naturelle est de loin plus importante à Rustenburg qu'à Makhathini. Cette différence se situe sur deux plans : l'amplitude des fréquences et l'étendue ou intensité de la dispersion qui correspond au nombre de capteurs présentant des graines hybrides. La plus faible dispersion à Makhathini (surtout dans le périmètre des 25 m) pourrait être corrélée à l'absence de *Astylus atromaculatus* qui semble jouer un rôle actif dans la visitation des fleurs et dans le transport du pollen (chapitre II) à Rustenburg. Dans l'agrosystème de Makhathini, cet insecte n'est pas réellement substitué par une autre espèce : les autres Coléoptères *Meleridae* et *Meloidae* ne se rencontrent pas dans d'aussi grandes proportions. Cette différence dans la composition de l'entomofaune pourrait expliquer la tendance vers une diminution plus rapide des fréquences moyennes d'hybridation dans l'essai de Makhathini.

L'influence de la structure du peuplement

L'absence d'un périmètre de cotonnier à proximité immédiate de la source de pollen semble accroître la portée du flux de gène. Dans l'essai « population hétérogène » la bande de

séparation de terrain non occupé par le coton a eu un effet positif sur l'augmentation du flux de gène sur longue distance en comparaison avec les résultats obtenus dans les essais de « population homogène ». Dans le premier cas, les fréquences maximales sont inférieures à 17% au-delà d'une distance de 20 m de la source. Dans l'autre, en zone non protégée, des fréquences de l'ordre de 30 à 40% sont observées à plus de 30 m de la source. Ce constat est corroboré par les essais de Green et Jones (1953) qui ont démontré que les bandes de séparation composées de cotonnier étaient plus efficaces qu'une bande de sol nu dans la réduction des taux d'intercroisement.
Dans le cas des populations hétérogènes, les fréquences moyennes décroissent plus lentement en fonction de la distance qu'en population homogène. Bien que notre étude ne s'est limitée qu'à une seule distance de séparation de 10 m, nous supposons que 300 mètres sont nécessaires pour l'obtention d'un taux d'hybridation nul : ceci représente plus du triple de la distance requise en population homogène). Ce résultat aboutit à des conclusions assez distinctes de celles de Galal et al. (1972) qui préconisent que l'existence de fréquences élevées n'empêche pas leur rapide diminution en fonction de la distance. Dans les conditions de nos essais et en tenant compte de la directive sur la traçabilité des produits OGM de la CEE, l'existence d'un champ transgénique séparé de 10 m d'un champ conventionnel obligerait le propriétaire du champ labellisé « non OGM » d'éliminer une bande de 40m de large au voisinage de la culture transgénique. Au stade actuel de notre analyse, les résultats obtenus en Afrique du Sud démontrent qu'un isolement efficace passe par l'utilisation de bordure de cotonniers. Celles-ci, en fonction de la localisation du champ, peuvent varier entre 3 et 25 m de large pour l'obtention d'un taux d'impureté variétale de moins de 0.9%.

Dans certains cas particuliers, la dispersion peut dépasser nos estimations : Pope et al (1944) indiquent que la dispersion peut atteindre 1400 m dans le cas de parcelles séparées par du terrain non cultivé. La diminution des fréquences pourrait bien être freinée par l'existence d'espaces non cultivés autour du champ source.

L'analyse qui vient d'être réalisée a permis de donner un premier aperçu du phénomène de dispersion dans les champs de cotonnier. Les données pourraient cependant être traitées au moyen d'outils mathématiques mieux adaptés à l'approche modéliste de la dispersion. C'est ainsi qu'elles seront traitées au moyen :

- de l'analyse des fréquences pondérées en fonction des distances à la source ;
- du calcul d'intervalles de confiance associés à des proportions ;
- de l'analyse logistique en fonction du type d'essai ou des distances ;
- de l'estimation des fonctions de dispersion.

Ce travail pourra aboutir sur la modélisation de la dispersion du pollen de cotonnier en fonction de la structure du peuplement. Ces études complémentaires seront réalisées en 2006. Elles seront présentées dans le rapport final de projet destiné au Ministère de la Recherche et feront l'objet de publications scientifiques.

Références

Afzal M. and Khan, H. 1950. Natural crossing in cotton in western Punjab. Agron. J. 42, 14-19.; 89-93; 202-205; 236-238.

Brown H.B.1938. Cotton. Ed 2. 592pp. New York and London.

Chauhan D.S., Singh P, Singh P. 1983 . Isolation distance in upland cotton under Nagpur conditions. Cotton Development 13:23.

Elfawal M.A, Bishr M.A, Hassoub E.K. 1976. Naturalpollination in Egyptian cotton (Gossypium barbadense L.). Journal of Agricultural Science 86:205-209.

Fryxell, P. 1956. Effect of varietal mass on percentage of outcrossing in Gossypium hirsutum in New Mexico. J. Hered. 47, 299-301.

Galal H.E., Abou-el-fittouh H.A., Morshed G.1972 . Effect of direction and distance on cross pollination in Egyptian cotton (Gossypium barbadense L). Experimental Agriculture 8:67-71.

Green J.M., Jones M.D. 1953. Isolation of cotton for seed increase. Agronomy Journal 45: 366-368.

Gridley H.E.1974 . Natural and artificial crossing in upland cotton at Namolongu, Uganda. Cotton Growing Review 51:149-152.

Llewellyn D., Fitt G., 1996. Pollen dispersal from two trials of transgenic cotton in the Namoi Valley, Australia. Molecular Breeding 2:157-166.

Meredith WRJ, Bridge RR,1973 . Natural crossing in cotton (Gossypium hirsutum L.). Crop Science13:551-552.

Moresco E.R., Farias F.J.C., Aguiar P.H., Griodi-Papp I.I., Freire E.C., Marques M.F., de Souza M.C.1999. Determination of the rate of allogamy in herbaceous cotton in the cerrado of Mato Grosso, In Anais II Congresso brasileiro de Algodao. Riberao Preto, SP, Brasil, 603-604.

Mungomery V.E., Glassop A.J.1969. Natural cross-pollination of cotton in central Queensland. Queensland Journal of Agriculture and Animal Sciences. 26: 69-74.

Oosterhuis D.M., Jernstedt J.1999. Morphology and anatomy of the cotton plant. In WC Smith, JT Cothren, eds Cotton: Origin, History, Technology and production. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp 175-206.

Pope O.A., Simpson D.M., Duncan E.N. 1944. Effect of corn barriers on natural crossing in cotton. Journal of Agric. Res. 68 (9): 347-361.

Richmond T.R.1951 . Procedures and methods of cotton breeding with special reference to American cultivated species. Advances in Genetics 4:213-245.

Simpson, D.M. 1954. Natural cross-pollination in cotton. Tech. Bull. U.S. Dep. Agric. 1094.

Smith W.C.1976 . Natural cross-pollination of cotton. Arkansas Farm Research 25:6.

Stephens, S.G. and Finkner, M.D. 1953. Natural crossing in cotton. Econ. Bot. 7, 257-269.

Theron C.C., Van Staden W.H.1975 . Natuurlike kruis bestuiwing van katoen te Upington. Agroplantae 43:91-92.

Thomson N.J.1966. Cotton variety trials in the Ord Valley, North Western Australia. Natural crossing of cotton. Empire Cotton Growing Review. 43:18-21.

Umbeck P.F, Barton K.A., Nordheim E.V., McCarty J.C., Parrot W.L., Jennings J.C. 1991. Degree of pollen dispersal by insects from a field test of genetically engineered cotton. Journal of Economic Entomology 84:1943-1950.

Xanthopoulos F.P., Kechagia U.E. 2000. Natural crossing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Australian Journal of Agricultural Research 51(8): 979-983.