



Maîtrise des flux de gènes chez le colza : Etude ex-ante de l'impact de différentes innovations variétales

Agnès Fargue

► To cite this version:

Agnès Fargue. Maîtrise des flux de gènes chez le colza : Etude ex-ante de l'impact de différentes innovations variétales. Autre. INAPG (AgroParisTech), 2003. Français. NNT : 2002INAP0049 . tel-00005713

HAL Id: tel-00005713

<https://pastel.hal.science/tel-00005713>

Submitted on 5 Apr 2004

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

INA P-G
Institut National
Agronomique Paris-
Grignon

CETIOM
Centre Technique
Interprofessionnel des
Oléagineux Métropolitains

INRA
Institut National de la
Recherche Agronomique

**Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Institut National
Agronomique Paris – Grignon, mention : Agronomie**

par Agnès Fargue
Ingénieur Agronome de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

**Maîtrise des flux de gènes chez le colza :
Etude *ex-ante* de l'impact de différentes
innovations variétales**

*Thèse préparée dans les Unités Mixtes de Recherche INRA-INA P-G d'Agronomie de Grignon et
INRA-ENSAR d'Amélioration des Plantes et Biotechnologies Végétales du Rheu*

Thèse soutenue le 27 Novembre 2002 devant le jury :

Thierry Doré Directeur de Recherche INRA	Président
Yvette Dattée Directrice du GEVES	Rapporteur
Claire Lavigne Maître de Conférence	Rapporteur
Antoine Messéan Directeur Scientifique du CETIOM	Examineur
Jean-Marc Meynard Directeur de Recherche INRA	Examineur
Michel Renard Directeur de Recherche INRA	Examineur
François Tardieu Directeur de Recherche INRA	Examineur

Sommaire

Sommaire.....	<i>i</i>
Liste des tableaux.....	<i>iii</i>
Liste des figures.....	<i>v</i>
Remerciements.....	<i>vii</i>
Introduction générale.....	1
Chapitre 1. Position du problème.....	4
I. Flux de gènes.....	4
1. Diversification des variétés et flux de gènes.....	4
2. Flux de pollen.....	10
2.1. Autogamie du colza récepteur.....	10
2.2. Floraison des colzas émetteur et récepteur.....	10
2.3. Distance entre les colzas émetteur et récepteur.....	11
2.4. Caractéristiques des colzas émetteur et récepteur.....	12
3. Flux de graines.....	13
4. Survie des repousses.....	16
II. Gestion des flux de gènes.....	18
1. Techniques actuelles de gestion.....	18
2. Objectif de l'étude.....	20
3. Modélisation des flux de gènes.....	20
3.1. Structure du module temporel.....	22
3.2. Structure du module spatial.....	24
III. Plan de l'étude.....	26
Chapitre 2. Etude de la variabilité génétique de certains caractères variétaux.....	31
I. Taux d'autogamie.....	31
1. Objectif et principe des expérimentations.....	31
2. Protocole expérimental détaillé.....	31
2.1. Cléistogamie.....	31
2.2. Hauteur et autogamie.....	39
3. Résultats.....	41
3.1. Cléistogamie.....	41
3.2. Hauteur et autogamie.....	47
4. Conclusion partielle.....	49
II. Émission de pollen.....	49
1. Production de pollen.....	51
1.1. Production au cours de la floraison.....	51
1.2. Production de pollen en fonction du génotype.....	53
1.3. Production par un couvert.....	53
1.4. Discussion.....	55
2. Émission et dispersion du pollen.....	56
2.1. Protocole.....	56
2.2. Résultats.....	58
2.3. Discussion.....	58
3. Conclusion partielle.....	60
III. Modélisation de la compétition intergénomique.....	60
1. Protocoles expérimentaux.....	61
1.1. Compétition.....	61
1.2. Etude de la F2 de l'hybride demi-nain.....	61
2. Résultats.....	63
2.1. Compétition.....	63

2.2. Etude de la F2 de l'hybride demi-nain.....	81
3. Conclusion partielle.....	81
Chapitre 3. Effets des caractéristiques variétales sur les flux de gènes.....	83
I. Modification de GeneSys-Colza.....	83
1. Cléistogamie.....	83
2. Stérilité mâle.....	85
3. Compétition.....	87
3.1. Nouveaux gènes.....	87
3.2. Nouvelles équations.....	89
4. Hérité des caractères.....	93
5. Conclusion partielle.....	95
II. Eléments de validation de GeneSys-Colza.....	97
1. Résumé des validations déjà faites.....	97
2. Validation complémentaire.....	99
3. Conclusion partielle.....	101
III. Analyses de sensibilité aux paramètres variétaux.....	102
1. Parcelles et systèmes de culture.....	102
1.1. Maîtrise des contaminations de voisinage.....	102
1.2. Gestion d'une parcelle en reconversion.....	105
2. Résultat des simulations.....	105
2.1. Autogamie.....	105
2.2. Emission de pollen.....	109
2.3. Production de graines.....	113
2.4. Hauteur.....	115
3. Conclusion partielle.....	117
IV. Impact de différents types variétaux sur les flux de gènes.....	118
1. Parcelles et systèmes de culture.....	119
1.1. Maîtrise des contaminations de voisinage.....	121
1.2. Gestion d'une parcelle en reconversion.....	123
1.3. Agriculture biologique.....	123
2. Résultats.....	125
2.1. Impact d'une association variétale comprenant 80% de plantes mâle stériles.....	125
2.2. Impact des hybrides demi-nains.....	129
2.3. Impact de la « cléistogamie stabilisée ».....	131
2.4. Impact des nains « cléistogames stables ».....	135
2.5. Impact des colzas « pharmaceutiques ».....	137
2.6. Impact des types variétaux dans l'agriculture biologique.....	139
4. Conclusion partielle.....	142
Discussion générale.....	144
1. Connaissances générales sur le colza.....	144
1.1. Autogamie.....	144
1.2. Compétition.....	146
1.3. Cléistogamie.....	147
1.4. Association variétale.....	147
2. Effets des variétés et intérêt du modèle pour l'étude des flux de gènes.....	148
3. Méthodologie d'étude a priori des effets des innovations variétales.....	150
Références bibliographiques.....	153
Annexe A. Normes de commercialisation du colza.....	159
Annexe B. Variétés de colza et précocité de floraison.....	160
Annexe C. Stades de floraison (Eisikowitch, 1981).....	161
Annexe D. Itinéraires techniques des expérimentations menées au cours de la thèse.....	162
Annexe E. Climat observé entre 1999 et 2001 pendant la floraison du colza.....	168

Liste des tableaux

Chapitre 1. Position du problème

- Tableau 1.1 : Types de colzas existants et potentiels
 Tableau 1.2 : Contraintes en production de semences
 Tableau 1.3 : Exemples de contraintes en production de colza érucique selon les organismes de collecte
 Tableau 1.4: Exemple de techniques culturales appliquées aux cultures simulées dans le modèle
 Tableau 1.5. Caractères variétaux et leur variabilité
 Tableau 1.6. Résumé des expérimentations effectuées dans la thèse et de leurs buts

Chapitre 2. Etude de la variabilité génétique de certains caractères variétaux

- Tableau 2.1. Liste des variétés utilisées dans les essais et caractéristiques
 Tableau 2.2. Phénologie du cléistogame (Clg) comparé au Falcon pat (Falc pat)
 Tableau 2.3. Taux d'autogamie mesuré sur les plantes isolées avec leur intervalle de confiance à 5% (IC).
 Tableau 2.4. Taux d'autogamie du Cléistogame B basé sur les résultats mâles stériles en 2000
 Tableau 2.5. Taux d'autogamie du Cléistogame oxy basé sur les résultats mâles stériles en 2001
 Tableau 2.6. Taux d'autogamie du Falcon pat basé sur les résultats mâles stériles en 2001
 Tableau 2.7. Résultats moyens par variété de l'essai autogamie et hauteur 2001
 Tableau 2.8. Corrélation entre Hauteur et autogamie pour chaque génotype en 2001
 Tableau 2.9. Production de pollen par fleur selon le génotype
 Tableau 2.10. Production de pollen par m² par un couvert
 Tableau 2.11. Quantité de graines testées en fonction de la variété et de la distance
 Tableau 2.12. Rapport des taux d'émission de pollen Falcon pat et colza cléistogame mesuré sur les mâles stériles, corrigé par le nombre de fleurs moyen par jour.
 Tableau 2.13. Caractéristiques moyennes des pieds de F2 observés selon leur classe de hauteur

Chapitre 3. Effets des caractéristiques variétales sur les flux de gènes

- Tableau 3.1. Valeur du paramètre d'autogamie lié au gène C/c
 Tableau 3.2. Valeur du paramètre d'émission de pollen lié au gène C/c
 Tableau 3.3. Relation entre présence des allèles et fertilité des plantes
 Tableau 3.4. Valeur du paramètre de production de graines lié aux gènes MS/mf et Rf/rf
 Tableau 3.5. Génotypes possibles pour la hauteur.
 Tableau 3.6. Correspondance entre les génotypes et la hauteur.
 Tableau 3.7. Effet du broyage sur la production de fleurs et de graines par plante.
 Tableau 3.8. Probabilité d'avoir un descendant de génotype donné pour le gène g pour les gènes nucléaires.
 Tableau 3.9. Probabilité d'avoir un descendant de génotype donnée pour le gène g pour le gène cytoplasmique
 Tableau 3.10. Récapitulatif des gènes intégrés dans le modèle GENESYS-COLZA
 Tableau 3.11. Récapitulatif des valeurs des paramètres des nouvelles équations de GENESYS-COLZA
 Tableau 3.12. Récapitulatif des valeurs de paramètres des caractères variétaux
 Tableau 3.13. Gestion des cultures dans les simulations
 Tableau 3.14. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations d'autogamie sans gestion des repousses
 Tableau 3.15. Contamination des simulations d'autogamie sans gestion des repousses
 Tableau 3.16. Distances nécessaires pour respecter un seuil donné sur la récolte moyenne.
 Tableau 3.17. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations d'autogamie avec gestion des repousses
 Tableau 3.18. Contamination des simulations d'autogamie avec gestion des repousses
 Tableau 3.19. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations d'émission de pollen

Tableau 3.20.	Contamination des simulations d'émission de pollen sans gestion des repousses
Tableau 3.21.	Contamination des simulations d'émission de pollen avec gestion des repousses
Tableau 3.22.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations de production de graines
Tableau 3.23.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations de hauteur
Tableau 3.24.	Techniques culturales utilisées pour les simulations « effet de voisinage »
Tableau 3.25.	Rotations simulées pour les simulations de contamination après une reconversion
Tableau 3.26.	Description du parcellaire utilisée pour les simulations en agriculture biologique
Tableau 3.27.	Gestion des cultures sur la ferme
Tableau 3.28.	Gestion des cultures hors de la ferme
Tableau 3.29.	Scénarios simulés avec une association variétale. Reconversion
Tableau 3.30.	Scénarios simulés avec une association variétale. Effet de voisinage
Tableau 3.31.	Génotypes semés pour les scénarios 1 à 3
Tableau 3.32.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 1 à 3
Tableau 3.33.	Taux de contamination pour les scénarios 1 et 2
Tableau 3.34.	Taux de contamination pour le scénario 3
Tableau 3.35.	Scénarios simulés avec un colza demi-nain
Tableau 3.36.	Génotypes semés pour les scénarios 4 et 5
Tableau 3.37.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 4 et 5
Tableau 3.38.	Taux de contamination pour les scénarios 4 et 5
Tableau 3.39.	Scénarios simulés avec un colza « cléistogame stable »
Tableau 3.40.	Génotypes semés pour les scénarios 6 à 8
Tableau 3.41.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 6 à 8
Tableau 3.42.	Taux de contamination pour les scénarios 6 à 8
Tableau 3.43.	Scénarios simulés avec un colza nain « cléistogame stable». Contamination du voisinage
Tableau 3.44.	Scénarios simulés avec un colza nain « cléistogame stable». Contamination après reconversion
Tableau 3.45.	Génotypes semés pour les scénarios 9 et 10
Tableau 3.46.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 9 et 10
Tableau 3.47.	Taux de contamination pour le scénario 9. Contaminations du voisinage.
Tableau 3.48.	Taux de contamination pour le scénario 10. Contamination après une reconversion
Tableau 3.49.	Scénarios simulés avec un colza « pharmaceutique »
Tableau 3.50.	Génotypes semés pour les scénarios 11 à 16
Tableau 3.51.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations 11 à 16
Tableau 3.52.	Taux de contamination pour les scénarios 11 à 16
Tableau 3.53.	Scénarios simulés sur une ferme en agriculture biologique
Tableau 3.54.	Génotypes semés pour les scénarios 17 à 19
Tableau 3.55.	Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 17 à 19
Tableau 3.56.	Moyennes des contaminations sur une rotation complète après stabilisation des contaminations

Liste des figures

Chapitre 1. Position du problème

- Figure 1.1. Cycle du colza, CETIOM
- Figure 1.2. Coupe et schéma de fleur de colza
- Figure 1.3. Persistance des graines
- Figure 1.4. Cycle annuel du colza (plantes cultivées ou repousses) se déroulant dans chaque unité spatiale.
- Figure 1.5. Flux de gènes entre parcelles simulés par GENESYS-COLZA

Chapitre 2. Etude de la variabilité génétique de certains caractères variétaux

- Figure 2.1. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai cléistogamie 1999
- Figure 2.2. Roses des vents établies sur les essais cléistogamie en 1999, 2000 et 2001
- Figure 2.3. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai cléistogamie 2000
- Figure 2.4. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai cléistogamie 2001
- Figure 2.5. Schéma de fleurs de cléistogame : ouverte, semi-ouverte ou fermée
- Figure 2.6. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai autogamie et hauteur 2001
- Figure 2.7. Proportions de fleurs ouvertes et semi-ouvertes dans le cléistogame
- Figure 2.8. Densité de fleurs dans le cléistogame
- Figure 2.9. Relation entre autogamie moyenne et hauteur moyenne par variété en 2001
- Figure 2.10. Production de pollen au cours de la floraison
- Figure 2.11. Comparaison des taux d'hybridation des colzas cléistogames, conventionnel selon la distance
- Figure 2.12. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour les essais compétition 2000 et 2001
- Figure 2.13. Schéma d'une parcelle de Lutin avec des repousses de F2 de Lutin
- Figure 2.14. Répartition des hauteurs de plantes
- Figure 2.15. Relation entre hauteur et production relative des plantes F2

Chapitre 3. Effets des caractéristiques variétales sur les flux de gènes

- Figure 3.1. Adéquation entre la relation (3.8) et les données observées en 2000 et 2001
- Figure 3.2. Comparaison des données réelles et simulée. Ratio d'émission de pollen de $aa/AA=1$
- Figure 3.3. Comparaison des données réelles et simulée. Ratio d'émission de pollen de $aa/AA=0.37$
- Figure 3.4. Comparaison des données réelles et simulée. Ratio d'émission de pollen de $aa/AA=0.09$
- Figure 3.5. Schéma du parcellaire simulé pour les effets de voisinage
- Figure 3.6. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Pas de décalage entre les parcelles. Contamination la première année de simulations.
- Figure 3.7. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.8. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.9. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.10. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.11. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.12. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.13. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.14. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie
- Figure 3.15. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen
- Figure 3.16. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen
- Figure 3.17. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen
- Figure 3.18. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen
- Figure 3.19. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de la production de graines. Pas de décalage entre les parcelles
- Figure 3.20. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de la différence de hauteur. Pas de décalage entre les parcelles

Figure 3.21. Taux de contamination en fonction de la différence de hauteur. Cas d'une reconversion

Figure 3.22. Parcellaire utilisé pour les simulations d'agriculture biologique et ses bordures

Figure 3.23. Nombres d'années nécessaires au respect d'un seuil maximum d'impuretés. Témoins 1 et 2, Scénarios 1 et 2

Figure 3.24. Nombres d'années nécessaires au respect d'un seuil maximum d'impuretés. Témoin 1, Scénarios 4 et 5

Figure 3.25. Nombres d'années nécessaires au respect d'un seuil maximum d'impuretés. Témoin 1, Scénario 10.

Remerciements

On a beau croire que les remerciements sont plus faciles à écrire, il n'en est rien : et si une personne avait été oubliée dans les remerciements ? C'est pourquoi, je voudrai commencer en remerciant d'ores et déjà tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin lors de cette thèse. Et si leurs noms ne sont pas cités, c'est que, dans le stress du dernier moment, leur nom est resté sur une de mes feuilles de brouillon. Désolée !

Tout d'abord, je tiens à remercier Jean-Marc Meynard et Michel Renard pour avoir concocté un sujet qui m'a occupé un bon bout de temps et pour m'avoir vraiment fait découvrir l'agronomie de terrain et l'amélioration des plantes. Merci aussi à Nathalie Colbach pour avoir pris le temps de m'expliquer comment fonctionnait le modèle et pour m'avoir remis en tête les statistiques (pas toujours facile). Jacqueline Pierre, quant à elle, m'a emmenée compter les fleurs et les grains de pollen et a été là quand j'avais des questions sur les petites bêtes.

Pendant ces trois années, mon comité de pilotage, composé des quatre personnes suscitées mais aussi de Marianne Le Bail, Thierry Doré, Frédérique Angevin, Josiane Champolivier, Jacques David et Antoine Messéan, a non seulement été là pour conseiller et commenter mon travail, mais m'a aussi forcée à apprendre à m'exprimer plus clairement, autant par écrit que par oral. Ce n'est pas encore ça, mais j'y travaille.

Le travail de thèse n'aurait pas été possible sans l'aide de nombreuses personnes lors des expérimentations : Hervé, Patrick, Michel, Daniel et les autres ainsi que l'unité expérimentale de Rennes ; Gilles, les deux Christine, Florence et toutes les autres « petites » mains, dont l'unité expérimentale de Grignon. N'oublions pas les pauvres mains d'œuvre occasionnelles et la stagiaire qui ont souffert des manip : Yuna, Gilles, Laure et Emilie en particulier.

Quant à l'aspect pratique, heureusement que Gérard, Gilles et Jean-François étaient là pour debugger régulièrement mon ordi ; Geneviève, Joëlle, Asma, Martine, Pascale et Marilyne ont été là pour me sortir des déboires administratifs inévitables pendant une thèse ; Yvette, Alain et les bibliothécaires du CETIOM ont réussi à me trouver toutes les références biblio que je cherchais (pas toujours facile je sais). Merci à vous tous.

Je voudrais remercier les gens du CETIOM et du GEVES qui m'ont fourni des données nécessaires à cette thèse. Pour l'aspect analyse des données et rédaction, j'ai également pu bénéficier des conseils des chercheurs de l'unité de Grignon pour l'agronomie et de ceux de Rennes pour tout ce qui touchait au colza ou à la sélection. N'oublions pas ceux qui ont bien voulu se dévouer pour relire ma thèse et faire des commentaires et corrections (enfin, je n'en attendais pas tant !) : mes directeurs de thèse, Frédérique, Geneviève et Nathalie, ainsi que les deux rapporteurs, Claire Lavigne et Yvette Dattée.

Et pour finir, merci à Fanny, Delphine, Cédric, Maëlle, Kristel et Jérôme pour la bonne ambiance dans le bureau et la découverte du Pikachu Volley-ball.

Introduction générale

Le problème de la pureté des récoltes est un problème ancien qui se pose en particulier en production de semences puisqu'il faut pouvoir garantir que les graines vendues ne proviennent que d'une variété (taux d'impuretés maximum de 0.3% en colza certifié, GNIS, 2001). Parmi les impuretés possibles dans la récolte, les impuretés variétales sont parmi les plus difficiles à gérer. En effet, il s'agit de graines de la même espèce mais de variétés différentes et bien souvent, il n'existe aucun moyen de les distinguer sans analyse approfondie.

La culture à grande échelle est également concernée. Ainsi, chez le maïs il existe trois types différents ayant des utilisations bien distinctes. Le maïs standard est utilisé en industrie (alimentaire ou non) après transformation. Le maïs *waxy* contient des molécules d'amidon de composition spécifique pour une utilisation en sauces. Le maïs doux est utilisé en consommation directe. Pour ces deux maïs, il faut éviter les fécondations croisées avec le maïs standard ainsi que les mélanges à la récolte. Plus généralement, pour les espèces où différentes variétés ont des utilisations incompatibles, il faut pouvoir garantir la pureté des lots livrés. Les exigences en pureté variétale dépendent des demandes des utilisateurs, des incidences agronomiques et économiques de la présence d'impuretés mais également des moyens disponibles pour détecter les impuretés (Sicard, 2002).

Aujourd'hui, l'offre variétale pour toutes les espèces augmente. Il existe, par exemple, plusieurs variétés de qualités différentes en blé tendre (biscuitier, panifiable, fourrager,...) et leur mélange diminue la qualité des lots livrés. De plus, avec l'apparition des Organismes Génétiquement Modifiés (OGM), la diversité variétale s'est encore accrue. Les utilisations industrielles de ces produits se diversifient parallèlement et les exigences en pureté variétale des lots livrés augmentent. Ces exigences se traduisent par des seuils de pureté à respecter de plus en plus stricts ce qui demande une traçabilité accentuée dès le champ.

En plus de des problèmes de mélange de graines en dehors du champ, il existe chez les plantes trois voies de contamination des lots par des impuretés variétales pendant la culture. L'origine de ces impuretés peut être une dispersion de pollen entre variétés, une dispersion des graines ou une persistance d'une variété par des repousses issues de graines, de tubercules,...

Ces trois voies sont plus ou moins présentes selon la biologie de l'espèce, le type variétal (lignée ou hybride), la présence ou non de populations férales et les lieux de culture. Chez le maïs, par exemple, seule la dispersion du pollen pose un problème en France car les repousses ne survivent pas. Le cas du colza est plus complexe, les trois voies existent et entraînent des risques de contamination d'une récolte par des impuretés variétales.

Le colza est une espèce partiellement allogame, i.e. une partie des graines produites par la plante provient de fécondation par du pollen extérieur. Or, le pollen de colza peut être dispersé jusqu'à plusieurs kilomètres par le vent et les insectes, bien qu'à grande distance,

cette dispersion devienne anecdotique. Il peut donc y avoir croisement entre populations de colza voisines ou éloignées et présence de graines hybrides dans la récolte qui vont contribuer à augmenter la quantité d'impuretés variétales.

D'autre part, lorsque la culture est arrivée à maturité, les siliques contenant les graines sont sèches et peuvent s'ouvrir sous l'effet de chocs, comme un passage de matériel agricole ou un accident climatique. Les graines peuvent alors tomber au pied de la plante ou être dispersées par le vent, la faune ou le matériel agricole. Ces graines peuvent alors germer ou être enfouies et lever plusieurs années plus tard, donnant naissance à des repousses dans les champs ou dans les bordures de routes ou de champs. Ces repousses peuvent ensuite perpétuer le cycle de dissémination en faisant persister des variétés de colza plusieurs années après leur culture.

Dans le cas du colza, il existe deux variétés à utilisation incompatible : le colza alimentaire et le colza érucique, dont la forte teneur en acide gras érucique interdit son utilisation en alimentation. Les agriculteurs utilisent donc déjà différentes méthodes de gestion des impuretés variétales dans la récolte. Il s'agit principalement d'isolements spatiaux de la parcelle, de temps de retour allongés ou d'utilisation de techniques culturales permettant de limiter la quantité de repousses dans les cultures suivantes comme le faux-semis qui consiste à labourer le champ après la récolte pour laisser lever les repousses qui seront détruites au moment du semis.

En complément des techniques culturales, il est envisageable d'utiliser des caractéristiques des variétés pour limiter leur dissémination et garantir des seuils de pureté. Une variété perdant moins de graines à maturité permettrait par exemple de limiter la dispersion des graines et la persistance des variétés.

Cette étude a pour but d'identifier les caractéristiques variétales permettant de limiter les disséminations des gènes chez le colza et les systèmes de culture dans lesquels ces caractères s'expriment le plus afin de prévoir l'impact de certaines innovations variétales sur les flux de gènes.

La première partie de ce mémoire détaille ce qui est connu sur les mécanismes des flux de gènes chez le colza, la maîtrise de ces flux par les techniques culturales, leur maîtrise possible par les caractères variétaux, et enfin la modélisation de ces effets dans le temps et dans l'espace.

La deuxième partie du mémoire consiste en des études expérimentales de l'effet de certains caractères variétaux sur les flux de gènes et la modélisation de ces effets.

La dernière partie présente un modèle simulant l'effet des techniques culturales complété par l'effet des caractères variétaux sur les flux de gènes entre populations de colza. Ce modèle est ensuite utilisé pour étudier l'effet des caractères variétaux et leurs combinaisons dans différents systèmes de culture.

***Figure 1.1. Cycle du colza (CETIOM, 2001, Colza d'hiver –
Les techniques culturales, le contexte économique)***

Chapitre 1. Position du problème

I. Flux de gènes

1. Diversification des variétés et flux de gènes

Le colza (*Brassica napus* var. *oleifera* L.) est membre de la vaste famille des Brassicacées. En France, il peut être semé à l'automne ou au printemps suivant le type variétal. Le colza de printemps est peu répandu en France (moins de 1% de la sole de colza en 2000 et 2001) car son rendement potentiel est moindre. Le colza commence à fleurir au début du mois d'avril s'il s'agit d'un type hiver ou en juin s'il s'agit d'un type printemps. Sa floraison dure environ 6 semaines. Il est ensuite récolté entre la fin juin et la mi-août selon la date de semis et la région (*Figure 1.1*).

Avec plus de 9 millions de tonnes d'huiles végétales produites en Union européenne pour près de 11 millions de tonnes consommées en 2000, l'huile végétale est un produit de consommation courante. La France est le premier producteur d'oléagineux de l'Union européenne avec plus de 4.7 millions de tonnes de graines produites en 2001 dont 61% de colza. Avec ses graines riches en huile (teneur de plus de 43% en moyenne en 2001 en France, Quinsac *et al.*, 2001), le colza représente 56% des oléagineux cultivés en 2001-2002 dans l'Union européenne.

Les tourteaux, restes des graines après extraction de l'huile, sont utilisés dans l'alimentation animale pour leur richesse en protéines. Les tourteaux de colza entrent dans la composition des aliments pour vaches laitières (40% du tourteau de colza français), pour porcs (40% du tourteau français pour 7% des protéines de la ration alimentaire), pour volailles (environ 10% du tourteau français pour 5% des protéines de la ration alimentaire) et pour bovins viande (environ 10% du tourteau français).

L'huile de colza est utilisée en alimentation humaine sous forme « directe », en bouteille, mais surtout dans les mayonnaises et sauces émulsionnées, en biscuiterie, biscotterie et conserverie, en particulier dans les produits contenant du thon.

Les débouchés non-alimentaires de l'huile de colza sont très divers : production d'additifs pour carburant (ester méthylique ou diester), de lubrifiants (huile pour chaîne, huile deux-temps, fluides hydrauliques, ...), de fluidifiants ou solvants¹, de tensio-actifs, de cosmétiques, de peintures et revêtements (pour la protection du bois, des métaux ou même du béton au moyen des dérivés d'huiles et de glycérine), de nylons, de supports phytosanitaires,...

¹ utilisés lors du pompage de pétrolier Erika après son naufrage en 2000 par exemple ; il s'agit d'esters méthyliques d'huiles végétales ou de dérivés de la glycérine pour le dégraissage, le décapage, la parachimie et les bitumes.

Tableau 1.1. Types de colzas existants et potentiels

	Type de colza	Origine du colza	Utilisations
Diversité existante sur le marché	Colza ++	Sélection classique	Avant 1970 - surtout alimentaire
	Colza 0+ (simple zéro)	Sélection classique	Entre 1970 et 1980 - surtout alimentaire
	Colza 00 (double zéro)	Sélection classique	Depuis 1980 - alimentation humaine - alimentation animale - diester - lubrifiants - fluidifiants - tensio-actifs - cosmétiques - peintures - nylons - ...
	Colza +0 (érucique)	Sélection classique	- tensioactifs - polymères - encres - cosmétiques - pharmaceutique - diester
Nouvelles améliorations existantes	Colza faible α -linolénique	Transgénèse	- alimentation humaine (huile en cuisson) - biocarburants - lubrifiants
	Colza fort laurique	Transgénèse	- détergents
	Colza fort oléique	Transgénèse	- alimentation humaine (friture, assaisonnement) - lubrifiants - biocarburants
Améliorations en projet	Colza fort γ -linolénique	Transgénèse	- alimentation humaine (diététique)
	Colza fort érucique	Transgénèse	- tensioactifs - polymères - encres - cosmétiques - pharmaceutique - diester
	Colza fort stéarique	Transgénèse	- alimentation humaine (margarine, beurre de cacao)
	Colza pharmaceutique (oléosine)	Transgénèse	- pharmaceutique
	...		...

L'avantage des huiles végétales par rapport aux matières grasses animales et au pétrole est qu'elles apportent une sécurité au niveau de l'environnement, des utilisateurs et des consommateurs (AMSOL-PROLEA, 2001c). Elles ne participent pas à l'effet de serre, sont renouvelables, biodégradables et non toxiques.... En France, 20% des matières premières de la lipochimie sont issues de colza, tournesol et lin.

C'est la diversification de la qualité du colza qui lui a permis de conquérir ces nouveaux débouchés. En effet, avant 1970, le seul colza cultivé était riche en acide érucique (réputé pour favoriser les lésions cardiaques) et en glucosinolates (composé ayant un effet goîtrigène et inappétant chez les animaux monogastriques). La sélection de variétés de colzas « simple zéro » (à faible teneur en acide érucique) dans les années 70 puis des colzas « double zéro » (à faible teneur en acide érucique et en glucosinolates) dans les années 80 a permis au colza de s'adapter aux nouvelles contraintes en alimentation humaine et animale. Aujourd'hui, d'autres qualités de colza voient le jour : le colza dit érucique (haute teneur en acide érucique, mais faible teneur en glucosinolates) est utilisé dans l'industrie pour la production de polymères, d'encres, de cosmétiques et autres produits pharmaceutiques. D'autres colzas sont en cours de sélection comme le colza à faible teneur en acide α -linoléique pour éliminer les odeurs qui se dégagent habituellement pendant la cuisson avec de l'huile de colza. Le colza à forte teneur en acide oléique (et faible α -linoléique) permet une utilisation en huile de friture, en assaisonnement ou comme lubrifiant. Ces deux types de colzas ont également une plus forte stabilité mécanique et thermique ce qui permet une diversification des usages non alimentaire.

Ces colzas de « spécialité », prévus pour des utilisations spécifiques dans l'industrie, pourraient n'être que les précurseurs des nouveaux colzas transgéniques. Un colza à forte teneur en acide γ -linoléique, obtenu par transgénèse à partir d'un gène de $\Delta 6$ -désaturase de bourrache, permettrait d'augmenter les atouts nutritionnels de l'huile de colza. Un colza à forte teneur en acide laurique permettrait une utilisation dans l'industrie des détergents². L'augmentation de la teneur en acide stéarique, quant à elle, permettrait une utilisation de ce colza dans l'industrie des margarines et beurres de cacao. Des colzas producteurs de molécules d'usage pharmaceutiques pourraient voir le jour, sur la base de travaux actuellement réalisés sur l'oléosine (société SemBioSys, <http://www.sembiosys.ca>), constituant de la gaine protéique autour des gouttelettes lipidiques présentes dans les graines de colza³. Cela peut concerner en particulier des séquences peptidiques à utilisation pharmaceutique qui pourraient ainsi être produites en grandes quantités.

Le marché existant et les tendances développées sont récapitulés dans le *tableau 1.1*.

Le marché du colza est donc un marché dont la diversification devrait continuer dans les années à venir. Plusieurs prévisions s'accordaient sur un doublement de la consommation d'huiles végétales européennes en lipochimie d'ici à dix ans (Desmarescaux, 1998), pour atteindre un million de tonnes. La baisse des aides à la surface d'oléagineux entre 2000 et

² ce colza OGM a été cultivé aux USA pendant quelques années entre 1995 et 1997, mais, faute de débouchés commerciaux immédiats, la culture a été interrompue.

³ En effet, lors de l'extraction de l'huile, la gaine protéique est également extraite et peut être récupérée. Si des séquences peptidiques d'intérêt ont été greffées sur l'oléosine, elles peuvent être récupérées lors de l'extraction.

Tableau 1.2. Contraintes en production de semences

Type de semence	Type de colza	Temps de retour minimum	Distance d'isolement de plantes différentes susceptibles de se croiser	Impureté variétale	Impureté spécifique
Prébase	Lignée	7 ans sans crucifères	1000m	max 1/1000	Brassica max 1/100m ² Autres max 2/10 m ²
	Hybride			max 1/1000 pour chacun des parents	
Base	Lignée		400 m	max 1/1000	
	Hybride		600 m	max 1/1000 pour chacun des parents	
Certifiées	Lignée		200 m	max 3/1000	Brassica max 4/100 m ² Autres max 10/10m ²
	Hybride		400 m	Mâle max 5/1000 Femelle max 1/100	

Tableau 1.3. Exemples de contraintes en production de colza érucique selon les organismes de collecte

Organisme stockeur ⁴	Mode de séparation du colza érucique des autres colzas			
	A la collecte	En champ		
	Stockage	Itinéraire technique	Distances d'isolement	Temps de retour
X	En cellules séparées sur déclaration de l'agriculteur		100-150m recommandés	Pas de gestion temporelle
Y	Séparation sur déclaration de l'agriculteur + échantillon prélevé par lot livré	Nettoyage du matériel	400-500m	10 ans minimum
Z		Logistique de séparation (certification Agriconfiance® ⁵)	Pas de gestion spatiale (faible surface de colza alimentaire)	7 ans minimum

⁴ Enquête réalisée en 1999 (DAA, A. Fargue). L'anonymat a été demandé par les organismes enquêtés.

⁵ Agriconfiance : contrat producteur-collecteur avec suivi complet des cultures, enregistrement de toutes les interventions et traçabilité complète du champ au produit livré à l'aval. La bonne application du système qualité AgriConfiance® et de son efficacité est vérifiée annuellement par des audits. La conformité est aujourd'hui garantie par trois organismes certificateurs indépendants : SGS-ICS (depuis 1996), AFAQ (depuis 1998) et BVQI (1999). (<http://www.cooperation-agricole.asso.fr>).

2002 suite à la réforme de la PAC (Politique Agricole Commune) a entraîné une diminution progressive des surfaces de colza en France de 1.3 million d'hectares en 1999-2000 à 1.1 million d'hectares en 2001-2002, mais une diminution moins forte des surfaces en jachères de colza (318 000 ha en 1999 et 282 000 ha en 2001). L'étude « prospective oléagineux » effectuée par le CETIOM (Centre d'Étude Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitains) envisage un maintien ou une augmentation des surfaces de colza si la diversification de ses utilisations répond aux besoins de l'industrie (Messéan, *com. pers.*). Les secteurs de développement les plus prometteurs sont ceux des tensioactifs, en particulier des savons, des lubrifiants et des solvants. Des applications aux volumes déjà conséquents devraient aussi se renforcer : peintures, encres, revêtements, adjuvants phytosanitaires.

Les filières de colza existantes ont des contraintes communes sur la qualité des lots de graines pour l'agriculteur (2% de pureté spécifique des lots de graines, humidité inférieure à 9%) ou le stockeur (teneur en huile supérieure à 40%, acidité oléique de 2% maximum) et sur les tourteaux (maximum 12.5% d'humidité, minimum 34-35% de protéines et graisses, maximum 25 μ moles/g de glucosinolates sur graines) (*Cf. Annexe A*).

Chaque filière a de plus des exigences spécifiques. En colza classique (double zéro), la teneur en acide érucique doit être inférieure à 2% ; en colza érucique, en revanche, la teneur en acide érucique doit être supérieure à 40% et en colza semences, la teneur en glucosinolates doit être inférieure à 18 μ moles par g de graines entières au lieu de 30 μ moles dans les autres filières. La filière biocarburant, en revanche, n'est pas distincte de la filière alimentaire au niveau de la collecte et du stockage.

Chaque filière a ainsi ses propres cahiers des charges à respecter. Pour l'instant, les plus contraignants concernent la filière érucique et la filière semences. En effet, la filière classique représente une telle quantité de graines par rapport aux deux autres qu'un mélange accidentel n'aurait pas de répercussions trop importantes sur la qualité des lots de graines de colza alimentaire⁶. Les deux autres filières brassent des quantités plus faibles de graines et ont des critères de pureté plus stricts (*Tableaux 1.2 et 1.3*). L'irruption des colzas transgéniques, certains non-alimentaires voire pharmaceutiques, va occasionner un abaissement des seuils de contaminations tolérés. Pour les OGM par exemple, aucune contamination n'est tolérée en colza biologique (soit 10^{-4} , le seuil actuel de détection) tandis qu'en production de semences, le seuil envisagé est plutôt de 0.5% (Angevin *et al.*, 2002).

Ces contraintes de pureté de lots se répercutent sur les organismes stockeurs, mais aussi sur les agriculteurs qui doivent pouvoir garantir la pureté des récoltes à la sortie de leur champ. Or, il existe des contaminations de récoltes de colza via les flux de gènes intraspécifiques. La contamination des récoltes par des graines d'autres variétés de colza (pureté variétale) peut être la conséquence de plusieurs événements : la contamination du stock semencier du sol, la contamination de la parcelle durant la culture, le mélange à la récolte ou après celle-ci. Le dernier cas dépend de l'organisation de la récolte et de la collecte

⁶ vente de semences de colza en France pour la campagne 99/00 : 34 854 quintaux pour 3.2 millions de tonnes de colza alimentaires produits en 1998 et 500 000 tonnes de colza non-alimentaire en 1998.

Figure 1.2 Coupe et schéma de fleur de colza
(d'après Pierre et Renard, 1995, Bull. Tech. Apic. 22 : 46-49)

tandis que les deux premiers cas sont en relation avec la biologie du colza⁷.

Ces contaminations intraspécifiques au champ des cultures de colza peuvent avoir plusieurs origines : la contamination du stock semencier est due à la présence de graines dans le sol, quant à la contamination en cours de culture, elle provient d'hybridations via le pollen soit des colzas cultivés des champs voisins, soit des repousses présentes dans des parcelles de colza ou dans des bordures de champs et de routes.

2. Flux de pollen

L'hybridation dépend de plusieurs facteurs. Le support de l'hybridation est la rencontre d'un grain de pollen d'une plante avec une fleur (un ovule) d'une autre plante. Cette rencontre ne peut avoir lieu que sous plusieurs conditions : l'espèce doit être au moins partiellement allogame ; les deux plantes doivent avoir une floraison, au moins en partie, synchrone ; la distance entre les deux plantes doit être telle que le pollen peut être transporté de l'une à l'autre par le vent ou les animaux en restant viable et la quantité d'allopollen par rapport à celle d'autopollen doit être assez grande pour que la probabilité de rencontre de l'allopollen avec l'ovule ne soit pas négligeable.

2.1. Autogamie du colza récepteur

Un fort taux d'autogamie des plantes permet aussi de limiter les hybridations dans la culture. Ainsi, le blé et le soja ont tous les deux un fort taux d'autogamie (Le Bail *et al.*, 2001) et les contaminations pendant la floraison sont faibles pour ces espèces. Le colza (*Figure 1.2*) est généralement considéré comme ayant un taux d'autogamie de 70% (Sylvén, 1920, cité par Rives, 1954; Olsson, 1960). Ainsi, certaines fleurs peuvent être pollinisées par d'autres plantes de colza. Ce pollen provient majoritairement d'autres plantes de colza du même champ et de la même variété, mais il peut aussi y avoir fécondation par des pieds de colza d'autres parcelles ou par des repousses dans la parcelle ou dans les bordures de champ et de route voisines.. La proportion de fleurs pollinisées par du pollen extérieur dépend du taux d'autogamie. Ce taux d'autogamie varie selon les cultivars (Hühn *et al.*, 1979; Rudloff *et al.*, 1984) et selon l'environnement (Becker *et al.*, 1991, 1992). Ces variations peuvent être très importantes d'un individu à l'autre. Olsson (1960) et Hühn *et al.* (1979) ont observé des individus avec des taux d'autogamie de 0% à 98%. Becker *et al.* (1991, 1992) ont observé des taux d'autogamie de 57% à 79% selon le génotype et de 53% à 88% selon le lieu d'expérimentation. Il devrait donc être possible de sélectionner des colzas à fort taux d'autogamie afin de limiter les contaminations à la floraison.

2.2. Floraison des colzas émetteur et récepteur

Les floraisons de ces deux colzas doivent également être synchronisées pour que l'hybridation ait lieu.

⁷ si l'on exclut le mélange des sacs de semences et autres contaminations fortuites entre la récolte et la vente des semences.

Sur certaines espèces, il est possible de réduire la dispersion du pollen en décalant en partie ou totalement les floraisons. Les dates de floraison jouent sur la durée de la période pendant laquelle le croisement est possible. En effet, plus les floraisons de deux populations sont synchrones, plus la probabilité de croisement est élevée. C'est une des solutions envisagées par Angevin *et al.* (2002) chez le maïs. Le modèle MAPOD montre qu'en choisissant une variété à floraison précoce pour le maïs contaminant et une variété tardive pour le maïs contaminé, on peut diminuer le taux d'hybridation jusqu'à 50 fois selon le système de culture simulé (Angevin *et al.*, 2002). Cependant, chez le colza, la floraison dure environ 6 semaines et le décalage de début de floraison entre deux variétés de précocité extrême (la classe de précocité est un élément d'évaluation pour l'inscription au catalogue) est d'une à deux semaines. Les dates de floraison dépendent également du climat : une forte chaleur pendant la floraison raccourcit par exemple la durée de floraison tandis qu'une forte pluie peut amener une fin de floraison brutale. L'effet du génotype sur la date de début de floraison a déjà été étudié par Husson *et al.* (1997). Ces auteurs ont montré que cette date dépend de la somme des températures moyennes depuis le semis, de la photopériode moyenne sur la même période et du génotype.

2.3. Distance entre les colzas émetteur et récepteur

La source de pollen extérieur doit être assez grande (taille et densité de la population émettrice) et proche (distance de dispersion du pollen) pour pouvoir apporter du pollen fécondant au colza récepteur.

Le pollen de colza peut être dispersé par le vent et les insectes (Mesquida *et al.*, 1982). La dispersion du pollen a été étudiée en milieu continu et discontinu à la fois dans des conditions expérimentales (Scheffler *et al.*, 1993; Stringam *et al.*, 1982; Timmons *et al.*, 1995; Lavigne *et al.*, 1998), dans des situations proches des situations culturelles françaises (Champolivier, 1998; Champolivier *et al.*, 1997; Champolivier *et al.*, 2002) et dans des situations de culture à grande échelle (Timmons *et al.*, 1995; Thompson *et al.*, 1999a; Rieger *et al.*, 2002).

En milieu continu, Stringam *et al.* (1978) ont observé que les taux de contamination diminuaient brusquement au-delà de 137 m (1.1% de contamination à 137 m et 0.6% à 366 m). Scheffler *et al.* (1993) ont trouvé un taux de contamination de 0.4% à 12 m. D'après les résultats de Scheffler *et al.* (1993), la majorité du pollen tombe à moins de 3 m de la plante émettrice et le reste du pollen tombe à des distances plus grandes avec une probabilité décroissant selon une exponentielle négative fonction de la distance (courbe leptokurtique). À 12 m de la source, on ne trouve plus que 0.02% du pollen émis.

Ces résultats sont cependant fortement dépendants de la taille et de la forme des parcelles émettrices et réceptrices ainsi que de la géographie du paysage. (Astoin *et al.*, 2000).

En milieu continu, Lavigne *et al.* (1998) ont quantifié la dispersion de pollen d'une plante en prenant en compte les événements rares et à longue distance. Ceci permet d'obtenir une courbe de dispersion indépendante de la forme de la source. Pour ce faire, ils ont étudié la

dispersion de pollen efficace d'une parcelle source de 9*9 m² de colza résistant à un herbicide vers une parcelle puit de 90*90 m² de colza sensible l'entourant. Un quadrillage de colzas sensibles mâles stériles dans la parcelle puit a aussi servi à déterminer la dispersion de pollen. Lavigne *et al.* (1998) ont pu déduire de la dispersion globale du pollen une fonction de dispersion individuelle des plantes résistantes. D'après leurs résultats, environ 50% du pollen tombe à moins de 3 m de la plante émettrice et le reste du pollen tombe à des distances plus grandes avec une probabilité décroissant selon une courbe leptokurtique.

Ces travaux établissent des courbes de dispersion en milieu continu. Or, en réalité, c'est plutôt un couvert discontinu que l'on rencontre dans les campagnes avec des haies, des routes, des bois...

Des expérimentations en milieu discontinu ont montré que cette dispersion peut se faire à plusieurs kilomètres du lieu d'origine (Timmons *et al.*, 1995; Thompson *et al.*, 1999b) et aucun seuil de distance assurant un flux zéro n'a pu être déterminé. Timmons *et al.* (1995) ont détecté, avec des pièges physiques à pollen, une concentration de pollen à 360 m égale à 10% de celle au-dessus du champ. Les résultats expérimentaux des plates-formes inter-instituts (Champolivier *et al.*, 2002), mesurant des taux d'hybridation, montrent qu'à 30 m de la parcelle émettrice moins d'une graine sur 100 de la parcelle réceptrice est issue d'hybridation, c'est-à-dire que moins de 1 ovule sur 100 est allofécondé. À 120 m, cette proportion descend à moins de 5 graines sur 1000. Des observations sur les transferts à plus longues distances (au-delà de 400 m) indiquent que la dispersion du pollen devient très irrégulière, mais que des hybridations sont observées en bordure de certaines parcelles (0 à 1% de contamination).

Les modèles micrométéorologiques de dispersion du pollen montrent qu'une haie (forte rugosité) aurait tendance à diminuer la distance de dispersion du pollen tandis qu'une route ou un sol nu (rugosité faible) l'augmenterait (Foudhil *et al.*, 2002). Cependant, les modèles météorologiques ne prennent pas en compte la dispersion par les insectes. Or, la contribution relative des insectes et du vent à la pollinisation du colza n'est pas claire (Scheffler *et al.*, 1993) et il est difficile d'étudier ces deux phénomènes séparément. Cependant, le pollen de colza s'agglutine en amas car il est collant, ce qui est une caractéristique du pollen entomophile (Eisikowitch, 1981) et certains essais démontrent une forte influence de l'activité des insectes sur la pollinisation (Bilsborrow *et al.*, 1998). Les abeilles domestiques sont un des principaux pollinisateurs du colza (Pierre *et al.*, 1999b). Si elles peuvent aller butiner des fleurs à 1 ou 2 km de la ruche (Eckert, 1993 cité par Scheffler *et al.*, 1993), elles ont tendance à visiter des plantes situées dans une petite surface (Ribbands, 1953 ; Gary, 1975; Martin, 1975 ; Alford, 1978 cités par Scheffler *et al.*, 1993). Les insectes peuvent donc participer à la dispersion à faible et à grande distance de la source émettrice.

C'est pourquoi un modèle physique de dispersion de pollen ne prenant pas en compte les insectes n'est pas suffisant pour prédire les flux de pollen efficace.

2.4. Caractéristiques des colzas émetteur et récepteur

L'attractivité des fleurs pour les auxiliaires va jouer sur la quantité de pollen dispersée

par les insectes. Elle dépend du génotype, du nombre de fleurs, de la productivité de la fleur en nectar et en pollen, mais aussi de sa morphologie. Les principaux pollinisateurs du colza sont les abeilles, dont une majorité butinent le colza pour son nectar. Il a été démontré (Pierre *et al.*, 1999a) que la production de nectar dépend de la variété considérée, mais aussi du climat et de la période au sein de la floraison (la production est plus importante en début qu'en fin de floraison).

La densité de fleurs par m² dépend du génotype, mais aussi des conditions culturales et climatiques. Quant à la productivité en pollen efficace des fleurs, elle varie selon le génotype (les colzas mâles stériles ne produisent pas de pollen par exemple), mais aussi selon le climat. Après une pluie, par exemple, le pollen de la fleur est lessivé et aucun pollen efficace n'est émis par la plante.

La taille et le poids du pollen influent sur sa capacité à être transporté par les abeilles et le vent. La taille et le poids du pollen sont plus ou moins constants dans une espèce, c'est d'ailleurs ce qui permet au palynologue de reconnaître l'espèce d'après le pollen. Seules des plantes comme certains mâles stériles instables semblent présenter une différence de forme et de taille du pollen (J. Pierre, *com. pers.*). Un autre caractère spécifique du pollen de colza est sa tendance à former des amas difficilement dispersables par le vent. La désagrégation de ces amas se fait lorsque le pollen vieillit (J. Pierre, *com. pers.*).

La viabilité du pollen va jouer sur la capacité du pollen transporté à féconder les fleurs de colza sur lesquelles il tombe. Elle dépend principalement des conditions climatiques. La durée de vie d'un grain de pollen est d'environ 8 jours dans des conditions extérieures (plus longue si la température est plus basse) (Pierre *et al.*, 2002).

L'émission de pollen est aussi un caractère déterminant dans les flux de pollen. Diminuer cette émission entraînerait une faible contamination. Pour ce faire, plusieurs stratégies sont possibles : il existe déjà des colzas mâles stériles n'émettant pas de pollen, certains types de colzas mâles stériles sont instables et ne produisent que de très faibles quantités de pollen. Cependant, ces colzas partiellement ou totalement mâles stériles courent plus de risques d'être contaminés par de l'allopollen que des colzas conventionnels puisqu'ils sont allogames à 100% et dépendent du pollen extérieur pour la fécondation. La culture d'associations variétales contenant des plantes mâles stériles, possédant le gène ne devant pas être dispersé, et des plantes mâles fertiles serait une possibilité pour limiter le flux de gènes par le pollen. Une autre solution consisterait à modifier la morphologie de la fleur : une fleur restant complètement fermée tout au long de la floraison ne devrait pas émettre de pollen et ne contaminerait donc pas les colzas voisins. L'INRA de Rennes (Pierre *et al.*, 1999b) développe un colza cléistogame conservant ses fleurs fermées tout au long de la floraison.

3. Flux de graines

La présence de graines de colza avant la mise en culture dans le stock semencier du sol s'explique en général par des chutes de graines lors de cultures précédentes.

Les graines de colza sont « confinées » dans les siliques jusqu'à maturité. Sous l'effet d'un choc thermique ou mécanique (pluie, passage de machine, d'animal, ...), les siliques peuvent s'ouvrir et libérer les graines. C'est la déhiscence. Ce phénomène dépend du climat, mais aussi du génotype (Morgan *et al.*, 2000), ces deux facteurs interagissant. Les graines tombent alors principalement au pied de la plante mère ou à une courte distance (environ 1 m). Elles peuvent se conserver dans le sol de la parcelle pendant plusieurs années. Ces graines pourront ensuite germer et donner naissance à des repousses dans les champs.

Les chutes de graines sont très variables selon les conditions climatiques et épidémiologiques (pression des maladies, insectes,...). On constate en France des pertes de 1.5% à 8.5% en moyenne (Berl, 2000), mais elles peuvent augmenter jusqu'à atteindre 80% dans de mauvaises conditions, comme une grêle avant récolte (Berl, 2000). Deux modes de récolte du colza sont pratiqués en France. Le premier consiste en une coupe et une récolte directe ; le second consiste à andainer le colza au début de la maturation des graines (graines des siliques du bas marron) et à laisser la culture finir de mûrir dans l'andain avant de récolter deux à trois semaines plus tard. Les pertes observées (Price *et al.*, 1996) avec la première méthode sont d'environ 11% de la récolte globale dont 40% sont dus à l'égrenage sur pied et 60% aux chocs et pertes pendant la récolte mécanique. Dans le cas de l'andainage, les pertes varient selon le stade auquel l'andainage a été fait (de 11% à 25% pour un andainage précoce à tardif). Pour un andainage précoce, 6% de ces pertes sont dus à l'égrenage, 40% aux chocs lors de la coupe des plantes et de la formation de l'andain, 23% des pertes ont lieu dans l'andain pendant la maturation et 31% sont dus à la récolte des andains. Cette étude a été effectuée en Angleterre où les pertes à la récolte sont plus importantes qu'en France ; cependant, les mêmes phénomènes interviennent dans la chute des graines en France.

Les graines perdues par égrenage ou pendant la récolte peuvent tomber à terre ou être emportées à l'extérieur de la parcelle vers d'autres champs ou bordures par le vent, la faune ou le matériel agricole. La dispersion par le vent se fait à courte distance (2 mètres au maximum), mais il existe un effet de l'environnement (Colbach *et al.*, 2001).

La résistance à l'égrenage va jouer sur les proportions de graines qui vont tomber à maturité. Le rendement de l'agriculteur dépend beaucoup de ce caractère. Les pertes sont couramment de 5% à 15% en France, mais peuvent atteindre des valeurs extrêmes en cas de mauvaises conditions climatiques (jusqu'à 80% de pertes en 2000 à cause de fortes grêles au printemps) (Berl, 2000). La résistance à l'égrenage dépend de plusieurs gènes contrôlant différents caractères : la rigidité de la paroi de la silique, l'épaisseur de cette paroi ou la courbure de la silique (Child *et al.*, 1998; Morgan *et al.*, 2000). Des essais de sélection pour la résistance à l'égrenage sont en cours depuis quelques années (projet FAIR-CT96-3072) (Uluskov *et al.*, 1998), mais il semble difficile de sélectionner conventionnellement pour ces traits complexes et récessifs, d'autant qu'il existe peu de variabilité parmi les variétés de colza cultivées (Morgan *et al.*, 2000). En effet, la résistance à l'égrenage interagit énormément avec le climat.

La production de graines, quant à elle, influe directement sur le nombre de graines

tombées à maturité et sur le nombre de graines dispersées. La variation de production de graines correspond à une variation de rendement. Elle dépend du génotype, mais aussi du climat et des conditions de culture et est bien documentée puisque avant d'inscrire une variété au catalogue français, des comparaisons de rendement par rapport à des témoins sont faites (Valeur Agronomique et Technologique). L'écart moyen de rendement entre variétés cultivées à la même période ne dépasse pas 20% (GEVES, 2001).

La taille et le poids des graines vont influencer sur la facilité des graines à être dispersées, en particulier par les transports (bennes, moissonneuses,...). Le poids des graines varie d'une variété à l'autre, mais aussi d'une année ou d'une parcelle à l'autre (influence forte des conditions climatiques).

Pour influencer sur la dispersion des graines, il est difficile de jouer sur la production de graines car une culture de colza n'est intéressante pour l'agriculteur que si son rendement est bon. En revanche, une meilleure résistance à l'égrenage permettrait de limiter les pertes de graines à la récolte et donc à la fois d'augmenter le rendement réel pour l'agriculteur et de diminuer le nombre de repousses dans les cultures suivantes.

Sur ces aspects, la variabilité intergénomique reste globalement faible, comparée à celle liée aux facteurs environnementaux.

4. Survie des repousses

Les densités de repousses observées au champ après une culture de colza peuvent varier de quelques centaines de plantes par m² à plusieurs milliers (Wagner, *com. pers.*). Ces repousses sont issues de graines tombées à la récolte. Les graines tombées des cultures peuvent également survivre dans les bordures de champs et de routes. Ces graines peuvent constituer des populations férales qui vont s'entretenir. Les graines germent, donnent des plantes adultes qui vont produire des graines, ces graines vont tomber au sol et reconstituer le stock semencier. D'anciennes variétés peuvent ainsi être retrouvées dans les bordures plus de 8 ans après l'arrêt de leur culture (Sauermann, 1993; Squire, 1999; Pessel *et al.*, 2000). D'après Pessel *et al.* (2000), ces populations férales peuvent provenir de pertes de graines de différents champs ensemencés en colza l'année précédente, de germination tardive d'un mélange de génotype du stock semencier ou être un mélange de génotypes persistants (par autorecrutement local ou germination tardive) et de graines tombées des camions ou des champs cultivés (Crawley *et al.*, 1995 cité par Pessel, 2000). Ces populations férales peuvent servir de relais à des flux de gènes et contaminer les champs voisins.

Les graines de colza ne possèdent presque pas de dormance primaire à maturité (Lutman, 1993; Schlink, 1994). Cependant certaines graines ne germeront pas et seront enfouies lors du travail du sol pour la culture suivante. En cas de faible humidité, température ou concentration en oxygène (Lutman, 1993; Pekrun *et al.*, 1998), les graines de colza peuvent entrer en dormance secondaire. Une fois en dormance, elles peuvent survivre plusieurs années dans le sol. Vaughan *et al.* (1976) ont montré que des graines de colza pouvaient rester viables dans le sol pendant au moins dix ans. Dans le cadre de l'étude citée

plus haut, Pessel *et al.* (2000) ont trouvé des repousses issues de variétés qui n'étaient plus cultivées depuis plus de 8 ans. Cependant, Hails *et al.* (1997) ont montré que seul 1.5% des graines survivait au-delà de la première année.

Plus les graines sont enfouies profondément et plus le pourcentage d'émergence des graines diminue. Garret et Orson (1989, cités par Lutman, 1993) ont trouvé des pourcentages d'émergence de plus de 70% pour des graines enfouies à moins de 7.5 cm et un pourcentage d'émergence de moins de 8% pour les graines enfouies à 10 cm.

Au bout d'un certain temps dans un état semi-imbibé, les graines dormantes deviennent photosensibles (Pekrun *et al.*, 1998) et peuvent germer une fois ramenées à la surface par un travail du sol. Une température variable peut aussi permettre de lever la dormance secondaire. Ces trois phénomènes - entrée en dormance secondaire, survie de la graine dans le sol et levée de la dormance - permettent aux graines de colza de persister (*Figure 1.3*). Ces graines persistantes peuvent soit germer dans les cultures suivantes, soit germer dans les populations férales et constitueront des sources de contamination des récoltes de colza ou des relais pour les flux de gènes dans le temps.

La survie des graines dans le sol va jouer sur le nombre effectif de repousses qui pourront germer et contaminer les cultures de colza par leur pollen et leurs graines. Il s'agit de la proportion de graines qui survivent d'une année à l'autre en conservant leur pouvoir germinatif.

Le taux de germination des graines dans le sol, lié à la capacité à entrer en dormance et à en sortir, varie selon le génotype (Squire *et al.*, 1997; Squire, 1999; Marshall *et al.* 2000). Il dépend aussi des conditions extérieures : la température (il existe en plus des interactions entre génotype et température) et l'humidité du sol.

Le génotype peut aussi influencer de différentes manières sur la compétitivité des repousses dans un peuplement. La compétitivité des plantes peut jouer à plusieurs moments du cycle : à la levée, pendant l'établissement des plantes, à la reprise de végétation et pendant la montaison.

La précocité des repousses peut influencer leurs capacités de développement et leur compétitivité. En effet, selon que leur précocité de levée, elles se seront plus ou moins développées avant la levée de la culture et seront plus ou moins compétitives vis-à-vis des nutriments et de la lumière. Cette compétitivité à l'établissement va être importante pour la survie des plantes pendant l'hiver.

Le génotype aura aussi une influence sur la compétition à partir de la reprise de végétation. Cette compétition va jouer sur la production de pollen et de graines des repousses. Pour les repousses de colza dans une culture de colza, l'intensité de cette compétition va dépendre des deux génotypes en présence. Des repousses de colzas nains dans un colza haut n'auront pas le même comportement que des repousses naines dans un colza nain ou que des repousses hautes dans un colza nain. Azaïs *et al.* (1986) et Schott *et al.* (1994) ont constaté un

effet de la hauteur dans la compétition entre parcelles de colza. La hauteur peut aussi jouer sur la capacité des plantes à polliniser des plantes voisines. En effet, dans un couvert de colza, une partie du pollen tombe par gravité sur les fleurs des niveaux inférieurs. Il est donc plus difficile pour un colza nain de féconder les fleurs d'un colza haut. La différence de hauteur entre culture et repousses pourrait aussi entraîner un effet d'ombrage sur les colzas plus bas comme chez le blé (Demotes-Mainard *et al.*, 1995) et diminuer la production de pollen et de fleurs et de graines des plantes basses.

Selon le type de colza, la compétitivité des repousses peut être plus ou moins forte. Par exemple, les colzas hybrides sont réputés pour avoir une plus forte vitesse de croissance (Buson, 1979) et des colzas nains ou demi-nains (les premiers colzas hybrides demi-nains sont apparus en 1999 en France) engendreraient des repousses plus petites et donc sans doute moins compétitives que des colzas hauts. Selon le génotype des repousses, les contaminations engendrées par leur pollen et leurs graines peuvent être augmentées ou diminuées.

Tous ces mécanismes permettent des échanges de gènes entre génotypes différents (cultures et repousses). La pureté de certaines récoltes peut alors être mise en cause, et ce pendant plusieurs années, même quand le colza contaminant n'est plus cultivé.

II. Gestion des flux de gènes

1. Techniques actuelles de gestion

Examinons maintenant comment est gérée la pureté des récoltes dans les filières de semences et de colza érucique.

Pour ce qui est du colza semence, le GNIS (Groupement National Interprofessionnel des Semences et des plants) édite chaque année les règlements techniques expliquant les mesures à suivre pour limiter les contaminations des semences (*Tableau 1.2*) (GNIS, 2001). Il s'agit en particulier de contraintes sur les temps de retour de colza sur les parcelles et de distance d'isolement des parcelles de production pour pouvoir respecter les seuils de pureté qui dépendent du stade de la création variétale.

Les sélectionneurs et multiplicateurs imposent ensuite leur propre cahier des charges aux agriculteurs producteurs de semences. Généralement, celui-ci est plus strict, même si les mesures imposées ne reposent pas toujours sur des bases scientifiques. Leurs techniciens viennent vérifier l'état de propreté des parcelles en cours de culture et les distances par rapport aux autres cultures de colza. Les repousses sont arrachées manuellement. Cette façon de faire génère des coûts non négligeables et n'est appliquée que parce que la production de semences est mieux rémunérée que la production de colza alimentaire. Elle nécessite en plus une bonne coordination entre voisins.

Pour ce qui est du colza érucique, ce sont les organismes de collecte et stockage qui fournissent les recommandations aux agriculteurs (*Tableau 1.3*). La production se fait

généralement sous contrat. Tout le système repose sur la séparation à la collecte des deux types de colza, alimentaire et érucique, et surtout sur la pureté des récoltes. C'est donc principalement pendant la culture que les contaminations peuvent avoir lieu.

On retrouve le même type d'exigences que pour les semences : des temps de retour plus longs (en général, le temps de retour est de 3-4 ans pour du colza alimentaire) et des distances d'isolement minimum entre colzas.

Dans ces deux cas, le surcoût de production est pris en charge par un prix plus élevé payé aux opérateurs. Pour les semences, la rémunération de l'agriculteur à la tonne étant plus forte que pour du colza alimentaire, l'agriculteur a intérêt à veiller à la pureté de la récolte. Il ne serait pas facile de faire adopter ces mesures pour des marchés de grande taille et sans rémunération du travail supplémentaire (Le Bail *et al.*, 2001).

Cependant, d'autres modalités de maîtrise des contaminations pourraient être mises en œuvre (Berl, 2000).

Pour limiter la perte de graines, la récolte peut être avancée pour éviter une déhiscence trop forte des siliques. L'andainage dans les régions ventées ou exposées aux orages d'été permet aussi une meilleure homogénéité de la maturité des siliques, donc une moindre perte à la récolte. Cependant, vu le coût de ce travail, peu d'agriculteurs andainent, au risque d'obtenir des lots contaminés, même en production de semences.

Un détournage, qui consiste à récolter séparément le bord du champ à proximité de la source contaminante et le centre, peut aider à obtenir une récolte avec un plus faible taux d'impuretés.

Le stock semencier de la parcelle peut aussi être diminué en allongeant le temps de retour du colza sur la parcelle ou en choisissant des cultures suivantes dans lesquelles la gestion des repousses levées est plus efficace.

Un travail du sol bien avant le semis de la culture suivante permet à une bonne partie des repousses de lever puis d'être détruites au moment du semis de la culture suivante. De plus, les repousses sont facilement éliminées par des herbicides pendant les cultures de monocotylédones comme les céréales (en conditions non pluvieuses). Dans une culture de printemps, une bonne partie des repousses sont détruites au semis et les repousses levant ensuite n'auront pas été vernalisées et ne fleuriront pas.

Enfin, la fauche des bordures de champ ou de routes par les agriculteurs ou les services de la DDE (Direction Départementale de l'Équipement) avant la floraison ou la grenaison des repousses de colza sert aussi à limiter la dispersion des gènes vers la parcelle. Certains Contrats Territoriaux d'Exploitation exigent également que l'agriculteur élimine toutes les repousses de moutarde ou de colza dans ses jachères (par exemple si l'agriculteur décide de faire des jachères de colza érucique, Cf. <http://www.cte.fnsea.fr/textes/note/CadreNationalCTEgrandescultures.pdf>).

2. Objectifs de l'étude

En complément ou à la place des méthodes agronomiques, il est envisageable d'utiliser des caractères variétaux pour limiter les échanges génétiques entre les parcelles. Plusieurs solutions sont possibles pour limiter les contaminations par la voie génétique, selon la phase du cycle du colza sur laquelle le caractère agit. L'avantage attendu des mesures génétiques est qu'elles permettraient de gérer les flux de gènes en agissant non seulement à l'échelle du bassin, mais aussi à celle de la parcelle. La combinaison de moyens agronomiques et génétiques pourrait permettre une gestion plus souple des risques de flux de gènes

Cependant, on ne sait pas encore quelles caractéristiques variétales ont un rôle dans la contamination des récoltes et leur influence n'a pas été quantifiée. De plus, celle-ci varie selon le contexte cultural ou le système de culture et l'efficacité de la combinaison de plusieurs caractéristiques n'est pas forcément prédictible à partir de l'effet de chacune.

Il s'agit donc, lors de cette thèse, d'étudier l'effet des caractéristiques variétales sur les flux de gènes intraspécifiques au sein des paysages agricoles chez le colza. Ceci suppose d'évaluer quelles caractéristiques variétales ont un effet sur les flux de gènes et de déterminer dans quels systèmes de culture ces effets s'expriment de manière positive ou négative. Ceci devrait ensuite permettre de tirer quelques conclusions quant aux axes de sélection pour limiter les flux de gènes.

GENESYS-COLZA est un outil de simulation qui permet de tester les systèmes de culture en comparant leur capacité à gérer les flux de gènes. Nous nous proposons de l'utiliser pour évaluer l'intérêt des innovations variétales.

3. Modélisation des flux de gènes (Colbach, 2001a, 2001b, 2002)

Dans le but d'évaluer les risques de contamination des récoltes selon les systèmes de culture employés afin d'identifier les techniques culturales les plus aptes à limiter les contaminations, Colbach *et al.* (1996, 2001a, 2001b) ont conçu le logiciel GENESYS. GENESYS-COLZA permet de simuler l'effet de différentes caractéristiques culturales sur la dissémination des transgènes entre populations de colza à l'échelle d'un paysage.

GENESYS-COLZA est un outil de simulation qui permet de tester les systèmes de culture en comparant leur capacité à gérer les flux de gènes. Il a d'ailleurs été utilisé pour comparer différentes méthodes pour limiter les contaminations dans un contexte de culture simultanée de colza GM et non GM (Angevin *et al.*, 2002). Nous nous proposons de l'utiliser pour évaluer l'intérêt des innovations variétales.

Le modèle est conçu pour évaluer les flux de gènes à partir d'un colza transgénique résistant à un herbicide, mais il peut également être utilisé pour évaluer le flux de gènes à partir de nouvelles variétés obtenues par sélection classique et/ou pour des gènes codant pour d'autres caractéristiques, dès lors qu'on les considère comme neutres vis-à-vis de la dispersion. Le modèle ne considère que les flux intraspécifiques et ne prend pas en compte les

Tableau 1.4. Exemple de techniques culturales appliquées aux cultures simulées dans le modèle

CULTURE	GESTION DE LA CULTURE							
	Déchau- mage	Travail du sol	Date de semis	Densité de semis (graines /m ²)	Herbicide au semis (Taux de mortalité)	Herbicide au printemps (Taux de mortalité)	Broyage 1 ^{er} 2 ^e	Perte récolte (%)
Colza	Oui	Labour	31/8	70	0% ^c	0%		5
Culture d'hiver	Oui	Chisel	4/10	350	90%	90%		100
Jachère non semée	^a					0%	28/4 20/5	
Bordure						0%	25/4	
...								

^a Les cases en gris correspondent à des techniques qui n'existent pas pour la culture en question

**Figure 1.4. Cycle annuel du colza (plantes cultivées ou repousses)
se déroulant dans chaque unité spatiale**

flux interspécifiques.

Le modèle utilise plusieurs types de variables d'entrée :

- le parcellaire régional découpé en unités spatiales quadrangulaires telles que les champs cultivés et les bordures de champ ou de routes. Chaque unité spatiale est décrite par les coordonnées de ses quatre coins ;
- la rotation sur chaque parcelle, succession sur un nombre fixé d'années de différentes cultures. Pour cela, le modèle distingue différentes cultures telles que le colza transgénique ou classique, les cultures d'hiver et de printemps autres que le colza et plusieurs types de jachères (non semées, semées en automne ou au printemps, fixes) ;
- les pratiques culturales employées (travail du sol, désherbage,...) pour conduire les différentes cultures et les bordures (voir exemple présenté par le *tableau 1.4*). Il est possible d'appliquer des itinéraires techniques différents à une même culture implantée dans différents champs ou à différents instants ;
- les variables génétiques : d'abord, il s'agit de choisir le type d'allèle modélisé qui peut être dominant (A) ou récessif (a). En fonction du premier choix, plusieurs génotypes de colzas transgénique et conventionnel sont possibles (homozygote ou hétérozygote). Pour chacun des génotypes, AA, Aa et aa, l'utilisateur peut aussi choisir le taux d'autogamie. Enfin, chaque allèle (A et a) peut induire une émission de pollen ou une production de graines plus ou moins importante.

Les variables de sortie les plus importantes sont, pour chaque parcelle, chaque année, le nombre de plantes adultes de colza (repousses ou plantes cultivées), le nombre de graines produites et le stock semencier contenu dans le sol. Pour chacune de ces trois variables le modèle calcule le nombre d'individus par m² et les proportions des trois génotypes AA, Aa et aa.

3.1. Structure du module temporel

Le détail de ce module temporel est donné par Colbach *et al.* (2001a).

Le cycle annuel du colza (*Figure 1.4*) se déroule chaque année dans chaque champ et bordure qu'il s'agisse de repousses ou de plantes cultivées. Pour chacun des stades (plantules, adultes,...), le modèle calcule le nombre d'individus par m² et les proportions des trois génotypes.

La récolte des graines de colza n'a lieu que dans les cultures de colza. Les relations entre les différents stades (matérialisées par des flèches sur la *figure 1.4*) dépendent :

- de la culture en place dans la parcelle simulée. Par exemple, les repousses de colza dans une culture de printemps ne sont pas assez vernalisées et n'ont pas assez de temps pour

achever leur cycle et ne produisent ni fleurs ni graines ;

- des techniques employées pour conduire cette culture. Un broyage des ramifications fleuries va arrêter leur floraison et empêcher leur grenaison. La répartition verticale des semences de colza dans le stock de présemis lequel dépend de la répartition initiale, mais aussi de l'outil employé pour le travail du sol ;

- de caractéristiques du colza. Par exemple, si l'on applique un herbicide pour lequel le transgène apporte une tolérance, alors toutes les plantes résistantes (homozygotes, voire hétérozygotes si l'allèle apportant la résistance est dominant) survivent tandis que la majorité des plantes sensibles meurent. En revanche, pour tous les autres herbicides, la mortalité est indépendante du génotype et les proportions génotypiques avant et après herbicide restent les mêmes.

La paramétrisation du modèle s'est faite en utilisant plusieurs sources d'information :

- la littérature, notamment pour la survie des graines dans le sol, le mouvement des graines suite au travail du sol, les taux de mortalité liés aux herbicides, la formation d'adultes, de fleurs et de graines en culture de colza et les pertes à la récolte ;

- des modèles existants, essentiellement CERES-COLZA (Gabrielle *et al.* ; 1999) ;

- des enquêtes et essais mis en place spécifiquement pour établir certaines relations comme les taux de levée en sol non travaillé, la production d'adultes, de fleurs et de graines pour les repousses de colza dans les cultures autres que le colza et dans les jachères.

3.2. Structure du module spatial (Colbach *et al.*, 2001b)

Le passage du module temporel uniparcellaire à un modèle spatial pluriparcellaire exige plusieurs adaptations :

- dans une région, des repousses peuvent exister à la fois dans un champ cultivé et dans des bordures. Ces repousses vont produire du pollen et des graines qui participent aux flux sur la région. Il faut donc également modéliser le cycle des repousses et prendre en compte les différences de conduite des bordures (broyages et traitements herbicides, non-travail du sol). Des enquêtes ont été nécessaires pour estimer les paramètres de production d'adultes, de fleurs et de graines dans les bordures ;

- chaque année, le cycle annuel du colza se déroule indépendamment sur chaque champ et bordure de la région simulée. À deux reprises, les cycles des différentes parcelles se connectent pour échanger du pollen et des graines (*Figure 1.5*). Connaissant les qualités du pollen et des graines produits dans chaque parcelle de la région, il s'agit de quantifier la proportion du pollen exportée vers les parcelles environnantes et, inversement, la proportion de pollen et de graine importée dans chaque parcelle. Klein (2000) a établi une fonction de dispersion du pollen d'une plante productrice vers un point récepteur. Une expérimentation a

Tableau 1.5. Caractères variétaux et leurs variabilité

Caractère variétal	Gamme de variabilité (avis d'expert ou référence bibliographique)
Dates de floraison	Pas d'effet variétal fort (cf. Annexe B)
Attractivité des fleurs	Effet variétal connu mais non quantifiable
Production et Emission de pollen	Variation de 0% (mâle stérile) à 100% (colza conventionnel)
Taille du grain de pollen	Pas de variabilité intraspécifique
Viabilité du pollen	Pas de variabilité observée
Taux d'autogamie	Observé entre 0% et 100%
Rendement	Variation de plus ou moins 10%
Résistance à l'égrenage	Variabilité existante mais non quantifiée, effet variétal inconnu
Taille, PMG	Variabilité génétique inférieure à celle due aux conditions de milieu
Survie des graines dans le sol	Effet variétal inconnu, pas de variabilité exploitable
Précocité de levée des plantes	Dépendant principalement des conditions de production de semences et non du génotype (M Renard)
Compétitivité des plantes/hauteur	Forte variabilité génotypique exploitable. Différences entre génotypes de -120 cm à +120 cm

été mise en place (Colbach *et al.*, 2000) pour quantifier la dispersion des graines à partir d'une plante mère. Les équations de dispersion ont ensuite été intégrées quatre fois pour sommer les proportions de pollen déplacées de chaque point de la parcelle i vers chaque point de la parcelle j . Ce chiffre, multiplié par la production moyenne de pollen ou de graines de la parcelle et divisé par la surface de la parcelle réceptrice j , donne la quantité de pollen ou de graine dispersés vers 1 m² moyen de la parcelle j . Les équations sont déterministes et ne prennent pas en compte des événements plus rares et imprévisibles. Un facteur additionnel permet de simuler une quantité variable de pollen et de graines arrivant par hasard dans la parcelle. L'utilisateur peut donner l'ampleur qu'il veut à ce phénomène ;

- cependant, l'importation de pollen n'a d'effet que s'il y a des fleurs ouvertes et susceptibles d'être fécondées dans la parcelle d'importation. À chaque instant, les parcelles susceptibles d'échanger du pollen « efficace » sont identifiées (pour plus de détails, voir Colbach *et al.*, 2001b). Le taux d'autogamie et le nombre de fleurs ouvertes pendant une période donnée permettent de calculer le nombre de fleurs dont la fécondation dépend d'un apport de pollen extérieur. Les dates de floraison dépendent des dates de semis/levée du colza et varient entre parcelles d'une même région. À partir de la date de floraison et de la culture dans laquelle se trouvent les plantes de colza, une cinétique de floraison est définie par parcelle donnant la proportion de fleurs ouvertes chaque jour. Cette proportion de fleurs ouvertes permet de connaître pour chaque parcelle les fleurs fécondables et la quantité de pollen participant potentiellement à la pollinisation des autres fleurs fécondables chaque jour.

La validation du modèle a commencé en même temps que sa conception. Plusieurs études ont été faites sur ce sujet soit dans des champs d'agriculteurs (Couturaud, 1998) soit sur les plates-formes inter-instituts dédiées à l'étude de l'impact et des procédures de gestion en conditions quasi-réelles des plantes GM (Berl, 2000; Champolivier *et al.*, 1997; Champolivier, 1998). Ces études ont servi à valider la partie démographie du modèle et à montrer que le modèle permettait de bien classer les systèmes de culture pour ce qui est de leur niveau d'infestation en repousses. À courte distance (moins de 20 m) les ordres de grandeur de contaminations simulés et observés sont comparables. En revanche, ces études ont également mis en évidence une sous-estimation de la dispersion du pollen à grande distance.

III. Plan de l'étude

Cependant, le modèle GENESYS-COLZA ne prend pour l'instant en compte que peu de paramètres variétaux et l'utilisateur n'en connaît pas toujours les valeurs (autogamie, production relative de graines, émission relative de pollen) pour les différents types de colza. Il convient donc, dans un premier temps, (i) de prendre en compte dans GENESYS-COLZA l'influence d'autres variables d'entrée génotypiques qui sont le taux d'autogamie, la production et l'émission de pollen efficace et la compétitivité selon le génotype, et (ii) de référencer certaines variétés courantes et différents types de colza rendant compte des ressources génétiques disponibles pour une utilisation facilitée du logiciel.

Tableau 1.6. Résumé des expérimentations effectuées dans la thèse et de leurs buts

Objectif	Paramètre étudié	Essais cléistogamie	Essais association variétale	Essai hauteur et autogamie	Essais compétition
Compétition chez le colza	Compétitivité		❖		❖
Variabilité génotypique existante chez le colza	Hauteur		❖	❖	❖
	Taux d'autogamie	❖		❖	
	Production de pollen	❖	❖		❖
	Production de fleurs	❖	❖		❖
	Emission de pollen	❖	❖		
Caractérisation des types variétaux	Cléistogame	❖			
	Demi-nain, nain			❖	❖
	Association variétale		❖		
Evaluation de GENESYS-COLZA	Taux d'hybridation	❖			

Les paramètres qui seront étudiés sont non seulement des caractères dont on soupçonne un effet important sur les flux, mais aussi pour lesquels il existe une forte variabilité génétique déjà valorisée ou susceptible de l'être. Le *tableau 1.5* résume les caractéristiques génotypiques identifiées comme pouvant influencer sur les flux de gènes.

Des simulations sous GENESYS-COLZA ont montré que les flux de gènes semblent être fortement affectés par le taux d'autogamie et la production et émission de pollen. Une variabilité génotypique forte existant pour ces paramètres, ils seront étudiés et le modèle sera modifié pour les prendre en compte indépendamment du transgène en intégrant de nouveaux gènes au modèle pour les prendre en compte. Ils feront également l'objet d'expérimentations pour connaître la variabilité génotypique existante sur ces caractères.

L'effet de la hauteur sur la compétition entre parcelles chez le colza a pu être constatée (Azaïs *et al.*, 1986; Schott *et al.*, 1994) et ce caractère connaît une forte variabilité génotypique. Cependant, la compétitivité des colzas selon le génotype n'est pas encore intégrée au modèle et nous devons tout d'abord étudier la compétition entre plantes pour identifier les paramètres importants puis modéliser cette compétition pour la prendre en compte dans GENESYS-COLZA.

Les dates de floraison n'ont pas été retenues à cause de la forte influence des conditions de milieu et de l'environnement sur ce caractère (*Cf. Annexe B*). La précocité de levée des repousses, l'attractivité des fleurs, la taille et la viabilité des grains de pollen, le nombre, la taille et le poids des graines ne semblent que faiblement variables d'un génotype à l'autre ou dépendent plus des conditions environnementales que du génotype. C'est pourquoi ils ne seront pas étudiés ici. Enfin, il existe une variabilité génotypique chez le colza pour la résistance à l'égrenage et la survie des graines dans le sol, mais l'effet du génotype sur ces caractères n'est pas connu pour l'instant et le temps imparti pour la thèse n'aurait pas suffi pour étudier ces caractères.

Lors de cette thèse, diverses expérimentations au champ seront nécessaires et seront réalisées en fonction de différents objectifs :

- Modélisation de la compétition ;
- Analyse des gamme de paramètres génotypiques ;
- Caractérisation de types variétaux sur la valeur de ces paramètres ;
- Evaluation de GENESYS-COLZA.

Certains essais seront utilisés pour plusieurs de ces objectifs. Il nous a paru utile d'en donner ici une vue d'ensemble afin de faciliter la lecture du document (*Tableau 1.6*).

Les essais « cléistogamie » seront constitués de deux carrés de colza l'un cléistogame, l'autre non cléistogame et marqué, jointifs. Sur ces essais seront étudiés la production et l'émission de pollen, la production de fleurs et l'autogamie. Ils seront également utilisé pour participer à

la validation de GENESYS-COLZA.

Les essais « associations variétales » seront composés de deux types de parcelles, l'un semé avec une association variétale (80% de mâles stériles et 20% de mâles fertiles) et l'autre semé avec des mâles fertiles. Ces essais serviront à étudier la production et l'émission de pollen, la production de fleurs, la hauteur et son effet sur la compétitivité.

L'essai « hauteur et autogamie » consiste en des pieds de colza de différentes hauteurs semés dans un colza marqué et sera utilisé pour étudier la variabilité du taux d'autogamie sous l'influence de la hauteur.

Les essais « compétition » seront constitués de parcelles comprenant un ou deux génotypes de colza de différentes hauteurs. Ils seront utilisés pour étudier la compétitivité et son effet sur la production de pollen, de fleurs et de graines sous l'effet de la hauteur.

Dans un second temps, quand le modèle sera adapté et prendra en compte les effets variétaux, il pourra servir à évaluer l'effet de certaines caractéristiques variétales sur les flux de gènes et à déterminer les systèmes de culture où les différences entre génotypes sont plus fortes. Cette partie consistera en des analyses de sensibilité et des simulations, utilisées pour quantifier l'influence des caractères variétaux sur les flux de gènes.

Les analyses de sensibilité seront réalisées selon deux approches complémentaires :

- en étudiant l'effet des paramètres variétaux sur les flux de gènes en simulant un effet de voisinage sur deux parcelles contiguës de tailles égales, séparées par une bordure ;
- en simulant une situation de reconversion d'un type variétal de colza à un autre sur une parcelle isolée.

On cherchera ensuite à répondre à des questions précises portant sur le risque ou l'intérêt de certaines combinaisons de caractères dans une situation culturale donnée en les comparant à des témoins spécifiques à chaque question. Ces simulations serviront à la fois à vérifier l'efficacité des combinaisons de caractéristiques variétales dans des situations à risques et à étudier l'impact de nouvelles variétés. En effet, ce travail s'inscrit également dans une démarche d'élaboration d'une méthodologie d'étude d'impact des innovations variétales.

Le plan de la suite du mémoire découle de ces considérations. Le deuxième chapitre de ce mémoire se rapportera donc à l'étude expérimentale des caractères variétaux : mesure des gammes de variation existantes pour ces caractères d'autogamie et de production/émission de pollen et de l'effet du génotype sur la compétition intervariétale.

Dans le troisième chapitre, on proposera un formalisme pour l'introduction de nouveaux gènes dans GENESYS-COLZA afin de prendre en compte les effets génotypiques indépendamment du transgène. Une fois le modèle amélioré et, au moins partiellement, validé, il sera utilisé pour vérifier l'effet des différents paramètres variétaux sur les flux de gènes. Finalement, le modèle sera utilisé afin d'identifier les risques et intérêts de certains types variétaux dans des systèmes de culture précis.

Tableau 2.1. Liste des variétés utilisées dans les essais et caractéristiques

Nom de la variété	Essais concernés	Caractéristiques de la variété
Cléistogame A	Cléistogamie 1999 et 2001	Fleurs fermées CLG B001 F9 sensible aux oxynils et glufosinate
Cléistogame B	Cléistogamie 2000	Fleurs fermées CLG B001 F10 sensible aux oxynils et glufosinate
Cléistogame oxy	Cléistogamie 2001	Fleurs fermées Haploïde doublé résistant aux oxynils (herbicides)
Falcon	Cléistogamie 1999 à 2001 Association variétale 2000	Lignée à fleurs ouvertes sensible aux oxynils et glufosinate
Falcon pat	Cléistogamie 1999 à 2001 Hauteur et autogamie 2001	Lignée résistante au glufosinate (herbicide)
Falcon Fu 58	Cléistogamie 2000 et 2001	Mâle stérile à fleurs ouvertes (SMC Ogu-INRA)
Bristol	Hauteur et autogamie 2001	Lignée (hauteur moyenne : 152cm)
Canary	Hauteur et autogamie 2001	Lignée (hauteur moyenne : 154cm)
Columbus	Hauteur et autogamie 2001	Lignée (hauteur moyenne : 159cm)
Pollen	Hauteur et autogamie 2001	Lignée (hauteur moyenne : 149cm)
Zeruca	Hauteur et autogamie 2001	Lignée à haute teneur en acide érucique (hauteur moyenne : 155cm)
B022	Association variétale 2001	Lignée mâle fertile
Standy	Association variétale 2001	Association variétale (80% hybride mâle stérile et 20% B022)
Synergy	Association variétale 2000	Association variétale (80% hybride mâle stérile et 20% Falcon fertile)
Capitol	Compétition 2001 Hauteur et autogamie 2001	Lignée haute (hauteur moyenne : 172 cm)
Extra	Compétition 2001 Hauteur et autogamie 2001	Hybride restauré haut (hauteur moyenne : 180 cm)
Goéland	Compétition 2000 et 2001 Hauteur et autogamie 2001	Lignée (hauteur moyenne : 152cm)
HRG 563	Compétition 2001 Hauteur et autogamie 2001	Lignée naine (hauteur moyenne : 85cm)
Lutin	Compétition 2000 et 2001 Hauteur et autogamie 2001	Hybride demi nain (hauteur moyenne : 115cm)
F2 de Lutin	Compétition 2001	Descendance en autofécondation de Lutin

Chapitre 2. Etude de la variabilité génétique de certains caractères variétaux

Les cultivars de colza utilisés pour les expérimentations sont résumés dans le *tableau 2.1*.

I. Taux d'autogamie

1. Objectif et principe des expérimentations

Le taux d'autogamie est un des facteurs sur lesquels il est possible de jouer pour limiter les contaminations des récoltes. Le taux d'autogamie minimum est atteint pour les colzas mâles stériles (0% d'autogamie), mais le maximum n'est pas connu. Le développement d'un nouveau type de colza à l'INRA de Rennes, dit cléistogame, dont les fleurs restent fermées tout au long de la floraison, laisse espérer un gain d'autogamie. Les expérimentations conduites de 1999 à 2001 portant sur plusieurs lignées cléistogames ont pour but d'estimer ce gain d'autogamie et sa stabilité.

Les marqueurs utilisés lors de ces expérimentations sont des transgènes de résistance à des herbicides. En effet, l'utilisation de la résistance à un herbicide total comme marqueur permet d'appliquer un test simple sur un grand nombre de plantes au champ et donc d'obtenir une meilleure précision des résultats. Conformément aux directives de la CGB (Commission du Génie Biomoléculaire), les essais étaient situés à 400 m de toute culture de crucifère.

Certains chercheurs ont décelé un effet de l'environnement sur le taux d'autogamie du colza (Becker *et al.*, 1991). De plus, chez le blé, il existe un effet du rayonnement reçu par la plante sur le taux d'autogamie (Demotes-Mainard *et al.*, 1995). C'est pourquoi un essai complémentaire a été mis en place en 2001 afin de mesurer l'effet de la hauteur des repousses au sein d'un couvert de colza résistant à un herbicide sur leur taux d'autogamie : notre hypothèse de départ est que les repousses basses, ombrées par le couvert, pourraient avoir un taux d'autogamie plus faible.

2. Protocole expérimental détaillé

2.1. Cléistogamie⁸

2.1.1. Matériel végétal

Différents colzas résistants ou sensibles aux herbicides, cléistogames ou non, ont été utilisés dans ces expérimentations.

⁸ Les résultats de ces essais ont été repris dans un article ayant pour titre « Autogamy rate of conventional and cleistogamous rapeseed (*Brassica napus* L.) »

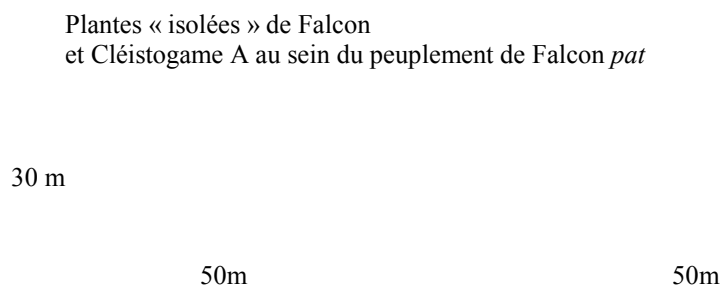


Figure 2.1. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai cléistogamie 1999

Figure 2.2. Roses des vents établies sur les essais cléistogamie en 1999, 2000 et 2001.
 Nombre de jours de vent dans chaque direction pendant la floraison des colzas.

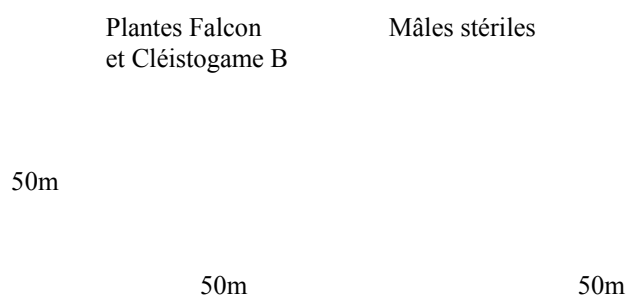


Figure 2.3. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai cléistogamie 2000

Falcon *pat* est une lignée isogénique à Falcon, colza d'hiver, possédant un gène *pat* (codant pour une Phosphinotricine-Acétyle-Transférase) qui confère la résistance au glufosinate-ammonium (herbicide). Falcon *pat* est homozygote pour le gène de résistance.

Falcon Fu58 est une lignée de colza Falcon où la stérilité mâle cytoplasmique Ogu-INRA (Denis *et al.*, 1993) a été introduite par croisement.

Le caractère de cléistogamie a été introduit par croisement dans une lignée de colza d'hiver (B001, Samouraï) (Pierre *et al.*, 1999b). La cléistogamie, conférée par un gène majeur à effet additif, a été obtenue par mutagenèse induite au MSE (Méthane Sulfonate d'Ethyle). Cette caractéristique s'exprime selon le fond génétique et s'est souvent révélée instable.

Les lignées de colza cléistogames utilisées sont différentes chaque année. En 1998-99, le colza cléistogame est une lignée B001 issue de sélection généalogique après 9 générations d'autofécondation (F9), le Cléistogame A. En 1999-2000, une F10 d'une lignée sœur a été semée : notée Cléistogame B. En 2000-01, la lignée Cléistogame *oxy* (haploïde doublé résistant à l'herbicide oxynil obtenu par culture de microspores appliquées à un croisement produit entre une lignée cléistogame et un colza résistant aux oxynils, PR316), ainsi que le Cléistogame A ont été utilisés. Cléistogame *oxy* est homozygote pour le gène de résistance.

2.1.2. Schéma expérimental

1998-99

Falcon *pat* et le Cléistogame A ont été semés sur des parcelles de 50 m*30 m (33 bandes de 1.5 m*50 m). Chaque bande est composée de 5 lignes de semis. L'espace entre deux lignes de semis s'appelle l'interligne et est ici de 25 cm. L'espace entre la dernière ligne de la bande « n » et la première ligne de la bande « n+1 » s'appelle l'interbande et est sur cet essai de 50 cm. C'est dans cet espace que sont semées les plantes testées individuellement (*Figure 2.1*).

60 plantes de Cléistogame A et 60 de Falcon, toutes sensibles au glufosinate, ont été repiquées entre les bandes de Falcon *pat* à raison de 9 plantes par interbande en alternant un interbande semé en Falcon et un interbande semé en Cléistogame A. Ces plantes ont été récoltées et battues individuellement.

Les roses des vents (*Figure 2.2*) résument le nombre de jours de vent dans chaque direction sur la période de floraison.

1999-2000

Les parcelles de Falcon *pat* et de Cléistogame B font toutes les deux 50*50 m². 50 plantes de Falcon et 50 de Cléistogame B ont été semées entre les bandes de Falcon *pat* à raison de 10 plantes par interbande selon le même principe qu'en 1998-99 (*Figure 2.3*). 85 plantes mâles stériles de Falcon Fu 58 ont été repiquées au printemps entre et au milieu des bandes centrales de la parcelle à des distances du centre de l'essai de 0 m, 0.75 m, 1.5 m, 2.25 m, 3 m, 4.5 m, 6 m et 9 m, soit 5 plantes au centre de l'essai, 40 dans le Falcon *pat* et 40 dans le Cléistogame B à raison de 5 plantes par interbande ou par milieu de bande. Toutes ces

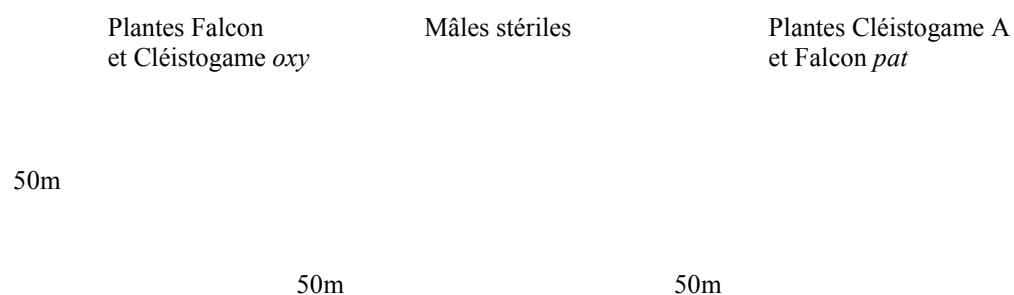


Figure 2.4. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai cléistogamie 2001

Figure 2.5 Schéma de fleurs de cléistogame : ouverte, semi-ouverte ou fermée

plantes ont été récoltées et battues séparément.

2000-2001

Les parcelles de Falcon *pat* et de Cléistogame *oxy* font toutes deux 50*50 m². 50 plantes de Falcon et 50 de Cléistogame *oxy* ont été semées entre les bandes de Falcon *pat* comme l'année précédente (*Figure 2.4*). De même, 50 plantes de Cléistogame A et 50 de Falcon *pat* ont été semées entre les bandes de Cléistogame *oxy*. 90 plantes mâles stériles de Falcon Fu 58 ont été semées entre les bandes centrales de la parcelle à des distances du centre de l'essai de 0 m, 1.5 m, 3 m, 4.5 m et 6 m, soit 40 plantes dans le Falcon *pat* et 40 dans le Cléistogame *oxy* à raison de 10 plantes par interbande et 10 au milieu de l'essai. Toutes ces plantes ont été récoltées et battues séparément.

Chaque années, le nombre de fleurs par m² ayant des anthères déhiscentes a été mesurée pendant la floraison sur 4 échantillons de 0.2 m² sur chacune des 33 bandes de Falcon *pat* et des 33 bandes de cléistogame. Pour le colza cléistogame, les fleurs étant fermées, il a été nécessaire d'ouvrir des fleurs afin d'identifier les différences extérieures entre des fleurs possédant des anthères déhiscentes et des fleurs dont les anthères ne sont pas encore déhiscentes. La densité de fleurs a été mesurée tous les deux jours en 1999 et tous les 4 jours les autres années. Le degré d'ouverture des fleurs cléistogames a été mesuré sur les mêmes échantillons en évaluant les proportions de fleurs ouvertes, semi-ouvertes et fermées (*Figure 2.5*).

2.1.3. Mesure du taux d'autogamie

Trois méthodes ont déjà été utilisées pour déterminer le taux d'autogamie du colza. La première méthode consiste à mesurer le taux d'hybridation sur des plantes, homozygotes pour l'allèle récessif d'un marqueur, « isolées » dans un couvert de colza, homozygote pour l'allèle dominant de ce marqueur. Le marqueur peut être la couleur des pétales (Olsson, 1952; Persson, 1956, cité par Lewis *et al.*, 1991). Ces auteurs ont trouvé un taux d'autogamie entre 57 et 67%, mais il a été montré par Faulkner (1976), cité par Lewis *et al.* (1991), que la couleur des pétales induisait un changement de comportement chez les abeilles. D'autres études ont utilisé la forme des feuilles ou la couleur des siliques comme marqueur (Sylvén, 1920, cité par Rives, 1954). Certains ont utilisé la teneur en acide érucique des graines (Rudloff *et al.*, 1984; Rakow *et al.*, 1987; Banks *et al.*, 1988, cité par Lewis *et al.*, 1991; Lewis *et al.*, 1991).

La deuxième méthode, utilisée par Becker *et al.* (1991, 1992), est une mesure de taux d'hybridation plante à plante. Le marqueur utilisé est le profil iso-enzymatique. Le profil de graines est comparé au profil de la plante pour les plantes dont le profil iso-enzymatique est rare. Les plantes ne sont pas « isolées » dans un couvert différent, mais un ou deux cultivars sont semés en mélange sur une parcelle à densité de culture. Cette méthode ne peut être appliquée qu'à un faible nombre de plante (le temps nécessaire pour une analyse est long). Cette méthode surestime aussi légèrement le taux d'autogamie puisqu'il est basé sur le taux d'hybridation phénotypique et non génotypique. En effet, si deux plantes voisines ont le même profil rare, les hybridations entre ces deux plantes seront considérées comme de

l'autofécondation.

Enfin, une troisième méthode a été utilisée par Lavigne *et al.* (1998) en utilisant des plantes mâles stériles pour déterminer le taux d'autogamie de plantes voisines. Cette méthode est utilisée ici pour estimer le taux d'autogamie de plantes non « isolées » dans un couvert différent et applicable à grande échelle.

Méthode des plantes isolées

Cette technique est celle qui est utilisée le plus couramment pour mesurer le taux d'autogamie du colza, mais aussi d'autres espèces comme les tomates, les aubergines,...

Nous faisons l'hypothèse que le seul allopollen reçu par les plantes semées ou repiquées dans les interbandes à chaque extrémité de l'essai provient du couvert environnant, c'est-à-dire du pollen *pat* pour les plantes en interbandes dans la partie éloignée du centre dans Falcon *pat*, et du pollen *oxy* pour les plantes en interbande dans la partie éloignée du centre dans le Cléistogame *oxy*. On néglige donc le pollen provenant de l'autre bout de la parcelle.

Les graines des plantes en interbande dans le Falcon *pat* (respectivement dans le cléistogame *oxy* en 2001) ont été semées et cette descendance a été testée pour la résistance au glufosinate (respectivement aux oxynils). En effet, la présence d'un gène de résistance suffit à conférer la résistance. Les plantes en interbande étant sensibles à l'herbicide utilisé pour le test, seules les graines issues d'allofécondation seront résistantes à cet herbicide. Le nombre de plantules levées a été compté pour chaque plante mère, puis deux traitements du même herbicide ont été appliqués⁹. Le nombre de plantules ayant survécu à ces deux traitements a ensuite été estimé. Le nombre de plantules levées et le nombre de plantules ayant résisté à l'herbicide ont ensuite été comparés pour chaque plante mère.

Le taux d'allogamie d'une plante est, selon cette méthode, égal au taux de graines résistantes dans la descendance de la plante.

$$(2.1) A_i = 1 - R_i$$

où A_i est le taux d'autogamie de la plante i et R_i le taux de résistance dans la descendance de la plante i .

Les taux d'autogamie de chaque variété chaque année ont été mesurés pour la variété et les intervalles de confiance ont été estimés pour chaque variété.

Soit π la proportion de graines résistantes réelle pour une variété et soit p l'estimation faite de π sur l'échantillon de n graines de la même variété.

La variance de l'estimation est : $S^2 = p(1-p)/n$ et l'estimation de π est faite à $u_{1-a/2} * S$ près avec une probabilité de 95% ($u_{1-a/2} = 1.96$ pour $a=0.05$).

⁹un seul traitement herbicide peut ne pas être suffisant puisque les plantules levées les plus développées peuvent protéger les plus petites de l'herbicide

Méthode des plantes mâles stériles

Les plantes mâles stériles ont déjà été utilisées comme piège à pollen dans diverses études de dispersion de pollen chez le colza (Mesquida *et al.*, 1982; Timmons *et al.*, 1995; Lavigne *et al.*, 1996, 1998).

L'hypothèse est que la composition génétique du nuage pollinique qui féconde les mâles stériles est la même que celle du nuage pollinique qui féconde les fleurs allogames des plantes de colza voisines du mâle stérile. Si une part de l'allopollen fécondant les mâles stériles et les colzas voisins est « marquée », le mâle stérile permet de calculer le taux de marquage du pollen. La connaissance du taux de marquage des plantes situées juste à côté des mâles stériles permet de calculer leur taux d'allofécondation. L'avantage de cette méthode réside dans le fait que les plantes étudiées sont placées dans un peuplement de même génotype en conditions normales de culture alors que les plantes « isolées » de la première méthode sont placées dans une situation qui ressemble plutôt à une situation de repousses.

Nous avons donc étudié des couples de plantes : une plante mâle stérile et une (ou deux) plante(s) testée(s) située(s) immédiatement à côté du mâle stérile. En 2000 et 2001, une plante de Cléistogame *oxy* (respectivement de Falcon *pat*), appelée plante repère, a été marquée à côté de chaque pied mâle stérile présent dans le Cléistogame B ou *oxy* (respectivement dans le Falcon *pat*). Seules les fleurs ouvertes pendant la période de floraison du mâle stérile associé ont été conservées sur cette plante repère. Les taux de résistance au glufosinate (respectivement à l'oxynil) du mâle stérile et de sa plante fertile associée ont été comparés.

La descendance des plantes mâles stériles a été testée pour la résistance à un herbicide de la même façon que pour la méthode des plantes « isolées ». En 2000 (respectivement en 2001), les graines des plantes mâles stériles en interbande dans le Cléistogame B (respectivement Cléistogame *oxy*) ont été testées pour la résistance au glufosinate. En 2001, les graines des plantes mâles stériles en interbande dans le Falcon *pat* ont été testées pour la résistance à l'oxynil.

De même, le taux de résistants au glufosinate a été mesuré pour les plantes Cléistogame B et Cléistogame *oxy* à différentes distances de la parcelle Falcon *pat* et le taux de résistants à l'oxynil a été testé pour les plantes de Falcon *pat* à différentes distances du Cléistogame *oxy* en 2001.

La méthode de calcul du taux d'autogamie est présentée sur l'exemple du Cléistogame B en 2000 :

Soit $R_{Clg}(D)$ le taux de résistants dans la descendance de plantes de Cléistogame B à la distance D du Falcon *pat*. Soit $R_{Ste}(D)$ le taux de résistants dans la descendance des mâles stériles à la distance D . Soit A le taux d'autogamie du Cléistogame B à cette distance D .

Les mâles stériles sont allogames à 100% et $R_{Ste}(D)$ reflète la proportion de pollen *pat* à la distance D du Falcon *pat*. Or, le taux de résistants dans le Cléistogame B est le produit

Plantes « isolées »
(50 pieds par ligne, 10 variétés)

Figure 2.6. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai autogamie et hauteur 2001

du taux d'allogamie du Cléistogame B et de la proportion de pollen résistant à la distance D :

$$(2.2) R_{Clg}(D) = (1 - A) * R_{Ste}(D)$$

et :

$$(2.2) A = 1 - \frac{R_{Clg}(D)}{R_{Ste}(D)}$$

Les taux d'autogamie de chaque variété chaque année ont été mesurés pour la variété à une distance donnée du centre de l'essai. Les intervalles de confiance sont également estimés pour une variété à une distance donnée.

Soit X la proportion de graines résistantes réelles chez le mâle fertile d'une variété donnée et Y la proportion de graines résistantes réelles chez le mâle stérile, soit A l'estimation faite de X sur l'échantillon de n_x graines de la variété fertile étudiée et B l'estimation faite de Y sur l'échantillon de n_y graines, soit C le taux d'allogamie de la variété fertile et C' son estimation

$$C = X/Y \text{ et } C' = A/B$$

Les variances des estimations sont :

$$S_x^2 = A*(1-A)/n_x$$

$$S_y^2 = B*(1-B)/n_y$$

$$S_C^2 = S_x^2 * 1/B^2 + S_y^2 * A^2/B^4 - 2S_x S_y A/B^3$$

L'estimation de C est faite à $u_{1-a/2} * S_C$ près avec une probabilité de 95% ($u_{1-a/2} = 1.96$ pour $a=0.05$ car $n>1000$).

2.2. Hauteur et autogamie

Le taux d'autogamie de 10 variétés, variant pour la hauteur ou couramment commercialisées, a été mesuré en 2001 dans un couvert de Falcon *pat* (colza résistant à l'herbicide glufosinate). Il s'agit des variétés Bristol, Zeruca (colza fort érucique), Canary, Capitol, Goéland, Pollen, Columbus, Lutin (hybride demi-nain), Extra (hybride haut) et HRG 563 (nain). Ces variétés ont été choisies soit car leur hauteur permettait de tester la gamme existante chez le colza, soit car elles étaient parmi celles qui étaient le plus cultivées.

50 plantes de chaque variété ont été semées dans une parcelle de Falcon *pat* de 50*50 m² (33 bandes de 1.5*50 m²) entre les 11 dernières bandes de la parcelle, réparties régulièrement et aléatoirement, à raison de 50 par interbande (*Figure 2.6*). Les distances entre plantes étaient suffisantes pour que les dispersions de pollen entre plantes sensibles soient négligeables (1 m entre plantes sur une même ligne et 1.5 m de Falcon *pat* entre deux lignes).

Ces plantes ont ensuite été suivies pendant la floraison. Les dates de début et de fin de floraison ainsi que la hauteur à la récolte et le rendement de chaque plante ont été notés.

Tableau 2.2. Phénologie du cléistogame (Clg) comparé au Falcon pat (Falc pat)

	Précocité (jours depuis le 1/01)		Floribondité (fleurs/m ² max)		Fin de la floraison (jours depuis le 1/01)		Production de pollen (mg/fleur)	
	Clg	Falc pat	Clg	Falc pat	Clg	Falc pat	Clg	Falc pat
1999	96	88	831	1170	137	137	2.59	2.58
2000	95	88	1535	1687	147	147	2.44	2.47
2001*	96	88	703	887	150	148	2.39	2.73

* En 2001, du Cléistogame oxy a été semé.

Les graines ont été récoltées plante à plante et resemées en identifiant la descendance de chaque plante. Le nombre de plantules levées dans la descendance et le nombre de plantules ayant survécu à deux traitements herbicide au glufosinate (pour lequel le gène *pat* confère la résistance) ont été estimés pour chaque plante. Le ratio plantules sensibles - plantules levées totales donne le taux d'autogamie des plantes (le principe de calcul est le même que celui utilisé pour les plantes « isolées » des essais cléistogamie). Le taux de germination au sein d'une variété est supposé être le même que les graines soient résistantes ou sensibles.

Les taux d'autogamie étudiés par la suite sont estimés par variété (et par distance si nécessaire) et non par plante. Il s'agit d'un ratio plantules sensibles de la variété – plantules levées de la variété.

3. Résultats

3.1. Cléistogamie

3.1.1. Résultats

Phénologie

Sur les essais cléistogamie, on ne s'attend pas à un effet fort du vent sur la dispersion du pollen puisque sur les 3 années, celui-ci a été soit perpendiculaire à la parcelle, soit présent autant dans un sens que dans l'autre.

Falcon *pat*, lignée demi-précoce, a commencé à fleurir avant les colzas cléistogames (Tableau 2.2). Mais, bien que le colza cléistogame et le Falcon *pat* n'aient pas fleuri simultanément en 1999 et en 2000, la fin de floraison a été simultanée et le Falcon *pat* avait une faible densité de fleurs avant la floraison du cléistogame (moins de 100 fleurs/m²). En 2001, la différence était telle que le Falcon *pat* a été rabattu pour allonger sa floraison et seules les fleurs ayant fleuri simultanément ont été étudiées (on a vérifié que la production de pollen par fleur du Falcon *pat* était la même avant et après rabattage), ce qui nous a permis d'étudier la floraison dans sa globalité.

Les plantes mâles stériles n'ont pas fleuri en même temps que les colzas cléistogames ou le Falcon *pat* en 2001. En 2000, la floraison des colzas mâles stériles a eu lieu entre le 16 Avril et le 20 Mai et était comprise dans la période de floraison des deux génotypes mâle fertile. En revanche, en 2001, la floraison des mâles stériles a commencé près de 3 semaines après le début de la floraison du colza cléistogame.

Le colza cléistogame produit autant de pollen par fleur et moins de fleurs par m² (Tableau 2.2). Le colza cléistogame produit donc moins de pollen par m² que le Falcon *pat* et en émet encore moins. Le cléistogame est aussi plus court que le Falcon *pat* (aucune mesure précise n'a été effectuée sur le peuplement Cléistogame *oxy*). Une vérification de la stérilité des plantes mâles stériles a été effectuée en cours de floraison. Aucune de ces plantes n'a produit de pollen.

Figure 2.7. Proportions de fleurs ouvertes et semi-ouvertes dans le cléistogame.
En 2001, du Cléistogame oxy a été semé.

Figure 2.8. Densité de fleurs dans le cléistogame.
En 2001, du Cléistogame oxy a été semé.

Tableau 2.3. Taux d'autogamie par variété mesuré sur les plantes isolées
avec leur intervalle de confiance à 5% (IC)

	Dans un couvert de Falcon <i>pat</i>				Dans un couvert de Cléistogame oxy			
	Falcon	(IC 5%)	Cléistogame	(IC 5%)	Falcon	(IC 5%)	Cléistogame	(IC 5%)
1999	0.64	5.4E-03	0.62	9.0E-03	-		-	
2000	0.74	9.4E-03	0.72	2.8E-02	-		-	
2001	0.49	9.7E-03	0.57 ^a	1.3E-02	0.83 ^b	3.3E-03	0.83	9.1E-03

^a Les plantes dans le Falcon *pat* étaient des Cléistogames oxy en 2001

^b Les plantes dans le Cléistogame oxy étaient des Falcon *pat* en 2001

Le caractère de cléistogamie des lignées testées n'était pas stable dans toutes les conditions. Les fleurs se sont ouvertes pendant la floraison à différents moments (*Figure 2.7*). L'ouverture des fleurs ne semble pas liée aux conditions climatiques comme la pluviométrie ou la température des jours précédents (*Annexe E*). Le comportement a été différent selon les années et les génotypes : en 2000 (Cléistogame B), les fleurs sont restées presque toutes fermées. Elles étaient plus ouvertes en 1999 (Cléistogame A) et encore plus en 2001 (Cléistogame *oxy*). Le nombre de fleurs par m² à chaque observation est présenté sur la *figure 2.8*.

Taux d'autogamie (schémas des essais p. 32 et 33)

Le *tableau 2.3* donne les mesures de taux d'autogamie par variété pour les différents colzas sur les 3 ans par la méthode des plantes isolées. La plupart des plantes isolées de cléistogame n'ont pas survécu jusqu'à la récolte ou n'ont pas produit beaucoup de graines (moins de 100 graines par plante sauf pour 3 plantes en 2000). Il y a une forte variabilité du taux d'autogamie entre les plantes (de 42.5% à 95% d'autogamie). Le taux d'autogamie moyen calculé sur la descendance de toutes les plantes cléistogames n'est pas significativement différent de celui du colza conventionnel (74% pour le Falcon *pat* en 2000 sur la même expérimentation).

Les *tableaux 2.4, 2.5 et 2.6* donnent les taux moyens d'autogamie pour chaque génotype et chaque distance au centre de l'essai, mesurés par la méthode des mâles stériles. Le taux d'autogamie moyen n'est pas significativement différent entre les différentes distances pour un génotype donné ou entre les génotypes. Le taux moyen d'autogamie du Cléistogame B (moyenne sur toutes les distances) était de 94%±0.5% en 2000. Le taux moyen d'autogamie du Cléistogame *oxy* (moyenne sur toutes les distances) était 94%±0.3% en 2001. Et le taux moyen d'autogamie du Falcon *pat* (moyenne sur toutes les distances) en 2001 était de 92%±0.1%. Les taux d'autogamie estimés à chaque distance ont un faible intervalle de confiance. Sur 17 mesures de taux d'autogamie, 11 intervalles de confiance avaient des extrêmes éloignés de moins de 1% du taux moyen et 16 avaient des extrêmes éloignés de moins de 3% du taux moyen. Le taux d'autogamie moyen mesuré est de 95%.

Tableau 2.4. Taux d'autogamie du Cléistogame B basé sur les résultats mâles stériles en 2000

Distance (m)	Nombre de graines testées		Taux de résistants dans la descendance		Taux d'autogamie du cléistogame	(IC 5%)
	Mâle stérile	Cléistogame	Mâle stérile	Cléistogame		
0.75	551	687	0.42	0.02	0.96	1.6E-02
2.25	97	1172	0.24	0.03	0.93	2.6E-03
3	501	667	0.40	0.04	0.94	2.9E-02
4.5	374	675	0.64	0.02	0.94	1.5E-02
6	1118	808	0.35	0.02	0.97	2.9E-02
7.5	430	1568	0.33	0.00	0.99	5.9E-03
9	830	1599	0.28	0.01	0.98	1.0E-02
Total	3901	7175				
Moyenne			0.38	0.02	0.96	

Tableau 2.5. Taux d'autogamie du Cléistogame oxy basé sur les résultats mâles stériles en 2001

Distance (m)	Nombre de graines testées		Taux de résistants dans la descendance		Taux d'autogamie du cléistogame oxy	(IC 5%)
	Mâle stérile	Cléistogame oxy	Mâle stérile	Cléistogame oxy		
0	2130	6004	0.90	0.13	0.86	8.0E-02
1.5	5332	8375	0.69	0.05	0.93	8.6E-03
3	5821	7985	0.53	0.02	0.96	5.3E-03
4.5	4388	7503	0.51	0.01	0.98	3.7E-03
6	8520	9206	0.54	0.01	0.98	4.3E-03
Total	26190	39073				
Moyenne			0.64	0.04	0.94	

Tableau 2.6. Taux d'autogamie du Falcon pat basé sur les résultats mâles stériles en 2001

Distance (m)	Nombre de graines testées		Taux de résistants dans la descendance		Taux d'autogamie du Falcon pat	(IC 5%)
	Mâle stérile	Falcon pat	Mâle stérile	Falcon pat		
0	2231	6543	0.35	0.04	0.89	5.4E-03
1.5	2671	7758	0.15	0.01	0.96	2.0E-03
3	773	5594	0.39	0.004	0.99	2.3E-03
4.5	1301	6759	0.14	0.003	0.98	1.4E-03
6	2030	5850	0.17	0.001	0.99	1.0E-03
Total	9006	32503				
Moyenne			0.24	0.01	0.94	

3.1.2. Discussion

Les résultats de taux d'autogamie obtenus avec chaque méthode sont cohérents avec la bibliographie s'ils sont considérés séparément. Cependant, si l'on compare les résultats obtenus par les deux méthodes pour un même génotype, les résultats sont significativement différents.

Les résultats obtenus sur les plantes « isolées » donnent des taux d'autogamie entre 54% et 83% avec une moyenne de 68% sur les 3 ans. Olsson (1960) avait trouvé un taux d'autogamie moyen de 60%, Lewis *et al.* (1991) un taux de 50% et Becker *et al.* (1991) un taux de 66%.

Les deux génotypes présents dans le couvert de Cléistogame *oxy* ont un taux d'autogamie plus élevé (83% au lieu de 63% dans le couvert Falcon *pat* en moyenne sur les 3 années d'expérimentation). Ceci peut être dû au fait que ces plantes ont moins souffert de l'ombrage dans le Cléistogame *oxy* (plus tardif et plus bas) que dans le Falcon *pat*. Dans le Falcon *pat*, aucune plante « isolée » ne dépassait du couvert. En revanche, dans le Cléistogame *oxy*, les plantes « isolées » étaient plus développées et on pouvait les repérer de l'extérieur du champ. Or, chez le blé, on sait que l'ombrage peut avoir un effet sur la production de pollen (Demotes-Mainard *et al.*, 1995) et donc sur le taux d'autogamie des plantes si le pollen vient à manquer pour assurer une autofécondation efficace. Un autre phénomène possible est que les plantes « isolées » semées dans le couvert de Cléistogame *oxy* en 2001 aient reçu du pollen du couvert Falcon *pat*. En effet, le Falcon *pat* a produit plus de pollen/m² que le Cléistogame *oxy*. Dans ce cas, l'hypothèse de base selon laquelle les plantes « isolées » ne reçoivent du pollen que du couvert environnant s'avérerait fausse et le taux d'hybridation serait inférieur au taux d'allogamie. Des mesures de taux de fécondation du Cléistogame *oxy* par du pollen *pat* à l'extrémité de l'essai (là où étaient semés les plantes « isolées ») montrent un taux moyen de contamination de 0.8% à cette distance. Si l'on fait l'hypothèse que ces plantes de Cléistogame *oxy* avaient un taux d'autogamie de 94%, on peut déduire de ces résultats que le pollen *pat* représentait 13% du pollen libre présent au-dessus des plantes « isolées ». En appliquant la même méthode que pour l'estimation des taux d'autogamie par les mâles stériles, le taux d'autogamie corrigé (prenant en compte la fécondation des plantes « isolées » par du pollen *pat*) de ces plantes « isolées » n'est plus de 83%, mais de 81% environ, ce qui reste toujours significativement supérieur aux valeurs observées dans le couvert de Falcon *pat*. Les risques de pollinisation des plantes « isolées » par du pollen étranger au couvert sont moins grands pour les plantes « isolées » dans du Falcon *pat* puisque ces plantes ne dépassaient pas du couvert. Le pollen étranger va donc être intercepté par le couvert Falcon *pat* avant d'aller féconder les « plantes isolées ».

Les taux d'autogamie mesurés avec la méthode des mâles stériles en 2000 et 2001 donnent des résultats avec une bonne répétabilité. L'intervalle de confiance à 5% pour le taux d'autogamie par variété est restreint pour chaque distance considérée. Le taux moyen d'autogamie (moyen sur toutes les distances) mesuré sur le Falcon *pat* (colza conventionnel) par la méthode des mâles stériles était de 92% en 2001, ce qui est supérieur aux résultats trouvés par la méthode des plantes « isolées » sur les expérimentations « cléistogamie » et

dans la littérature. Olsson (1960) avait trouvé un taux d'autogamie moyen de 64% et Lewis *et al.* (1991) avaient trouvé un taux moyen de 50%. Becker *et al.* (1991), par la méthode des profils isoenzymatiques, ont trouvé un taux moyen d'autogamie de 66%. Lavigne *et al.* (1998) avec la méthode mâle stérile ont observé un taux d'autogamie de 59%. Mais les résultats observés en 2000 et 2001 sur les colzas cléistogames et conventionnels sont cohérents avec les gammes de variation observées avec les deux premières méthodes : Olsson (1960) a principalement observé des taux d'autogamie entre 30 et 95% pour un cultivar et entre 40% et 80% pour un autre, Sylven (1920, cité par Olsson, 1960) a observé des taux d'autogamie entre 70% et 95% ; Becker *et al.* (1991) a, quant à lui, trouvé des taux d'autogamie entre 29% et 97.7% sur 5 lieux et entre 86.7% et 97.7% en un lieu. En revanche, les mesures de taux d'autogamie avec la méthode des mâles stériles en 2000 et 2001 ont été effectuées sur un plus grand nombre de plantes. Lewis *et al.* (1991) ont testé 243 plantes et 4860 graines au total la première année et 33 plantes et 792 graines au total la deuxième année pour 4 cultivars ; tandis que le nombre moyen de plantes et de graines étudié pour chaque cultivar chaque année dans nos expérimentations était de 38 plantes et 21123 graines. Becker *et al.* (1992) ont testé 88 plantes et 1677 graines au total pour 5 lieux.

Cependant, en 2001, la floraison des colzas mâles stériles a commencé près de 3 semaines après le début de la floraison du couvert le plus tardif (Cléistogame *oxy*). Or, Becker *et al.* (1992) ont montré que le taux d'autogamie des fleurs au sommet de la plante était supérieur à celui observé sur les fleurs du bas de la plante (taux d'autogamie moyens de 89% et 61% respectivement). Le taux d'autogamie a été mesuré en 2001 sur les ramifications secondaires des plantes mâles fertiles. Le taux mesuré par la méthode des mâles stériles en 2001 est peut-être inférieur au taux d'autogamie des plantes entières.

La méthode utilisant des mâles stériles, comme celle des plantes « isolées », peut être appliquée à un plus grand nombre de plantes et de graines que la méthode « isoenzymatique » grâce aux faibles coûts et au fait que les tests prennent moins de temps par graine. De plus, cette méthode ne présente pas les risques de biais sur les mesures que fait courir la compétition entre génotypes de colza dans le cas de la méthode sur plantes « isolées ».

La différence entre les deux méthodes peut être la résultante de plusieurs facteurs. Tout d'abord, en 2000 et 2001, la méthode des mâles stériles a été utilisée pour étudier l'hybridation entre un colza conventionnel et un colza cléistogame. Or, il a été montré par Pierre *et al.* (1999b, 2000b, 2001) que le taux de passage des abeilles entre les plantes d'un couvert cléistogame et celles d'un couvert conventionnel était deux fois plus faible que le passage entre deux plantes d'un même couvert. Dans ce cas, le taux de passage des abeilles du Cléistogame *oxy* aux plantes du couvert Falcon *pat* (plantes Falcon *pat* et mâles stériles) serait inférieur au taux de passage du Falcon *pat* aux mâles stériles du couvert Falcon *pat*. Le faible taux d'hybridation cléistogame - conventionnel mesuré par la méthode des mâles stériles est peut-être dû à la diminution de la pollinisation croisée par les abeilles entre Falcon *pat* et colzas cléistogames. Ce qui signifierait que le taux d'autogamie mesuré ne dépendrait pas seulement du génotype testé, mais aussi du génotype du colza fécondant.

D'un autre côté, les plantes « isolées » dans le couvert de Falcon *pat* ont souffert de la compétition avec celui-ci ; l'ombrage a donc pu augmenter le taux d'hybridation, le taux d'autogamie serait alors celui d'une repousse dominée par le couvert.

3.2. Hauteur et autogamie (schéma de l'essai p.38)

Pendant la floraison, le Falcon *pat* était plus haut en moyenne que les génotypes semés en plantes « isolées ». La majorité des plantes « isolées » ne pouvaient pas être vues de l'extérieur de la parcelle. Une partie des plantes « isolées » avait versé avant la floraison et leur hauteur mesurée à la récolte était très faible. Le Falcon *pat* mesurait 121 cm en moyenne tandis que la hauteur moyenne par variété des pieds isolés variait entre 37 cm pour le nain HRG 563 et 69 cm pour Goéland (Tableau 2.7).

La floraison des plantes « isolées » a duré moins longtemps que la floraison du couvert Falcon *pat*, mais est comprise dans celle-ci.

Moins de la moitié des plantes ont survécu jusqu'à la récolte. Le taux d'autogamie moyen par génotype varie entre 40% et 69% (Tableau 2.7) avec une moyenne de 55% sur toutes les plantes. Olsson (1960) avait trouvé un taux d'autogamie moyen de 60%, Lewis *et al.* (1991) un taux de 50% et Becker *et al.* (1991) un taux de 66%. Les valeurs trouvées concordent avec ces valeurs. Les hauteurs moyennes par génotype observées oscillent entre 37 cm et 69 cm avec une moyenne de 59 cm sur toutes les plantes. Ces hauteurs sont plus faibles que celles observées sur d'autres essais pour les mêmes génotypes en peuplement pur (83 cm pour HRG 563 la même année, 115 cm pour Goéland et 145 cm pour Extra). Le coefficient de corrélation entre hauteur moyenne de la variété et taux d'autogamie est très faible ($R^2=0.04$). Les coefficients de corrélation entre hauteur et taux d'autogamie pour chaque variété sont très faibles (moins de 0.09), ce qui peut être due à l'hétérogénéité du couvert. Les plantes basses ou rampantes (versées avant floraison) ayant produit des graines et ayant été récoltées doivent peut-être leur survie à un trou dans le couvert permettant à la lumière d'arriver en quantité suffisante à la plante. Les variétés de hauteur inférieure à 55 cm (3 variétés) ont un taux d'autogamie moyen de 0.49 (variation de 0.43 à 0.59) tandis que celles de hauteur supérieure ou égale à 55 cm (7 variétés) ont un taux d'autogamie moyen de 0.59 (variation de 0.38 à 0.71). Les variétés basses ont des taux d'autogamie tous inférieurs à 60%, tandis qu'on peut observer un effet variétal sur le taux d'autogamie chez les variétés hautes. Le fait de ne pas prendre en compte les plantes versées pour l'étude ne change rien aux conclusions.

Cette expérimentation ne permet donc pas de déduire que l'ombrage ait un effet fort sur l'autogamie du colza. Cependant, il peut y avoir eu un effet qui ne serait pas détecté. En effet, la hauteur mesurée ici correspond à la dénivellation entre le sommet de l'inflorescence et le sol et non pas à la longueur de la tige. Les colzas de très faible hauteur peuvent donc correspondre soit à des colzas droits, mais bas, soit à des colzas longs et rampants (versés avant la floraison).

Tableau 2.7. Résultats moyens par variété de l'essai autogamie et hauteur 2001

Variété	Nombre de plantes à la récolte	Poids de graines moyen (g/plante)	Hauteur moyenne (cm)	Taux d'autogamie moyen	<i>ET Autogamie</i>
Bristol	19	2.49	61	0.56	0.17
Canary	16	2.49	68	0.44	0.24
Capitol	18	1.89	60	0.69	0.23
Columbus	25	1.27	66	0.66	0.20
Extra	21	2.51	64	0.40	0.24
Goéland	18	0.80	69	0.64	0.14
HRG 563	13	0.48	37	0.48	0.32
Lutin	27	1.14	51	0.58	0.13
Pollen	18	1.30	50	0.40	0.20
Zeruca	14	1.03	55	0.64	0.25

Les écart-types ont été calculés par Excel

4. Conclusion partielle

Les expérimentations portant sur la cléistogamie ont montré l'importance du choix de la méthode de mesure du taux d'autogamie sur l'évaluation de la valeur de celui-ci. Elles n'ont cependant pas permis de mettre en avant un gain d'autogamie du colza cléistogame par rapport à un colza conventionnel, sauf peut-être en ce qui concerne les plantes « isolées » de Cléistogame B par rapport aux plantes « isolées » de Falcon dans le Falcon *pat* en 2001.

L'expérimentation testant l'effet de la hauteur sur le taux d'autogamie mise en place en 2001 n'a pas permis de mettre en avant un effet de la hauteur sur l'autogamie des plantes testées..

La sélection du cléistogame se poursuit et une plus grande stabilité du caractère est à attendre. Une fois ce caractère stabilisé, un effet significatif de la cléistogamie sur le taux d'autogamie apparaîtra peut-être. C'est pourquoi la possibilité qu'un gène de cléistogamie (ou un autre caractère dépendant d'un gène majeur) influe sur le taux d'autogamie sera intégrée malgré tout dans le modèle, avec une hypothèse sur l'effet de la stabilité de la cléistogamie sur l'autogamie. Le facteur influant sur l'ouverture ou la fermeture des fleurs cléistogame n'a toujours pas été identifié. Il peut s'agir d'un facteur environnemental complexe (combinaison de la température, de la pluie et du rayonnement par exemple) ou de la combinaison de conditions climatiques avec le stade de floraison.

Enfin, les mesures de taux d'autogamie effectuées sur les expérimentations laissent à penser que la diversité des résultats observés dans la bibliographie pourrait être due non seulement à des effets du génotype et du milieu, mais aussi à des effets de la méthode de mesure.

II. Emission de pollen

Le taux d'émission de pollen viable va également jouer sur les taux de contamination en influant sur les proportions génotypiques de pollen du nuage pollinique fécondant les plantes par allofécondation. Il existe une variation de l'émission de pollen viable puisque les mâles stériles ne produisent et donc n'émettent pas de pollen alors que les colzas conventionnels sont mâles fertiles.

Il existe différents types de mâles stériles (Renard *et al.*, 1995; Delourme *et al.*, 1999). Il y a deux sources de stérilité mâle digénique : la stérilité de Shanghai, mutation spontanée, et le système Seedlink de Plant Genetic System, obtenu à partir de deux gènes chimériques, l'un apportant la stérilité mâle (*barnase*) et l'autre restaurant la fertilité mâle (*barstar*). La stérilité mâle peut aussi être obtenue par un système géno-cytoplasmique. Plusieurs systèmes de ce type existent. Les plus connus sont le système polima (dont le gène de restauration existe spontanément), le système Ogu-INRA (transfert du système radis dans le colza par croisement et fusion de protoplastes, le gène de restauration a ensuite été introgressé dans le colza) et le

Figure 2.9. Production de pollen au cours de la floraison

système MSL développé par NPZ.

La plupart des systèmes de stérilité récents sont stables comme le système Ogu-INRA (Delourme *et al.*, 1999). Cependant, certains systèmes sont instables selon le génotype de colza dans lequel ils sont introduits, c'est le cas du système 'polima' en colza d'hiver ou de la stérilité mâle provenant de croisements avec *Brassica tournefortii*.

L'émission de pollen efficace dépend de la viabilité du pollen, de la productivité et de la morphologie de la fleur (on peut supposer qu'un colza cléistogame émet moins de pollen pendant la floraison), mais aussi du vent, de la présence d'insectes pollinisateurs. Ces derniers facteurs ne dépendent pas du génotype et ne seront pas étudiés ici. Après avoir examiné la variation de production de pollen, nous analyserons la variation de dispersion.

1. Production de pollen

1.1. Production au cours de la floraison

Pour savoir à quel moment de la floraison, il convient de prélever les fleurs afin de mesurer leur production de pollen, un suivi de cette production tout au long de la floraison a été effectué sur deux variétés dans les essais cléistogamie (présentés au paragraphe I.2) de 1999 à 2001. Il s'agit des cléistogames A (1999), B (2000) et oxy (2001) et de Falcon *pat*.

1.1.1. Protocole

La production de pollen est quantifiée en phase F₁, F₂ et à pleine floraison sur Falcon et le cléistogame (A, B ou oxy selon les années) dans les essais cléistogamie de 1999, tous les 4 jours en 2000 et à pleine floraison en 2001. La production pollinique est mesurée sur les autres génotypes à pleine floraison uniquement.

5*20 boutons de fleurs de colza sont prélevés à chaque mesure (date et génotype). Chaque bouton, au stade A (Eisikowitch, 1981, *Annexe C*), est prélevé sur une plante différente. Pour chaque génotype, un bouton a donc été prélevé sur 100 plantes différentes. Les anthères (6*20 pour chaque mesure), séparées du reste de la fleur, sont mises dans une étuve à 37°C et 20 % d'hygrométrie, dans des flacons pesés et numérotés, pendant une semaine avant d'être pesées (poids sec). Les tubes ont été suivis pendant plusieurs jours pour voir à quel moment on constatait une stabilisation de la courbe de déshydratation. Celle-ci est obtenue à partir de 6 jours, date retenue pour les mesures. Pour les plantes mâles stériles, les mesures sont effectuées de la même façon. Cependant toutes les fleurs ou toutes les plantes ne sont pas mâles fertiles, il a donc fallu prendre des anthères sur des individus et des lignées différentes. Ce protocole est basé sur la publication de Rush *et al.*, 1995.

1.1.2. Résultats

La production de pollen ne varie pas significativement au cours de la floraison ou entre années. Le colza cléistogame produit un peu moins de pollen par fleur que le Falcon *pat*,

Tableau 2.8. Production de pollen par fleur selon le génotype

Variété	Poids de 120 sacs polliniques (g)			
	1999	2000	2001	Moyenne
Falcon (<i>pat</i>)	0.0517	0.0545	0.0546	0.0536 ^a
Cléistogame (A et B)	0.0517	0.0521	-	0.0519 ^{ab}
Columbus	-	0.051	-	0.051 ^{abc}
Pollen	0.0498	0.0507	-	0.503 ^{abc}
Nain 2	0.0501	-	-	0.0501 ^{abc}
Goéland	0.0484	0.0507	0.0482	0.0491 ^{bc}
Synergy	-	0.0490	-	0.0490 ^{bc}
Madrigal	-	0.0489	-	0.0489 ^{bc}
Capitol	0.0473	0.0490	0.0488	0.0484 ^{bc}
Cléistogame oxy	-	-	0.0477	0.0477 ^{cd}
HRG 563	-	-	0.0472	0.0472 ^{cd}
Darmor	0.0472	-	-	0.0472 ^{cd}
Nain 1	0.0443	-	-	0.0443 ^{def}
Captain	0.0436	-	-	0.0436 ^{ef}
Canary	-	0.0433	-	0.0433 ^f
Sarepta	0.0419	-	-	0.0419 ^{fg}
Extra	-	-	0.0419	0.0419 ^{fg}
CMB 1039			0.0409	0.0409 ^{fg}
B022			0.0405	0.0405 ^{fg}
Lutin	-	0.0413	0.0367	0.0390 ^g
Mâle stérile	0.0236	-	-	0.0236 ^h

Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% selon le test de la différence la moins significative (LSD).

mais cette différence n'est pas significative (*Figure 2.9*).

1.2. Production de pollen en fonction du génotype

1.2.1. Protocole

Le protocole utilisé est le même que précédemment.

Les productions de pollen ont été mesurées à pleine floraison sur 21 variétés différentes sur 1 à 3 ans afin de comparer ces productions. Elles ont été mesurées sur tous les essais mis en place pour la thèse ainsi que sur une partie des variétés de l'essai du CTPS (Comité Technique Permanent de la Sélection) de Rennes.

Pour le colza mâle stérile, très peu de colzas étant mâles stériles instables et produisant du pollen, il a fallu identifier des colzas mâles stériles (provenant d'un croisement avec *Brassica tournefortii*) produisant du pollen. Des fleurs sur différentes plantes à différents stades de sélection (B3F3, B4F2) ont été prélevées sur plusieurs familles différentes.

Deux nains ont également été étudiés. 'Nain 1' est issu de la génération F4 d'un croisement Asahi x Liradonna (deux colzas nains). 'Nain 2' est un haploïde doublé issu d'un croisement Darmor nain et Yudal. Les fleurs prélevées sur ce colza proviennent de plusieurs familles.

Une analyse statistique a été effectuée avec le logiciel SAS/STAT pour déterminer les différences entre production de pollen moyenne par variété. Un classement des moyennes a été fait à partir d'un test LSD (Least Square Difference), qui affecte la même lettre à deux moyennes si elles ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

1.2.2. Résultats

On constate qu'il existe une variation continue de la production de pollen par fleur entre les variétés (*Tableau 2.8*). Les mâles stériles instables produisent très peu de pollen, mais la viabilité de ce pollen n'a pas été testée.

La différence de production de pollen n'est pas significative entre 1999 et 2001, par contre la production de pollen a été significativement plus forte en 1999 (Test de la différence la moins significative, LSD, à 5%). Cependant, les productions de pollen n'ayant pas été mesurées pour toutes les variétés chaque année, il est possible que cela ait induit un biais dans cette comparaison. En effet, en 2000, les variétés sur lesquelles les productions de pollen ont été mesurées se situent dans le haut du tableau.

1.3. Production par un couvert

En partant de ces mesures et en connaissant le nombre de fleurs fertiles par m², on peut en déduire la production de pollen par m² de la parcelle.

Ces mesures ont été faites : (i) sur le colza cléistogame, supposé émettre moins de pollen, comparé au Falcon pat (colza conventionnel) et (ii) sur les associations variétales (80% de plantes mâles stériles), émettant moins de pollen, comparées à leur pollinisateur pur (100% fertile).

1.3.1. Protocole de mesure du nombre de fleurs productrices de pollen

Des comptages de nombre de fleurs fécondantes (stade B et suivants, selon Eisikowitch, 1981) ont été effectués deux à trois fois par semaine. Les mesures ont été faites sur 4 quarts de cercle de 50 cm de diamètre pour chaque parcelle dans 4 zones différentes de chaque bande (5 lignes de semis) pour prendre en compte la variabilité interplantes au sein d'une parcelle. Le placement des quarts de cercle est aléatoire au sein de chaque zone. Les mesures se font entre 10h et 12h car le nombre de fleurs fécondantes évolue moins vite qu'en cours d'après-midi.

Ces mesures ont été faites sur les essais cléistogamie en 1999, 2000 et 2001 (essais décrits au paragraphe I.2) pour les cléistogames A, B et *oxy* et pour le Falcon *pat* et en 2000 et 2001 sur les essais associations variétales.

Les essais associations variétales sont constitués de 4 blocs comprenant chacun 3 parcelles contiguës d'une association variétale (80% de mâles stériles et 20% de mâles fertiles au semis) et 3 parcelles contiguës semées avec le pollinisateur de l'association variétale. Les variétés utilisées sont Synergy (association variétale) et Falcon (lignée pollinisatrice de Synergy) en 2000, Standy (association variétale) et CMB 1039 (lignée pollinisatrice de Standy) en 2001. Les parcelles sont composées de 6 lignes de semis espacées de 25 cm. L'interparcelle (espace entre la 6^e ligne d'une parcelle et la 1^{ère} ligne de la suivante) est de 50 cm. Chaque parcelle fait 1.5 m*7.5 m. La répartition droite - gauche entre association variétale et pollinisateur est aléatoire.

Le protocole de mesure de la production de pollen est le même que celui utilisé précédemment. Cependant, la production de pollen peut être sensible au jour de prélèvement. C'est pourquoi les prélèvements ont eu lieu un jour de beau temps à pleine floraison, le même jour pour toutes les variétés d'un même essai.

1.3.2. Résultats

La production de pollen par m² dépend à la fois de la production de pollen par fleur et du nombre de fleurs par m². Ces expérimentations montrent qu'il existe une variation pour ces deux caractères (*Tableau 2.9*). La floribondité dépend de l'année et de la variété et l'on a déjà vu qu'il existait un effet du génotype sur la production de pollen par fleur. Le pollen produit par m² par une association variétale est très inférieur à celui produit par un colza lignée conventionnel du fait de la faible proportion de pollinisateurs dans les associations variétales.

1.4. Discussion

La production de pollen d'une variété ne varie pas significativement au cours de la floraison,

Tableau 2.9. Production de pollen par m² par un couvert

Année	Variété	Poids des sac polliniques (g/20 fleurs)	Nombre de fleurs/m² le jour du prélèvement	Nombre moyen de fleurs/m²/jour	Poids moyen des sacs/m²/jour
1999	Cléistogame A	0.0534	370.5	342.1	0.913
	Falcon <i>pat</i>	0.0511	760.9	475.0	1.214
2000	Cléistogame B	0.0521	1262.1	1065.1	2.776
	Falcon <i>pat</i>	0.0532	1191.8	1194.1	3.176
	Synergy MF	0.0558	135.6	105.7	0.295
	Falcon	0.0490	1825.5	898.4	2.201
2001	Cléistogame oxy	0.0478	161.5	293.3	0.701
	Falcon <i>pat</i>	0.0546	384.7	440.3	1.202
	Standy MF	0.0405	145.8	94.8	0.192
	CMB 1039	0.0409	1500.3	878.5	1.797

excepté en fin de floraison où la production de pollen est inférieure. Elle ne varie pas non plus significativement d'une année sur l'autre. Les plus faibles mesures effectuées à la fin de la floraison s'expliquent sans doute par la difficulté de trouver des fleurs non sénescents à cette période. Beaucoup de boutons floraux ayant été attaqués par les méligèthes (insectes se nourrissant du pollen des fleurs), il est difficile de trouver des fleurs non sénescents avec des anthères intacts. Le faible nombre de fleurs mâles fertiles par m² observé dans les associations variétales s'explique par le faible nombre de plantes fertiles par m² (3.3% en 2000 ; 10.8% en 2001 à la récolte pour 20% de graines fertiles semées).

En revanche, il existe une variation de la production de pollen par fleur et du nombre de fleurs par m² en fonction de la variété. Ce résultat concorde avec les travaux de Szabo (1985). La production de pollen d'un couvert dépend donc de la variété.

La production de pollen est déjà prise en compte dans le modèle GENESYS-COLZA au niveau de l'émission de pollen ; ce caractère est lié au transgène. Il sera important de prendre aussi en compte la stérilité mâle dans le modèle pour simuler l'existence de populations stériles ou d'hybrides restaurés. C'est pourquoi la possibilité que la plante soit mâle stérile sera intégrée dans le modèle avec la possibilité de restauration de la fertilité mâle.

2. Emission et dispersion du pollen

2.1. Protocole

L'hypothèse testée est qu'un colza cléistogame laisse moins de pollen s'échapper.

2.1.1. Emission de pollen

L'émission relative et la dispersion de pollen par le colza cléistogame en comparaison avec un colza conventionnel (Falcon *pat*) est estimée sur les essais cléistogamie évoqués plus haut (paragraphe I.2).

En 2000 et 2001, des plantes mâles stériles plantées ou semées (selon l'année) au centre de la parcelle reflètent le nuage pollinique à cet endroit. Connaissant le taux de graines résistantes au glufosinate (herbicide dont la résistance est conférée par le gène *pat*) dans la descendance des mâles stériles par le test utilisé pour la mesure du taux d'autogamie (Cf. I.2), on peut en déduire la proportion de pollen *pat* et donc aussi non *pat* au centre de la parcelle.

En effet :

$$(2.3) \quad \frac{E_{c\lg}}{E_{Falc}} = \frac{1 - R_{ste}(0m)}{R_{ste}(0m)}$$

où $E_{c\lg}$ est la quantité de pollen émis par m² par le cléistogame (B ou *oxy*) et E_{falc} la quantité de pollen émis par m² par le Falcon *pat*. On suppose l'absence de direction préférentielle du vent.

2.1.2. Dispersion du pollen

Une courbe de dispersion du pollen de Falcon *pat* dans le cléistogame peut aussi être

Tableau 2.10. Quantité de graines testées en fonction de la variété et de la distance

	1999	2000	2001	
Distance au centre (m)	Cléistogame A	Cléistogame B	Cléistogame oxy	Falcon <i>pat</i>
0.25		8 g	16.87 g	16.87 g
0.5		8 g	16.87 g	16.87 g
0.75	88 g	8 g	16.87 g	16.87 g
1		8 g	16.87 g	16.87 g
1.25		8 g	16.87 g	16.87 g
1.75		24 g	16.87 g	16.87 g
2		24 g	16.87 g	16.87 g
2.25	56 g	24 g	16.87 g	16.87 g
2.5		24 g	16.87 g	16.87 g
2.75		24 g	16.87 g	16.87 g
3.75	79 g	12 g	16.87 g	16.87 g
5.25	96 g	12 g	16.87 g	16.87 g
6.75	353 g	18 g	33.74 g	33.74 g
8.25	240 g	18 g	33.74 g	33.74 g
9.75	339 g	37 g	105 g	105 g
11.25	564 g	37 g	105 g	105 g
12.75	625 g	37 g	105 g	105 g
14.25	508 g	37 g	105 g	105 g
15.75		350 g		
20.25	6978 g			
23.25		350 g		
24.75			210 g	210 g
29.25	6818 g			
30.75		350 g		
35.25		350 g	210 g	210 g
39.75	7088 g	350 g		
44.25	6659 g			
45.75	7100 g	350 g	262.5 g	262.5 g
47.25	6916 g	350 g	262.5 g	262.5 g
48.75	6150 g	348.98	262.5 g	262.5 g

Le poids de mille grains était environ de 4g

établie. Il suffit de prélever des graines sur des plantes de cléistogame à distance croissante du Falcon *pat*. En testant la descendance pour la résistance au glufosinate, on peut connaître le taux de fécondation du cléistogame par le Falcon *pat* à une distance donnée de la parcelle de Falcon *pat*. En supposant le taux d'autogamie constant sur toute la parcelle de cléistogame, ce taux est totalement corrélé à la proportion de pollen *pat* dans le nuage pollinique à cette distance.

Les distances et les quantités de graines testées sont explicitées dans le *tableau 2.10*.

Ce suivi a été fait en 1999, 2000 et 2001 du Falcon *pat* vers le cléistogame et en 2001 du Cléistogame *oxy* vers le Falcon *pat* (en utilisant le même principe, le taux de résistance à l'oxynil, herbicide auquel le gène *oxy* confère la résistance, est mesuré).

2.2. Résultats

2.2.1. Taux d'émission de pollen

Le taux de résistants au glufosinate dans la descendance des plantes mâles stériles au milieu de la parcelle était de 91.9% en 2000 (532 graines de 5 plantes testées) et de 77.1% en 2001 (4361 graines de 9 plantes testées). Le taux d'émission de pollen du Cléistogame B était donc 8.8% de celui du Falcon *pat* en 2000 et celui du Cléistogame *oxy* était 29.7% de celui du Falcon *pat* en 2001 (*Tableau 2.11*).

2.2.2. Dispersion du pollen

Les taux de graines résistantes dans les colzas cléistogames sont significativement inférieurs à ceux d'un colza autogame à 70% (*Figure 2.10*). Le taux de résistants du colza est entre 0.03 et 0.25 fois celui d'un colza autogame à 70% (excepté le ratio de 0.41 observé à une distance 2.25 m).

Le Falcon *pat* est moins fécondé par du pollen de cléistogame que l'inverse, quelles que soient les distances au centre de la parcelle. Les deux méthodes de mesure du taux d'autogamie donnant des taux équivalents pour le Falcon *pat* et les colzas cléistogames, cette différence entre les deux types de colza peut être due à une différence d'émission de pollen.

2.3. Discussion

Le cléistogame paraît donc émettre moins de pollen. Cependant, il s'agit là de pollen par m² et, comme précédemment, il faut tenir compte de la floribondité des variétés, c'est-à-dire du nombre de fleurs ouvertes de chaque variété par m² pendant la période de floraison commune des mâles stériles ou la floraison des parcelles. En 2000, le cléistogame a 10% de fleurs de moins que Falcon *pat* et en 2001, cléistogame *oxy* en a 20% de moins. En tenant compte du nombre de fleurs moyen par m² pendant la floraison, on obtient les chiffres suivants : chaque fleur de cléistogame a émis 9.8% du pollen émis par une fleur de Falcon *pat* en 2000 et 37.1% en 2001.

Tableau 2.11. Rapport des taux d'émission de pollen Falcon pat et colza cléistogame mesuré sur les mâles stériles, corrigé par le nombre de fleurs moyen par jour

Année	Taux de pollen émis		Nombre de fleurs par m ² moyen/jour	
	Falcon <i>pat</i>	Cléistogame	Falcon <i>pat</i>	Cléistogame
2000	0.92	0.08	1194.1	1065.1
2001	0.77	0.23*	497.4	405.9*

*Il s'agit de cléistogame *oxy*

Figure 2.10. Comparaison des taux d'hybridation des colzas cléistogames et conventionnel.

Les lignes verticales sont les intervalles de confiance à 5%. Cléistogames A, B et *oxy* sont observés en présence de Falcon *pat* et Falcon *pat* est observé en présence de Cléistogame *oxy*.

De même que pour le taux d'autogamie, l'instabilité du caractère cléistogame joue peut-être sur l'émission de pollen. En effet, si la fleur reste fermée, il y a moins de chance que le pollen s'échappe. En 2000, les fleurs cléistogames sont restées plus fermées qu'en 2001 et les proportions de pollen émises sont effectivement plus faibles. Il faut cependant garder à l'esprit que lorsque la fleur se fane, ses pétales peuvent tomber. Or le pollen peut encore être viable ; il est alors libéré et peut aller féconder les fleurs encore ouvertes (J. Pierre, *com. pers.*).

D'autres facteurs interviennent également dans l'émission de pollen, comme la présence ou non d'insectes, mais aussi et surtout la direction et la force du vent. Sur les essais cléistogamie, on ne s'attend pas à un effet fort du vent puisque sur les 3 années, celui-ci a été soit perpendiculaire à la parcelle, soit présent autant dans un sens que dans l'autre. En revanche, il peut y avoir un effet des abeilles sur l'estimation du pollen émis. En effet, le taux de passage des abeilles d'une plante conventionnelle à une plante cléistogame est deux fois plus faible que le taux de passage d'une plante à une autre de même type (Pierre *et al.*, 1999b). Cependant, au sein d'un couvert, les abeilles ne feraient pas de différence entre le couvert et une plante « isolée » d'un autre type (J. Pierre, *com. pers.*). Dans ce cas, le taux de passage des abeilles du colza cléistogame aux mâles stériles serait inférieur au taux de passage du Falcon *pat* aux mâles stériles et les résultats obtenus pour l'émission de pollen seraient des sous-estimations de la réalité.

En définitive, le caractère de cléistogamie jouera dans GENESYS-COLZA sur la production et l'émission de pollen par m².

3. Conclusion partielle

Finalement, on peut dire qu'il existe une variabilité pour l'émission de pollen par les colzas. La variabilité de production de pollen entre variétés existe et est assez forte. Pour prendre en compte la variabilité de l'émission de pollen dans GENESYS-COLZA, trois nouveaux gènes seront introduits dans le modèle : la stérilité mâle, la restauration de la fertilité et la cléistogamie.

Il est important de prendre en compte la stérilité mâle et la restauration de la fertilité car les hybrides sont en plein développement et une bonne partie sont issus d'un croisement entre un colza mâle stérile et un colza restaurateur. Dans la descendance de ces plantes, donc dans les repousses de ces colzas, on pourra trouver des colzas mâles stériles.

Cette stérilité mâle a un effet bénéfique sur le rendement (gain de 10%), ce qui a favorisé le développement des associations variétales pour les zones où les risques de mauvaise pollinisation sont faibles (Sud-Ouest de la France).

III. Modélisation de la compétition intergénotypique

Lors de ce travail de thèse, l'influence du génotype sur la compétitivité des plantes et

Figure 2.11. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour les essais compétition 2000 et 2001

Figure 2.12. Schéma d'une parcelle de Lutin avec des repousses de F2 de Lutin.
Les lignes verticales noires représentent les lignes de semis de Lutin. La ligne verticale rouge représente la ligne de semis des repousses de F2 de Lutin. Les triangles noirs grisés les voisins Lutin suivis et les triangles rouges les repousses F2 de Lutin suivies.

l'effet de la compétition intraspécifique sur la production de pollen et de graines des plantes (repousses et culture) a aussi été étudié.

La compétition entre deux génotypes a été étudiée dans le cas de repousses d'un génotype dans une culture de colza d'un autre génotype. Pour prédire l'effet de la compétition sur la production de pollen et de graines, la compétition entre deux variétés de colza a d'abord été analysée pour déterminer quelles caractéristiques variétales intervenaient dans la compétition intraspécifique, et à quel moment la compétition intraspécifique avait une influence sur le développement de la plante. Une deuxième expérimentation plus large, mais suivie moins en détail, a servi à établir les équations permettant de modéliser la compétition.

Pour mettre en place ces expérimentations, nous avons fait l'hypothèse selon laquelle un colza demi-nain était moins compétitif qu'un colza classique. Ces colzas demi-nains ont commencé à apparaître sur le marché. Ce sont des hybrides restaurés demi-nain qui possèdent le gène de nanisme à l'état hétérozygote ; ils possèdent également un gène mitochondrial de stérilité mâle et un allèle restaurateur de la fertilité également à l'état hétérozygote. La descendance d'autofécondation de ces plantes est donc en disjonction pour les caractères de nanisme et de stérilité mâle : on peut retrouver des colzas nains, demi-nains ou hauts mâles stériles ou fertiles. Cependant, pour que ces colzas demi-nains aient un bon rendement, les parents hauts de cet hybride doivent être très productifs. Les descendants hauts de ces hybrides pourraient donc être très compétitifs et très productifs. Qu'en est-il vraiment ?

1. Protocoles expérimentaux

1.1. Compétition¹⁰

L'essai est composé de 4 répétitions ou blocs. La répartition des traitements dans un bloc est aléatoire (*Figure 2.11*). Chaque parcelle est composée de 6 lignes de semis ; l'interligne est de 25 cm et l'interparcelle de 25 cm ; chaque parcelle fait 1.5 m*7.5 m.

Chaque bloc est composé de 4 parcelles contiguës de chaque traitement. Les parcelles de bordures sont semées avec la même variété que la variété voisine semée en dense. Une parcelle différente est utilisée pour chaque date de notation.

Les repousses sont semées en poquets (année 2000) ou en ligne (année 2001) entre la 3^e et la 4^e ligne de la parcelle lorsqu'elles sont présentes.

1.2. Etude de la F2 de l'hybride demi-nain

Sur l'essai compétition, le comportement des F2 de Lutin en repousses dans le Lutin ont été étudiées plus précisément afin de comparer la compétitivité de la F2 à la F1.

La descendance F2 est composée de 6 classes de colza : 3 classes de hauteur (nain,

¹⁰ Le contenu de ce paragraphe est repris dans un article intitulé « Contamination of rapeseed harvest by volunteers of other varieties : a study of intergenotypic competition » soumis au European Journal of Agronomy le 29/07/02

demi-nain, haut) et deux classes de fertilité (mâle stérile ou mâle fertile).

Sur 4 parcelles de Lutin Dense avec des repousses de F2 de Lutin (voir paragraphe b.) par bloc, 13 plantes de F2 ont été identifiées et suivies tout au long de la floraison. Les plantes de Lutin immédiatement voisines sur les 2e, 3e, 4e et 5e lignes de la parcelle ont également été suivies (Figure 2.12).

711 plantes (F2 de Lutin et plantes voisines Lutin) ont fait l'objet d'un suivi du début de la floraison à la récolte. Les mesures sur la F2 et ses 4 voisins ont été faites pour 79 plantes F2. 137 plantes de F2 ont fait l'objet d'un suivi de la F2 et d'au moins un voisin F1 par distance à la F2.

Sur chacune des plantes suivies, la date de début de floraison, la hauteur à la récolte, le rendement et le poids de mille grains (PMG) ont été mesurés. Sur les plantes F2, la stérilité ou fertilité de la plante a de plus été suivie.

2. Résultats

2.1. Compétition

Contamination of rapeseed harvest by volunteers of other varieties : a study of intergenotypic competition

Fargue, A.^{1,2}; Meynard, JM.¹; Colbach, N.³; Vallee, P.²; Grandeau, G.¹; Renard, M.²

1. INRA-INA P-G UMR d'Agronomie, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France

2. INRA-ENSAR UMR Amélioration des Plantes et Biotechnologies Végétales, BP 35327, 35653 Le Rheu, France

3. INRA Unité de Malherbologie et Agronomie, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cedex, France

fargue@rennes.inra.fr, tel. 02.23.48.51.40, fax 02.23.48.51.20

Abstract

Rapeseed volunteers in rapeseed crops can cause contamination in harvest through pollen and seeds. The aim of the study was to predict pollen and seed production by volunteers in winter rapeseed crops according to the genotypes of the crop and the volunteers. Firstly an analysis of intraspecific competition was done in 2000 and 2001 on respectively 2 and 6 genotypes. The main competition period begins with vegetation onset and affects pollen and seed production of the volunteers. Relations between density, height, yield and number of flowers were developed based on results from experiments and literature. Knowing the densities and heights of volunteers and crop on the plot, the yield of the volunteers can be predicted. For volunteers 60 cm lower (higher) than the crop, at a density of 1 volunteer per m² in a crop at a density of 50 plants per m², the seed production per plant of the volunteers is 12% (112%) of the production observed on a field of pure volunteers at 50 plants per m².

Keywords: Competition, *Brassica napus* L., volunteers, harvest contamination, pollen production, seed production

Introduction

Oilseed rape seeds, having a high triacylglycerol content, are mainly crushed for oil. In France, two kinds of rapeseed lots are commercialised: lots harvested on low erucic acid rapeseed, for food and non food uses, and lots harvested on high erucic acid rapeseed, for specific non food uses in plastic or cosmetic industry for example (AMSOL-PROLEA, 2001). Plant breeding has been focused towards a diversification of fatty acid profiles in oil for different uses. For example, low α -linolenic acid rapeseed is being developed to diminish room odour and for uses as biofuel and biolubricants, high γ -linolenic acid rapeseed is under selection for its dietary input (AMSOL-PROLEA, 2002). In this kind of diversified market, purity of the harvest and its traceability become very important and harvest contamination could therefore become a major problem. Apparition of GMO (Genetically Modified Organism) also creates a demand for products guaranteed “without GMO”, meaning products with GMO content lower than a given threshold (Le Bail *et al.*, 2001; Noussair *et al.*, 2001). This threshold would be determined by market specifications, regulations and detection method precision (Bertheaux, 2001). Harvest contamination can result from pollen flow from neighbouring fields or from fields borders (Rieger *et al.*, 2002); but the presence of volunteers in rapeseed fields, stemming from soil seed stock, can also explain some of the harvest contamination (Colbach *et al.*, 2001a, 2001b). Seeds of these volunteers will be harvested with those of the crop they grew in and pollen emitted by these volunteers can fecundate crop flowers since rapeseed is only partially autogamous (70% autogamy on average) (Olsson, 1960). Since some seed characteristics, like fatty acid content, depend on both parents, these processes may change fatty acid composition and content of the harvest.

Volunteers in crop may come from seeds fallen from a preceding crop or have come from neighbouring fields and borders (Brown *et al.*, 1996, Colbach, unpublished data). Rapeseed pods shatter easily at maturity under mechanical or thermal shock and windy conditions. Seeds can also be lost by the combiner either on the field or outside of it. The fallen seeds can then survive up to, at least, 10 years in the soil and may grow in following crops (Pessel *et al.*, 2000; Sauermann, 1993; Vaughan *et al.*, 1976).

But, even with the same density of volunteers, their impact on harvest purity will change according to the genotypes. Pollen and seed production of volunteers depend on the cultivar potential productivity, on climate, on nutritional conditions but also on crop and volunteer relative competitiveness. According to crop and volunteer genotype, the latter will be more or less competitive than the former. Prediction of the competition outcome and of its effects on volunteer productivity would make crop and harvest purity management more easier (Colbach *et al.*, 2001).

Many scientists have modelled the effect of weed competition on crop yield. Cousens (1985) tested different equations on different species and found that hyperbolic models were usually the most appropriate to predict competition effect on yield. According to Kropff *et al.* (1993), this family of equations is the most used to describe intra- or interspecific competition. Kropff *et al.* (1991), quoted by Angonin (1995), showed that yield loss is highly correlated to weed infestation level between emergence and the moment when the stand covers the soil. The duration between sowing and volunteer emergence will influence the intensity of the competition for nutrients and light they will have to withstand. This competition will have an effect on volunteer establishment before winter and their survival during winter. Ferré *et al.* (2000) showed that competition between rapeseed, weeds and wheat volunteers depends mostly of nitrogen nutrition of the cover in autumn. The rapeseed treatments without nutritional stress, having a high leaf area index, will strongly limit the growth of weeds and volunteers in the crop.

Another critical period for competition is shoot elongation. Angonin (1995) found that in intensive cropping systems, yield loss in winter wheat with rapeseed volunteers was mainly due to competition for light. The study of competition between adjacent plots of different cultivars in rapeseed (Azaïs *et al.*, 1986; Schott *et al.*, 1994) correlated intergenotypic competition with difference in height. Hybrid rapeseeds might also be more competitive than conventional pure lines since their growth rate is higher (Buson, 1979; Lefort-Buson *et al.*, 1985).

The aim of this study is to analyse intergenotypic competition in rapeseed (i) to identify those varietal traits, which influence the most this phenomenon; and (ii) to model and predict the effect of competition on volunteer pollen and seed productivity. The prediction of pollen and seed production is a necessity to determine the maximum number of volunteers in a field that is compatible with the respect of harvest contamination threshold.

The first part of this work consists in an analysis of competition between rapeseed crop and volunteer to determine which varietal traits are most important and when they influence competition. First, two contrasted varieties were studied in detail and then, these results were validated on a larger scale on more cultivars.

In the second part, competition is modelled to predict pollen and seed production of volunteers according to the genotype of crop and volunteer, based on easy-to-measure variables.

Material and methods

Site, soil and cropping techniques

Experiments were sown on an orthic luvisol (FAO classification) near Rennes (Brittany, France 1°48'W 48°6'N). Nitrogen fertilisation in spring ensured that no nutritional deficiency appeared after winter . Insecticide and fungicide treatments likewise kept the crop in health.

Climate

Rennes has an oceanic climate with almost no frost. Mean temperatures are between 2°C for the minima in January and 24°C for the maxima in July. On average, 38 days per year have a minimum temperature below 0°C. The average rainfall is 55mm per month for a total of 650 mm per year without dry season.

In 1999-2000, temperature and pluviometry were according to average but October 2000 through January 2001 was rainy (603 mm instead of 257 mm on average). Four plots of the third block and four plots of the second block of the 2001 experiment suffered root asphyxia and were not used in the subsequent study.

Experimental design

Experiment 2000

This experiment was designed to study the behaviour of rapeseed volunteers in a crop of another variety. The two cultivars used were 'Lutin' and 'Goéland'. 'Lutin' is a semi-dwarf F1 hybrid produced between a male sterile Ogu INRA rapeseed line ('ISN1770') homozygous for the *bzh* dwarfism gene and a male fertile restorer line LR 113. 'Goéland' is a common tall line grown at a large scale in Western Europe.

The experiment was sown on the 15th of September 1999 after a cereal crop. It was made of six treatments of pure dense or volunteer stands and of mixed stands of crop and volunteers. Each treatment was repeated twice in each block, once without nitrogen added at sowing and once with 200 kg N/ha at sowing to simulate a rich soil, where relations of competition can be changed. The experimental design is a split-plot with four repeats (blocks). In each block, each experimental treatment consisted in 4 contiguous 1.5m*7.5m plots. Dense plots were sown on 6 lines with an equal distance of 25 cm between lines (interline) and plots (interplot). Densities after emergence were between 60 and 100 plants/ m² for dense populations (data not shown). Volunteers were sown in seed holes of 10 seeds every meter in the middle of the plot (between the third and the fourth line in mixed plots). Seed holes were thinned before winter and less than 5 plants were left per seed hole. Volunteer density (in pure and mixed plots) was 1 to 5 plants/ m² after winter.

The crops and volunteers were sampled at the "6 open leaves" stage (B6, 04 Sept. 1999), the beginning of winter (BW, 06 Dec. 1999), the end of winter (EW, 02 Febr.2000), the beginning of flowering (F1, 04 Apr. 2000) and at full pods (G4, 05 June 2000). Harvest took place on the 19th of July 2000.

Table 1. Measurements done in 2000 and 2001

Measure	On dense sample	On volunteers
Number of plants (2000 and 2001)	By height group (4 groups) at each stage in 2000 <i>At EW and F1 for dense and volunteers, at G4 for volunteers in 2001</i>	
Aerial Dry Matter (2000 and 2001)	Total at each stage in 2000 <i>Total at EW and F1 in 2001</i>	Total at each stage in 2000 <i>Total at EW and by plant at F1 in 2001</i>
Root Dry Matter (2000 and 2001)	2000 :Total for B6, BW and EW <i>2001 : Total at EW</i>	
Number of racemes (2000)	By plant on 3 plants of each height class at stages F1 and G4	
Number of empty pods and full pods (2000)	By plant on 3 plants of each height class at stage G4	
Leaf area (2000)	Total on a ¼ of each height class from B6 to F1	
Leaf area (2001)	<i>Total on 5 plants for each pure dense treatment, 1 measure on 5 plants for one dense 'Lutin' with volunteers and of one dense 'Goéland' with volunteers at EW</i>	<i>Total on 5 plants at EW</i>
Total height (2000)	By plant on 3 plants of each height class at each stage	
Height (2001)	<i>Global on 5 plants at EW</i> <i>Average on 10 plants in the field at F1 and G4</i>	
Day of flowering (2001)	<i>Visual evaluation in the field of F1 stage (50% of the plants with one flower) on dense stand and on volunteer's line</i>	
Pollen production (2000 and 2001)	On 5*20 flowers for each treatment in 2000 ; <i>On 5*20 flowers for each D treatment, on one 'Lutin' DV and on one 'Goéland' DV in 2001</i>	<i>On 5*20 flowers for each treatment in 2001</i>
Yield (2000 and 2001)	On a whole plot on dense stand and on a line of volunteers in 2000 and 2001	
Thousand Seed Weight (2000 and 2001)	On three 300 seeds dry samples	

B6: 6 open leaves, BW :beginning of winter, EW :end of winter, F1 :beginning of flowering, G4: full pods.

Experiment 2001

In 2001, the number of samplings and variables were reduced but six genotypes were studied:

- 1 dwarf line (HRG563)
- 2 tall lines ('Goéland', 'Capitol')
- 1 semi-dwarf restored F1 hybrid ('Lutin')
- 1 tall restored F1 hybrid ('Extra', Ogu-INRA system)
- 1 F2 progeny from a semi-dwarf F1 hybrid ('Lutin')

The experiment was sown on the 25th of September 2000 after a wheat crop.

These six genotypes were sown both as pure dense stands and as volunteers in two different rapeseed crops (cultivars 'Goéland' and 'Lutin'). The dense stands were sown on 6 lines as in experiment 2000.

Volunteers were sown on a seventh line in the middle of the plot. Each treatment was made of four adjacent plots in each of the 4 repeats. Since 'Lutin' is a F1 hybrid between a dwarf and a tall line, the F2 will segregate for height and 3 kind of plants will be found in the descent: dwarf, semi-dwarf and tall. Because of the high heterogeneity of the F2 population, treatments with F2 volunteers, were sown on twice as many plots.

At the end of winter, average density was 31 plants/ m² for dense stands and 1 plant every 17 cm (around 4 plants/ m²) for volunteers. Sampling was done at the end of winter (EW, 30 Jan. 2001) and the beginning of flowering (F1, 04 Apr. 2001). The plots were harvested between the 27th of June and the 5th of July 2001.

Measures and Analyses

Sampling and analyses were done on each treatment and each repetition. Measurements depended on the experiment (Table 1).

In 2000, the samples in dense stands were of 1 m² if pure, and 2 m² if mixed with volunteers. The volunteers were sampled separately (3 seed holes for stages B6 to end of winter and 5 seed holes for stages F1 and G4). At maturity an entire plot was harvested (1.5*7.5 m² for dense stands, 7 seed holes for volunteers). At B6, only pure dense stands were sampled. At each stage, LAI (Leaf Area Index), Dry Matter (DM) of leaf and stem measures were only done on 2 blocks out of 4 (blocks II and IV). From F1, DM was measured on a sub-sample of maximum 2kg of fresh weight. The DM was then estimated for the whole sample based on the sub-sample results (fresh weight ratio and DM ratio between sub-sample and sample were supposed to be the same).

In 2001, samples in dense stands were of 1 m² (twice as much in F2 volunteer population) and 10 volunteers in a row. At maturity two whole plots were harvested.

Both years, to limit loss of seeds at harvest, volunteers in dense stands were harvested before complete maturity. These plants were left to dry and were threshed individually either by hand or by machine. After cleaning, yield and dry weight (48h à 80°C) were measured. As for the remainder of the experiment, dense stands were separated by hand to facilitate cutting. One plot was harvested by direct combining (experimental harvester) for each treatment and unit, the harvest was automatically weighed and its humidity determined (by voltage measurement). For each sample, 3 samples of 300 seeds were weighted to estimate Thousand Seeds Weight (TSW).

Results

Analysis of competition between 2 cultivars: experiment 2000

Plant density decreased during the experiment (Figure 1). There were, firstly, losses during winter but also during shoot elongation. As for volunteers, seed holes were slightly thinned before the beginning of winter.

Factors influencing significantly variables at each sampling are given in Table 2 with the probability of this factor having a null influence on the variable studied (only for probability of less than 1% according to the Fischer test). Nitrogen at sowing had a positive effect on aerial DM per

Table 2. Significant factors in experiment 2000

Variable	Stage B6 (04/11/99)	Beginning of winter (06/12/99)	End of winter (02/02/00)	F1 (04/04/00)	G4 (05/06/00)	Harvest (19/07/00)
Aerial DM	N (0.0021)	N (0.0001)	N (0.0001)	N (0.0005)	N (0.0044)	
/plant	V (0.0072)			V (0.0001)	V (0.0001)	
				V*ST (0.0001)	V*ST (0.0077)	
Pollen weight				V (0.0001)		
/20 flowers						
Height	B (0.0016)	N (0.0001)	N (0.0001)	V (0.0001)	N (0.0002)	
	N (0.0023)	ST (0.0073)	V (0.0043)		V (0.0001)	
	V (0.0031)		V*ST (0.0006)		ST (0.0053)	
Thousand						V (0.0001)
Seed Weight						ST (0.0033)
						V*ST (0.0001)
Yield/plant						N (0.0047)
						V (0.0003)
						V*ST (0.0097)

B: Block; ST : Stand Type ; V : Variety ; N : Nitrogen ; V*ST : Variety-Stand Type interaction

Figure 1. Evolution of plant density during the experiment.

‘Lutin’ D: ‘Lutin’ pure dense stand; ‘Lutin’ VG: ‘Lutin’ volunteers in ‘Goéland’; ‘Goéland’ D: ‘Goéland’ pure dense stand; ‘Goéland’ VL: ‘Goéland’ volunteers in ‘Lutin’. Vertical lines are mean standard errors.

Figure 2. Evolution of height of the rapeseed plants during the experiment.

‘Lutin’ D: ‘Lutin’ pure dense stand; ‘Lutin’ VG: ‘Lutin’ volunteers in ‘Goéland’; ‘Goéland’ D: ‘Goéland’ pure dense stand; ‘Goéland’ VL: ‘Goéland’ volunteers in ‘Lutin’. Vertical lines are standard errors.

Table 3. Aerial Dry Matter of the plants in dense stands in 2000

Treatment	Aerial Dry Matter (g/plant)				
	Stage B6	Beginning of Winter	End of Winter	Stage F1	Stage G4
‘Lutin’ Pure Dense	0.86a	2.10a	3.85a	5.88bc	26.3bc
‘Lutin’ Volunteers in ‘Goéland’		0.84b	1.82b	2.54c	5.0c
‘Goéland’ Pure Dense	0.53a	1.88ab	3.73a	7.67b	52.1ab
‘Goéland’ Volunteers in ‘Lutin’		1.10ab	1.83b	14.69a	74.9a

Mean in a same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.01 probability level according to the Least Square Difference test.

Table 4. Yield components’ average in 2000

Treatment	Pollen weight (g/20 flowers)	Number of flowers (per plant)	Number of racemes (per plant)	Number of seeds (per plant)	TSW	Yield (g/plant)
‘Lutin’ Pure Dense	0.043b	534a	7.2a	1255ab	5.9a ^a	8.1ab
‘Lutin’ Volunteers in ‘Goéland’	0.038c	42b	1.8b	34b	2.4b ^b	0.1b
‘Lutin’ Dense with Volunteers	0.042b	479a	7.2a	1283ab	5.8a ^a	8.2ab
‘Goéland’ Pure Dense	0.050a	340ab	4.7ab	1585ab	5.7a ^a	9.9ab
‘Goéland’ Volunteers in ‘Lutin’	0.047a	478a	5.2a	2312a	5.3a ^a	13.5a
‘Goéland’ Dense with Volunteers	0.050a	442a	5.1a	1898a	5.5a ^a	11.3a

Mean in a same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.01 probability level according to the Least Square Difference test.

Table 5. Significant factors in experiment 2001

<i>Variable</i>	End of winter (30/1/01)	F1 (04/04/01)	Harvest (05/07/01)
Aerial DM /plant	V (0.0001)	V (0.0001) V*ST (0.0009)	
Pollen weight /20 flowers		V (0.0001)	
Height	V (0.0001)	V (0.0001) ST (0.0014) B*ST (0.0017)	V (0.0001) V*ST (0.0002) B*ST (0.0001)
Thousand Seed Weight			V (0.0001)
Yield/plant			V (0.0001) V*ST (0.0007)

B: Block; ST : Stand Type ; V : Variety ; N : Nitrogen ; V*ST : Variety-Stand Type interaction

Figure 3. Relation between number of seeds and number of flowers per plant for each variety in 2000.

Upper relation is the adjusted linear for 'Lutin' with its correlation coefficient. Lower relation is the adjusted linear for 'Goéland' with its correlation coefficient. Each point is the mean of the four measures of a treatment (dense/volunteer, 'Goéland'/'Lutin', Pure/Mixed, with/without Nitrogen).

Table 6. Phenotypic characteristics and yield components of crop and volunteer according to variety in 2001

Treatment	Pollen weight (g/20 flowers)	Height at G4	DM. at F1	Number of seeds (per plant)	TSW	Yield (g/plant)
'Extra' Pure Dense	0.0419cdef	145.34a	9.99abc	1691abcdef	5.04a	9.37abcd
'Extra' Volunteers in 'Goéland'	0.0435abcde	137.01ab	11.19a	2279a	5.14a	12.88a
'Extra' Volunteers in 'Lutin'	0.0420cdef	131.58bc	9.68abcd	1898abcd	4.92a	10.13ab
'Capitol' Pure Dense	0.0488a	130.93bc	7.82abcdef	1574abcdefg	4.98a	8.59bcd
'Capitol' Volunteers in 'Goéland'	0.0466abc	126.41bcd	6.86bcdef	1397bcdefgh	5.10a	7.73bcdef
'Capitol' Volunteers in 'Lutin'	0.0479ab	118.14def	9.47abcd	1189efghi	4.86a	6.13cdef
'HRG 563' Pure Dense	0.0472abc	83.65ij	5.71efg	1768abcde	4.06cde	7.90bcdef
'HRG 563' Volunteers in 'Goéland'	0.0427bcdef	78.80j	1.38h	495i	3.93 ^e	2.14g
'HRG 563' Volunteers in 'Lutin'	0.0454abc	89.81hi	3.11gh	850hi	4.22bcde	6.17cdef
F2 'Lutin' Pure Dense	0.0393def	109.15fg	10.16ab	2274a	4.22bcde	10.52ab
F2 'Lutin' Volunteers in 'Goéland'	0.0370f	94.79h	4.41fgh	987fghi	4.23de	4.61fg
F2 'Lutin' Volunteers in 'Lutin'	0.0369f	97.22h	5.04efg	1589abcdefg	4.02bcde	7.05bcdef
'Lutin' Pure Dense	0.0382ef	89.81hi	6.65cdef	1215defgh	4.28bcde	5.70defg
'Lutin' Volunteers in 'Goéland'	0.0380ef	100gh	5.14efg	946ghi	4.32bcde	4.47fg
'Lutin' Dense with Volunteers	0.0384ef	94.77h	5.89efg	1476bcdefgh	4.33bc	7.00cdef
'Goéland' Pure Dense	0.0444abcd	115.35ef	7.21bcdef	1727abcde	4.40bc	9.34bcde
'Goéland' Volunteers in 'Lutin'	0.0468abc	110.68fg	6.78bcdef	1945abc	4.43b	9.53abc
'Goéland' Dense with Volunteers	0.0455abc	117.85def	7.49bcdef	1775abcd	4.45b	8.51bcd

Mean in a same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 probability level according to the Least Square Difference test

plant, on height and on yield. There was no significant interaction between nitrogen at sowing and other factors. Subsequently, treatments with or without nitrogen at sowing were not separated in the analysis, and only the mean was studied.

An interaction between genotype and stand type (volunteer or dense) with an effect on aerial DM per plant appeared in the spring (Table 2). Volunteers in dense stands had a lower DM per plant than control treatments (pure dense stands) before vegetation onset (Table 3). Afterwards, the behaviour of volunteers in dense stands depended on the genotype. 'Goéland' volunteers had a higher DM than control treatments (Table 3), while the opposite was true for 'Lutin'. Root DM and LAI behaved like aerial DM (data not shown) and the ranking of the means was the same. At flowering, LAI of 'Goéland' and 'Lutin' pure dense stands were $3.39\text{m}^2/\text{m}^2$ and $3.22\text{m}^2/\text{m}^2$ respectively.

Almost all along the growth, genotype and stand type had an effect on height. At the beginning of the cycle, 'Lutin' volunteers were slightly higher than 'Goéland' volunteers and dense stands were higher than volunteers (Table 2, Figure 2). But differences in height between treatments mainly began with shoot elongation. At this time, 'Goéland' became significantly higher than 'Lutin'. Competition had an effect on the number of racemes and of flowers. The total number of flowers on a plant is the sum of empty pods and full pods (counting made at G4). Number of seeds per plant and number of flowers per plant are highly correlated within a genotype (Figure 3). 'Goéland' volunteers in 'Lutin' produced as many racemes, flowers and seeds as dense stands of 'Goéland', whereas 'Lutin' volunteers in 'Goéland' produced 4 times less racemes, 12 times less flowers and 37 times less seeds than mean dense stands of 'Lutin' (Table 4).

There was an effect of genotype on pollen weight per 20 flowers and on Thousand Seed Weight (TSW). Pollen weight per 20 flowers of 'Goéland' was significantly higher than that of 'Lutin'. There also was an effect of stand type and of the interaction between genotype and stand type on TSW. 'Lutin' volunteers in 'Goéland' produced smaller seeds than all the other treatments (Table 4). Number of seeds per plant behaved like yield and depended on genotype and on the interaction between genotype and stand type since 'Lutin' volunteers in 'Goéland' also produced less seeds (Table 2 and 4). Pure volunteers of both genotypes had better results for yield per plant (more than 6 times higher than on pure dense stands mean plant) and yield components (160% of the number of ramifications found for pure dense stands mean plant) than dense treatments of the same genotype (data not shown).

Enlargement of the analysis to other cultivars: experiment 2001

To confirm the year 2000 results, 6 genotypes were studied in 2001 with a simpler protocol. To limit intra-seed hole competition, volunteers were sown on a central line.

Pollen weight per 20 flowers and TSW depended only on genotype and there was no significant effect of competition except for the dwarf ('HRG 563') in high dense stand (Table 5). Aerial DM per plant had the same behaviour as in 2000. There was an effect of competition on aerial DM at F1, height at F1 and G4, at least for some genotypes. Dwarf volunteers ('HRG 563') in a tall dense stand ('Goéland') and F2 semi-dwarf descent in dense stands had a significantly lower aerial DM per plant than their control treatment (pure dense stand of the same genotype) (Table 6). As for height, 'Extra', 'Capitol' (tall genotypes) and F2 'Lutin' (semi-dwarf descent) volunteers in 'Lutin' dense stands were smaller than plants in control treatment. F2 'Lutin' volunteers in 'Goéland' stands were also smaller than their control. On the other hand, dwarf volunteers in 'Lutin' dense stands were higher than volunteers in 'Goéland' stands.

Only dwarf plants ('HRG 563') and semi-dwarf descent (F2 'Lutin') had a lower yield and number of seeds than their control when sown as volunteers in 'Goéland' (tall) dense stands. Competition also had an effect on the number of seeds of dwarfs volunteers in 'Lutin' (semi-dwarf).

Modelling intraspecific competition effect on volunteer seed production

Based on our experimental results and on data from the literature (Table 7), a relation between yield and density of plants at the end of winter was first established. The equation most used and easily adapted to explain competition in pure stands is the rectangular hyperbola as studied by Kira *et al.* (1953) cited by Kropff *et al.* (1993).

To minimise the effects of experimental conditions and genotypes on this equation, it was

Table 7. Bibliographical data used to determine the relation between yield and plant density

Bibliographical references	Year of publication	Site	Experiment's year	Variety	Density range
Andersson, B.; Bengtsson, A.	1989	Scania (Sweden)	1980-1985	Herkules Jupiter	49-128 plants/m ²
Leval, D. ; Thore, H.	1988	Loir et Cher (France)	1983		37-114 plants /m ²
Wagner, D.	1999	Dijon, Surgères (France)	1996	CHL36, CHL07	30-175 plants /m ²
Scarisbrick <i>et al.</i>	1982	Wye (United Kingdom)	1979-1981	Rafal	24-126 plants /m ²
Triboi <i>et al.</i>	1983	Clermont-Ferrand (France)	1981	Jet Neuf	20-60 plants /m ²

All densities are measured after winter.

Figure 4. Relation between density of plants per m² and yield per m².
Relative yield is the ratio between yield at the density and yield at 50 plants per m².

established on relative yield. Relative yield, ρ_{rel} , is the ratio of observed yield and yield at 50 plants/m² or the treatment closest from this density, which is never significantly different from maximum yield for the genotype in the experiment.

This equation for intragenotypic competition is:

$$(1) \rho_{rel} = \frac{D}{a + bD}$$

$$\text{and (2) } \rho_{rel} = \frac{R_{obs}}{R_{ref}}$$

and R_{obs} : yield at D plants per m² (for instance in g/m²)

R_{ref} : yield on the same experiment at 50 plants/m² (no restrictive effect on growth) (for instance g/m²).

The SAS NLIN procedure (SAS Institute, 1996) adjusts the parameters of this curve to the data with a 5% confidence interval (Figure 4). The parameters values are :

$$a=3.81 \in [2.70;4.92]$$

$$b=0.96 \in [0.92 ;1.00]$$

A GLM procedure (variance analysis) can measure the significance of this equation. For this equation and these data, $R^2=0.41$ (and the probability of the Fischer test that this model is untrue is 0.0001)

Intergenotypic competition will induce a difference between reality and this monovarietal model. The ratio of real yield per plant of volunteers (Y_{obs} , in g/plant for instance) and yield per plant as calculated by equation (1) (Y_{calc}) measures this difference. Y_{calc} is the estimation of the yield obtained if the two genotypes are as competitive.

$$(1') Y_{calc} = \frac{R_{calc}}{D_1 + D_2} = \frac{R_{ref} * \rho_{rel}}{D_1 + D_2} = \frac{R_{ref}}{a + b(D_1 + D_2)}$$

where - R_{ref} is the yield per m² measured in a pure stand at 50 plants/m² for the volunteer's genotype

- D_1 is the volunteers' plant density per m²

- D_2 is the crop's plant density per m²

For a total plant density of 50 plants per m², the denominator ($a+b(D_1+D_2)$) is close to 50. So that at 50 plants per m², the calculated yield per plant (g/plant) is equal to R_{ref} (g per m²) divided by 50 plants per m².

When the ratio (Y_{obs}/Y_{calc}) is higher than 1, volunteers are more competitive than the crop and vice-versa. Figures 5 and 6 show the relationships between the Y_{obs}/Y_{calc} ratio and the difference in height between volunteer and plant cover. The linear relation (3) between $\ln(Y_{obs}/Y_{calc})$ has a good correlation coefficient (Figure 5). In order to predict the behaviour of volunteers without competition experiments, heights measured on neighbouring pure stands were used. In this case, an exponential relation (equation (4) adjusted with an NLIN procedure of SAS) gives better results (Figure 6).

In both cases, the relation was established from the data of 2000 and 2001.

$$(3) \ln\left(\frac{Y_{obs}}{Y_{calc}}\right) = -0.0144 * (H_2 - H_1) - 0.2272, R^2=0.90$$

$$(4) \ln\left(\frac{Y_{obs}}{Y_{calc}}\right) = 1.85 * (0.84 - \exp(0.011 * (H'_2 - H'_1))), R^2=0.95$$

where H is the height measured on the plot

H' is the height measured on the neighbouring pure stand

₁ is for the volunteers

₂ is for the crop

Discussion

In experiments 2000 and 2001, there was no difference between dense crops be there high volunteers, small volunteers or none in them. On the other hand, in 2000, the dry matter per plant and the yield components of the volunteers in mixed stands were lower than that of the mean plant in pure

Figure 5. Relation between yield per plant and plant height.

Mean data. Heights measured on observed plot. R_{obs} : mean observed volunteer yield; R_{calc} : volunteer yield calculated with equation (1') (modified monovarietal); H_1 : volunteer mean height; H_2 : crop mean height

Figure 6. Relation between yield per plant and plant height.

Mean data. Heights measured on neighbouring pure stand. R_{obs} : mean observed volunteer yield; R_{calc} : volunteer yield calculated with equation (1') (modified monovarietal); H'_1 : volunteer mean height; H'_2 : crop mean height

dense stands for the small genotype and higher for the tall genotype. The same phenomenon is observed on dwarf genotype in 2001. Thus, volunteers seemed to suffer more from competition than the crops.

In 2000, this may have been due to competition between plants of a same seedhole before it was thinned. But in 2001, volunteers were sown on a line to better reproduce “natural” conditions. Also, due to climatic conditions in 2001, differences in height were not as important as in 2000 (differences in height between ‘Extra’ and ‘Lutin’ were 60 cm in 2000 in another experiment on the same field and 30 cm in 2001 in our experiment). And, as equations (3) and (4) point out, difference in height may be more important than absolute height values.

Experiment 2000 pointed out that competition relations between genotypes change during the life cycle. From spring, the change in ranking between treatments shows a change in competition relations. Isolated volunteers have a much higher production per plant than other treatments because of the absence of competition between plants. In dense stands, the LAI values obtained in April 2000 (3.22 to 4.08 m²/m²) enable a mean interception of 95% of the PAR (Photosynthetically Active Radiation), according to the CERES-rapeseed model (Gabrielle *et al.*, 1998), which indicates that competition for light was very intensive. In these stands, loss of density after the end of winter may be due to competition. Volunteers have a different behaviour during spring according to their genotype. Tall volunteers (‘Goéland’) in dwarf dense stand have a faster growth per plant than tall pure stands, whereas dwarf volunteers (‘Lutin’) in tall dense stands have a slower growth than their control. ‘Goéland’ is a tall cultivar and was almost twice as high as ‘Lutin’ and ‘Lutin’ volunteers in ‘Goéland’ could not be seen from the outside of the plot after flowering. As shown by the evolution of dry matter per plant (Table 3), the difference in behaviour between volunteers of the 2 genotypes studied in 2000 begins with the shoot elongation and intensifies when the difference in height between genotypes increases: yield components formed during shoot elongation (number of racemes and of flowers per plant) and after flowering (number of seeds per plant, Thousand Seed Weight) are highly diminished for ‘Lutin’ volunteers under a ‘Goéland’ cover. Whereas ‘Goéland’ volunteers in ‘Lutin’ cover behave the same way as ‘Goéland’ plants in pure dense stand. In 2001, the same behaviour is seen on volunteers of the smallest genotype (‘HRG 563’): when in competition with a ‘Lutin’ or ‘Goéland’ cover, taller than the dwarf, volunteer growth and number of seeds are diminished (Table 6). The F2 descent of ‘Lutin’ shows the same behaviour when in a ‘Goéland’ cover even though its mean height is not significantly different from that of ‘Goéland’. This may be due to the heterogeneity in height observed in F2 populations. The weak production of the volunteers would be due to small plants being highly affected by competition. As Azaïs *et al.* (1986) and Schott *et al.* (1994) have shown on interplot competition, it would seem that height is a major factor in interplant competition in rapeseed.

Unlike the small genotypes, hybrids do not have a specific behaviour. The high growth rate, which is said to be characteristic of these variety type (Buson, 1979), does not seem to exist on ‘Lutin’, maybe because it is also a semi-dwarf variety. As for ‘Extra’, hybrid effect may be seen in its height, which is taken into account in the model.

Experiments 2000 and 2001 were both used to study the relation between competition effect and height. Yield-density relation and both height-yield relations enable us to evaluate the outcome of competition on the production of volunteers in a rapeseed crop, knowing their density and height. Equation (4) in particular is based on height in pure dense stands of both genotype and can be used more easily to predict competition effect. However, the yield-density relation is valid only for densities lower than 150 plants/m². Leach (1999) has shown that, with densities higher than 150 plants/m², global yield of the crop decreased, whereas an hypothesis of equation (2) is that yield stays maximum at maximum density. This equation doesn’t take into account the fact that volunteers can germinate before the crop does. If it is the case, volunteers in dense stands may behave differently than predicted by relation (4) as they may be higher. Azaïs *et al.* (1986) and Schott *et al.* (1994) have found a difference in yield of 0.13t/ha per 10 cm difference in height for two adjacent plots sown with two different cultivars, which is around 4% of a 3.5t/ha potential yield. Equation (3) predicts a yield of the volunteers 86% that of the potential yield for volunteers 10 cm lower than the crop. The difference between the results of equation (3) and Azaïs *et al.* (1986) and Schott *et al.* (1994) may be due to the fact that competition is more intense between a volunteer population and the crop than it is between contiguous plots. The low density of volunteers would account for the limited effect of volunteer genotype on crop behaviour in 2000 and 2001 (less than 5 plants/m²). But the quality of prediction,

whatever the equation used (with height measured on pure (4) or mixed stands (3)) depends on the stability of the difference in height between two genotypes across space and time. This difference between height might be diminished by stress (nitrogen or water stress for example) as was seen in 2001.

Mean height of the genotypes is found in the results of cultivar experimentation (Delbecq *et al.*, 2001), which enables us to use the relation (4) on all cultivars of the catalogue. The difference in height between genotypes measured in our experimentations are close to the mean differences indicated in the available references. For example, mean height difference between 'Extra' and 'Goéland' was 30 cm in experiment 2001 and 25 cm in the reference cultivar experiment (Delbecq *et al.*, op. cit.). Our sampling of cultivars covers the height variation scale found in rapeseed (few cultivars are higher than 'Extra' and no commercialised cultivars are lower than 'HRG 563').

Prediction of competition effect on pollen production was not directly undertaken but other experiments have shown that only the genotype influences pollen production per flower and competition effect is minimal. During our experiments (data not shown) no difference in production between years was found for two genotypes. The previous relations (2) and (4) can be used to predict the yield of plants under competition. Knowing the Thousand Seeds Weight, the number of seeds can then be known and the number of flowers per plant can be deduced with the relation (1). Knowing the pollen production per flower of a given genotype, the effect of competition on pollen production can be estimated: two relations between number of flowers and number of seeds were identified in experiment 2000 but 'Lutin' (half-dwarf) is a new kind of rapeseed and hasn't been agronomically improved. It still has a lower podset than other cultivars (M. Renard, personal communication). Data from other experiments on other genotypes (Leterme, 1985; Morison, unpublished data) show the same behaviour as 'Goéland'. The relation established on 'Goéland' is probably more widely applicable to other genotypes.

These relations have been introduced into a model simulating gene flow in rapeseed in a small agricultural region in time according to cropping systems and genotypes, GENESYS-COLZA (Colbach *et al.*, 2001a, 2001b). This model was used to simulate on an isolated plot a reconversion from an A rapeseed to a B rapeseed. If the B rapeseed is 20 cm higher than the A rapeseed, the contamination level of the first B harvest is only 72% that of the contamination level observed if the A and B rapeseeds have the same height. And if the B rapeseed is more than 60 cm higher than the A rapeseed, the contamination level is only 12% that of the contamination level observed if both rapeseeds have the same height. The cultivation of tall cultivars for specific uses, that do not tolerate contaminations, is seen as a mean to limit these contaminations. On the other hand, one possible strategy to limit harvest contamination risks in following crops by a rapeseed with an unwanted gene may be to introgress this gene in a dwarf genotype. These results may also be of help in determining the tolerance in difference in height between the fertile and sterile plants in varietal associations (80% male sterile plants, 20% male fertile plants). In such an association, the male fertile plants would have to be as tall as the male sterile plants (which are generally tall hybrids) in order to avoid an insufficient pollen production due to competition.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Rennes and Grignon research and experimental units particularly Christine Bouchard, Michel Burban, Richard Gosse, Emilie Desnouveaux and Gilles Renard for technical assistance. This work was financed by CETIOM, INRA (GMO and Environment PIA) and French Ministry for Research.

References

- AMSOL, PROLEA 2001. Dossier de presse "Point colza": Colza les débouchés non alimentaires. 5pp. <http://www.amsol.asso.fr/actualites/nonaliment01.PDF>, 2002-07-24.
- AMSOL PROLEA 2002. Dossier de presse "Point colza": Colza le dynamisme des innovations génétiques conforte l'avenir de la filière. 8pp. <http://www.amsol.asso.fr/actualites/colzadossierselection.pdf>, 2002-07-24.
- Angonin, C. 1995. Compétition de quelques adventices annuelles dans un blé d'hiver: influence de la conduite de

- la fertilisation azotée. PhD Thesis, INA P-G, Paris, 143 pp.
- Azaïs, J. M.; Onillon, J.; Lefort-Buson, M. 1986. Une méthode d'étude des phénomènes de compétition entre génotypes - Application au colza (*Brassica napus* L.). *Agronomie* 6, 601-614.
- Bertheaux, Y. 2001. Elaboration d'un référentiel scientifique et technique permettant de caractériser les produits agricoles et alimentaires garantis "sans OGM". Rapport du groupe 2 du programme de recherche "Pertinence et faisabilité d'une filière 'sans utilisation d'OGM'". INRA/FNSEA 48pp.
- Brown, J.; Brown, A.P. 1996. Gene transfer between canola (*Brassica napus* L. and *Brassica campestris* L.) and related weed species. *Annals of Applied Biology* 129, 513-522.
- Buson, M. 1979. Hétérosis et paramètres génétiques de quelques caractères agronomiques chez le colza oléagineux (*Brassica napus* L.), PhD Thesis, Université Paris 6, Paris.
- Colbach, N.; Clermont-Dauphin, C.; Meynard, J.M. 2001a. GeneSys: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83, 235-253.
- Colbach, N.; Clermont-Dauphin, C.; Meynard, J.M. 2001b. GeneSys: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83, 255-270.
- Cousens, R. 1985. A simple model relating yield loss to weed density. *Annals of Applied Biology* 107, 239-252.
- Delbecq, E.; Schott, J.J.; Blouet, F. 2001. Les variétés du colza oléagineux du Catalogue Officiel Français 2000-2001. GEVES, La Minière 61 pp.
- Ferré, F.; Doré, T.; Dejoux, J.F.; Meynard, J.M.; Grandeau, G. 2000. Evolution quantitative de la flore adventice dicotylédone au cours du cycle du colza pour différentes dates de semis et niveaux d'azote disponibles au semis. In "11e Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes", Dijon, France.
- Gabrielle, B.; Denory, P.; Gosse, G.; Justes, E.; Andersen, M.N. 1998. A model of leaf area development and senescence for winter oilseed rape. *Field Crops Research* 57, 209-222.
- Kira, T.; Ogawa, H.; Sakazaki, N. 1953. Intraspecific competition among higher plants. I. Competition-yield-density interrelationships in regularly dispersed populations. *Journal of Institute for Polytechnics, Osaka City University, Series D* 4, 1-16.
- Kropff, M. J.; van Laar, H.H. 1993. Modelling Crop-Weed interactions, IRRI, CAB International.
- Kropff, M.J.; Spitters, C.J.T. 1991. A simple model of crop loss by weed competition from early observations on relative leaf area of the weeds. *Weed Research* 31, 97-105.
- Leach, J. E.; Stevenson, H.J.; Rainbow, A.J.; Mullen, L.A. 1999. Effects of high plant populations on the growth and yield of winter oilseed rape (*Brassica napus*). *Journal of Agricultural Science* 132, 173-180.
- Le Bail, M.; Meynard, J.M. 2001. Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ. Rapport du groupe 3 du programme de recherche "Pertinence et faisabilité d'une filière 'sans utilisation d'OGM'". INRA/FNSEA 57 pp.
- Lefort-Buson, M.; Dattée, Y. 1985. Etude de l'hétérosis chez le colza oléagineux d'hiver (*Brassica napus* L.) I. Comparaison de deux populations, l'une homozygote et l'autre hétérozygote. *Agronomie* 5, 101-110.
- Leterme, P. 1985. Modélisation de la croissance et de la production des siliques chez le colza d'hiver ; application à l'interprétation de résultats de rendements, PhD Thesis, INA P-G, Paris, 112 pp.
- Noussair, C.; Robin, S.; Ruffieux, B. 2001. Comportement des consommateurs face aux aliments "avec OGM" et "sans OGM": une étude expérimentale. *Economie Rurale* 266, 30-44.
- Olsson, G. 1960. Self-incompatibility and outcrossing in rape and white mustard. *Hereditas* 46, 241-252.
- Pessel, F.; Lecomte, J. 2000. Vers une compréhension de la dynamique des populations de colza « échappées » des cultures à l'échelle d'une région agricole. *OCL Oléagineux, Corps gras, Lipides* 7, 324-328.
- Rieger, M.A.; Lamond, M.; Preston, C.; Powles, S.B.; Roush, R.T. 2002. Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science*, 296:2386-2388.
- SAS Institute 1996. SAS/STAT User's Guide, Version 6., SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Sauermann, W. 1993. Einflüsse auf den Glucosinolatgehalt - Ergebnisse 2-jähriger Untersuchungen aus den Landessortenversuchen. *Raps* 11 Jg., 82-86.
- Schott, J.-J.; Bar-Hen, A.; Monod, H.; Blouet, F. 1994. Compétition entre génotypes dans des essais variétaux de colza oléagineux d'hiver. *Cahiers Agricultures* 3, 377-383.
- Vaughan, J. G.; Phelan, J.R.; Denford, K.E. 1976. Seed studies in the Cruciferae. In: *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, eds. J. G. M. L. Vaughan, A.J.; Jones, B.M.G. Academic Press: 119-144.

Figure 2.13. Répartition des hauteurs de plantes

Tableau 2.13. Caractéristiques moyennes des pieds de F2 observés selon leur classe de hauteur

Hauteur F2 par classe	Nombre d'individus	Hauteur moyenne (cm)	Stérilité F2	Date Floraison F2	Rendement F2 (g/plante)
<60 cm	12	53	17 %	08 avril	1.6
60-80 cm	21	74	6 %	07 avril	2.2
80-100 cm	49	92	16 %	04 avril	5.0
100-120 cm	41	109	13 %	02 avril	9.1
>120 cm	19	129	16 %	03 avril	12.8
Moyenne/Total	142	95.8	13 %	04 avril	6.7
Lutin pur	-	89	-	31 mars	5.2
F2 Lutin pur	-	110	-	29 mars	10.5

Figure 2.14. Relation entre hauteur (cm) et rendement (g/plante) des F2 de Lutin par classe de hauteur.

2.2. Etude de la F2 de l'hybride demi-nain (schéma de l'essai p.63)

La hauteur des plantes de Lutin, homogène sur l'essai, était en moyenne de 89 cm. La hauteur des plantes F2 variait entre 28 cm et 160 cm. Les plantes F2 peuvent être regroupées par classe de hauteur (*Figure 2.13*). Les plantes les plus basses ont eu tendance à fleurir en premier (*Tableau 2.12*). A part pour la classe de hauteur 60-80 cm, les proportions de plantes mâles stériles sont à peu près les mêmes quelle que soit la classe de hauteur. La production par plante est d'autant plus faible que les plantes F2 sont basses (R^2 de 0.98) (*Figure 2.14*). De même, il y a une forte corrélation entre la hauteur des plantes F2 et le PMG (poids de mille grains) (*Figure 2.15*), bien que les différences entre classes de hauteur ne soient pas significatives.

Les repousses F2 souffrent plus ou moins de la compétition avec le couvert de Lutin selon la différence de hauteur entre couvert et repousse. On retrouve bien, quelle que soit la classe de hauteur de ces plantes F2, la relation entre différence de hauteur couvert-repousse et rendement par plante développée dans la partie compétition pour les hauteurs mesurées sur la parcelle (*Figure 2.16*).

3. Conclusion partielle

Les expérimentations mises en place en 2000 et 2001 ont permis de modéliser l'effet de la hauteur et de la densité sur la production de pollen et de graines des repousses de colza dans un couvert différent. Elles ont mis en évidence l'importance de la différence de hauteur entre le couvert et la repousse. Ces équations devront être adaptées pour être intégrées et utilisées par GENESYS-COLZA, surtout si plus de deux génotypes sont en présence dans une parcelle.

Pour prendre en compte la compétition dans le modèle, il faudra non seulement intégrer de nouvelles équations, basées sur celles élaborées ici, mais aussi de nouveaux gènes pour simuler un caractère quantitatif : la hauteur.

La compétition intervariétale n'a été étudiée que pour des repousses dans une culture de colza, mais il existe une autre situation de compétition intervariétale qui a été rencontrée au cours de la thèse : la culture d'associations variétales. Les associations variétales étudiées au cours de la thèse étaient composées à 80% d'hybrides mâles stériles et à 20% d'une lignée mâle fertile. En 2000, dans l'association variétale Synergy, les colzas mâles fertiles (lignée Falcon) étaient plus compétitifs que le colza mâle stérile. En effet, les mâles fertiles produisaient plus de pollen et de graines dans l'association variétale qu'en culture pure (135% en association variétale par rapport à la culture pure). Les résultats trouvés sur l'association variétale Standy en 2001 étaient différents. Le colza mâle fertile (CMB1039) était moins productif en graines dans l'association variétale qu'en culture pure (50% en association variétale par rapport à la culture pure). Et pourtant, les deux années, les plantes mâles fertiles paraissaient plus petites que les colzas mâles stériles (les différences de hauteur n'ont pas été mesurées).

Ces résultats, couplés à ceux des essais compétition montrent l'importance d'associer à des colzas mâles stériles, des colzas mâles fertiles suffisamment hauts pour ne pas souffrir de la compétition et produire le pollen nécessaire à la fécondation des fleurs mâles stériles de l'association variétale.

Figure 2.15. Relation entre hauteur (cm) et PMG (g) des F2 de Lutin par classe de hauteur.

Figure 2.16. Relation entre rendement moyen par classe de hauteur (g/plante) et hauteur moyenne par classe de hauteur des F2 de Lutin.

Rdtréel: rendement moyen par plante, Rdt théorique: rendement calculé avec l'équation (1') (article sur la compétition paragraphe III.3.1). Le couvert est Lutin et les repousses sont des F2 de Lutin. Les résultats calculés l'ont été avec l'équation (3) développée dans l'article compétition.

Chapitre 3. Effets des caractéristiques variétales sur les flux de gènes

L'objectif de ce dernier chapitre est d'analyser à l'aide du modèle GENESYS-COLZA l'influence des différents caractères variétaux sur les flux de gènes entre populations de colza, en particulier sur la contamination des récoltes. Pour cela, nous aborderons successivement les modifications du modèle GENESYS-COLZA nécessaires à la prise en compte des caractères variétaux. Puis des simulations sous GENESYS-COLZA serviront à déterminer les paramètres génotypiques auxquels le modèle est le plus sensible. Enfin, le modèle sera utilisé pour identifier les intérêts et risques apportés par différents types variétaux, existants ou virtuels.

I. Modification de GENESYS-COLZA

La précédente version de GENESYS-COLZA ne prenait en compte qu'un seul gène : le transgène A/a possédant deux allèles, A (dominant) et a (récessif), l'utilisateur décidant au début de chaque simulation de l'allèle apportant la résistance.

Ce gène A/a peut agir (décision de l'utilisateur en début de simulation) sur le taux d'autogamie de chaque génotype (AA, Aa et aa), mais aussi sur leur taux d'émission de pollen et leur taux de production de graines dans un champ de colza ou dans d'autres cultures. Cette possibilité de choix des valeurs des caractères permet de traduire l'éventualité d'un coût de la résistance en terme de production de pollen et de graines. Elle permet également de suivre les conséquences de l'association, dans un même génotype transformé, de plusieurs caractères liés entre eux. Cependant un lien indissoluble entre les caractères du colza transformé n'est pas très réaliste. Il n'est pas possible de simuler l'influence de caractères qui au départ ne sont pas associés au transgène, et qui pourraient l'être dans certains génotypes à la suite de croisements.

L'enjeu de l'introduction de nouveaux gènes dans le modèle est de pouvoir analyser les conséquences de la création par le jeu de la sélection, de combinaisons génétiques originales, dont la fitness peut être très différente de celle des génotypes cultivés. Trois nouveaux caractères - la cléistogamie, la stérilité ou fertilité mâle et la hauteur – ont été introduits le plus simplement possible dans le modèle. Les nouveaux gènes intégrés sont au nombre de 5.

1. Cléistogamie

La cléistogamie est un caractère oligogénique. Des recherches pour identifier et cloner le gène majeur sont en cours à l'INRA de Rennes dans le cadre de Génoplante (Pierre *et al.*, 1999a). Un gène a un effet majeur ; c'est son effet que l'on observerait au champ. C'est pourquoi, dans un but de simplicité, la cléistogamie a été simulée par un gène C/c à deux allèles C et c à effet additif, C apportant la cléistogamie. C'est-à-dire qu'un colza CC est cléistogame à 100%, un cléistogame Cc a majoritairement des fleurs à demi-ouvertes et un

colza cc a des fleurs complètement ouvertes (colza conventionnel). Nous faisons l'hypothèse que ce caractère va influencer à la fois sur le taux d'autogamie et sur l'émission de pollen. En effet, on peut espérer qu'un colza cléistogame stable puisse avoir un taux d'autogamie plus élevé qu'un colza classique, même si les expérimentations effectuées n'ont pu le montrer. Nous prendrons donc en considération un effet du gène C/c sur le taux d'autogamie de la plante.

$$(3.1) \quad TxAutog_i = TxAutogCl_i * EffetAutoTr_i$$

où TxAutog_i est le taux d'autogamie du génotype i
TxAutogCl_i dépend du nombre d'allèles C et c présents dans le génotype i
EffetAutoTr_i dépend du nombre d'allèles A et a présents dans le génotype i et de la valeur fixée par l'utilisateur en début de simulation.

Les valeurs de TxAutogCl_i sont des paramètres variétaux du modèle et sont fixées aux extrêmes envisageables pour le cléistogame et le colza conventionnel (Tableau 3.1) en attendant des mesures plus précises sur ces colzas. Les allèles C et c sont supposés avoir un effet additif et la valeur pour le génotype Cc est fixée comme la moyenne de CC et cc.

Tableau 3.1. Valeur du paramètre d'autogamie lié au gène C/c

	Génotype		
	CC	Cc	cc
TxAutogCl _i	0.96	0.83	0.7

Les valeurs de EffetAutoTr_i sont des variables d'entrée du modèle et sont par défaut 1 pour les génotypes AA, Aa et aa.

La cléistogamie va aussi influencer sur l'émission de pollen. Il faut donc intégrer un terme supplémentaire à l'équation donnant la proportion de fleurs de génotype i dont le pollen est dispersé dans la parcelle n le jour j.

Cette proportion, NPOM2_{ijn}, est calculée comme suit :

$$(3.2) \quad NPOM2_{ijn} = \sum_{m=1}^{NP} (TxDisp_{mn} * EffetPollTr_i * NFM2_{ijm})$$

où TxDisp_{mn} est la proportion de pollen de la parcelle m dispersé vers 1 m² moyen de la parcelle n. Elle dépend de l'agencement des cultures, c'est-à-dire de l'assolement ;

EffetPollTr_i est la capacité de production relative de pollen du génotype i selon le nombre d'allèles A et a (fixé par l'utilisateur)

NFM2_{ijm} est le nombre de fleurs par m² de génotype i de la parcelle m le jour j
m variant de 1 à NP où NP est le nombre de parcelles du parcellaire

La proportion de pollen de chaque génotype sur une parcelle est simulée au jour le jour. Elle dépend du nombre de parcelles ayant des plantes de génotype i, de la distance entre ces parcelles émettrices indicées m et la parcelle n (réceptrice) et pour chaque parcelle, du nombre de fleurs par m² de génotype i ouvertes ce jour là.

La cléistogamie va influencer sur le taux de dispersion du pollen de chaque génotype i . Une fleur de génotype CC émettra moins de pollen qu'une fleur de génotype cc, cela a été montré lors des expérimentations sur la cléistogamie. Pour tenir compte de cet effet, un terme supplémentaire a été introduit dans l'équation précédente. On a alors :

$$(3.3) \quad NPOM2_{ijn} = \sum_{m=1}^{NP} (TxDisp_{mn} * EffetPollCl_i * EffetPollTr_i * NFM2_{ijn})$$

où $EffetPollCl_i$ dépend du nombre d'allèles C et c du génotype i et varie entre 0 et 1.

Pour fixer la valeur de $EffetPollCl_i$ pour le génotype Cc, les deux allèles C et c sont supposés à effet additif pour l'émission de pollen, la valeur pour Cc est égale à la moyenne des valeurs pour CC et cc (déduites des expérimentations effectuées en champ) (Chapitre 2, paragraphe II) (Tableau 3.2). Le colza CC émet donc seulement 0.1 fois la quantité de pollen émise par un colza cc.

Tableau 3.2. Valeur du paramètre d'émission de pollen lié au gène C/c

	Génotype		
	CC	Cc	cc
$TxPollenCl_i$	0.1	0.55	1.0

Les valeurs des paramètres adoptées dans la suite du mémoire pour les trois génotypes CC, Cc et cc ont été déduites des expérimentations effectuées en 2000 et 2001.

En résumé, un nouveau gène a été ajouté au modèle, C/c. Un nouveau module de dispersion du pollen a été ajouté et deux nouveaux termes, $TxAutogCl_i$ et $EffetPollCl_i$, ont été intégrés au modèle. Les valeurs de ces paramètres sont fixées et ne sont pas à entrer par l'utilisateur.

2. Stérilité mâle

La stérilité mâle est plus délicate à prendre en compte car il existe plusieurs systèmes d'hybridation. Le système intégré dans le modèle est conçu sur le principe du système Ogu-INRA. Deux gènes sont considérés : un gène cytoplasmique (mitochondrial) de stérilité mâle MS/mf et un gène nucléaire de restauration de la fertilité Rf/rf.

Le gène MS/mf a deux allèles MS et mf, le premier apportant la stérilité mâle et le deuxième ne l'apportant pas. Son hérédité est maternelle car il s'agit d'un gène cytoplasmique. Le second gène Rf/rf possède aussi deux allèles Rf et rf. Rf restaure la fertilité de plante quand il est présent en un ou deux exemplaires (dominance).

Tableau 3.3. Relation entre présence des allèles et fertilité des plantes

	RfRf	Rfrf	rfrf
MS	Fertile	Fertile	Stérile
mf	Fertile	Fertile	Fertile

Tableau 3.4. Valeur du paramètre de production de graines lié aux gènes MS/mf et Rf/rf

	Génotype					
	mfRfRf	mfRfrf	mfrfrf	MSRfRf	MSRfrf	MSrfrf
EffetMS _i	1	1	1	1	1	1.1

Tableau 3.5. Génotypes possibles pour la hauteur

	Génotypes		
	H1H1	H1h1	h1h1
H2H2	H1H1H2H2	H1h1H2H2	h1h1H2H2
H2h2	H1H1H2h2	H1h1H2h2	h1h1H2h2
h2h2	H1H1h2h2	H1h1h2h2	h1h1h2h2

La correspondance entre génotypes et fertilité mâle est donnée dans le *tableau 3.3*.

Si le colza est stérile, il ne produit pas de pollen et pour ce génotype i :

$$(3.4) \quad \boxed{NPOM2_{ijn} = 0}$$

Au contraire, si le génotype i est fertile, il l'est à 100% et :

$$(3.3) \quad \boxed{NPOM2_{ijn} = \sum_{m=1}^{NP} (TxDisp_{mn} * TxPollenCl_i * EffetPollTr_i * NFM2_{ijn})}$$

Il est supposé, aux dires d'experts, qu'un colza mâle stérile (donc de génotype MSrfrf) est plus productif en graines qu'un colza fertile d'environ 10%. Pour en tenir compte, un terme supplémentaire a été intégré, qui dépend des génotypes pour les gènes MS/mf et Rf/rf, dans l'équation déterminant le nombre de graines par m^2 pour une plante du génotype i :

$$(3.5) \quad \boxed{NGM2_i = EffetMS_i * NGM2th_i}$$

Où : EffetMS _{i} dépend du génotype de i pour les gènes MS/mf et Rf/rf
 NGM2th _{i} est le nombre de graines par m^2 théorique (sans l'effet de la stérilité mâle)

La stérilité mâle influe comme la cléistogamie sur deux phénomènes différents : l'émission de pollen et la production de graines. Les valeurs des paramètres ajoutés ont été déterminés sur avis d'experts et ne sont pas modifiables par l'utilisateur (*Tableau 3.4*).

3. Compétition

Pour tenir compte de la compétition dans le modèle, il a fallu intégrer de nouveaux gènes, mais aussi de nouvelles équations.

3.1. Nouveaux gènes

Les essais « compétition » ont permis de déterminer le caractère ayant le plus d'influence sur la compétition entre génotypes de colza : il s'agit de la hauteur, caractère quantitatif déterminé par plusieurs gènes. Afin de ne pas trop accroître la complexité du modèle, nous avons choisi de modéliser la hauteur par 2 gènes H1/h1 et H2/h2 possédant chacun deux allèles H et h. 9 génotypes différents sont alors possibles (*Tableau 3.5*).

Dans ce modèle, la présence d'un allèle h diminue la hauteur tandis que celle d'un allèle H l'augmente. Les 2 gènes H1/h1 et H2/h2 ont un effet additif sur la hauteur et les allèles H et h sont à effet additif.

On peut alors distinguer 5 classes de hauteur selon le nombre d'allèles H possédé par la plante :

- 0H la plante est naine (environ 90 cm), ce qui correspond à la lignée HRG 563 étudiée

Tableau 3.6. Correspondance entre les génotypes et la hauteur.

Classe	Hauteur	Génotype possible
0H	90 cm	h1h1h2h2
1H	117.5 cm	H1h1h2h2 h1h1H2h2
2H	145 cm	H1h1H2h2 H1H1h2h2 h1h1H2H2
3H	172.5 cm	H1H1H2h2 H1h1H2H2
4H	200 cm	H1H1H2H2

Figure 3.1. Adéquation entre la relation (3.8) et les données observées en 2000 et 2001
 Les données expérimentales sont signalées par des points rouges et l'ajustement calculé par l'équation (3.8) par une ligne bleue.

au chapitre 2 ;

- 1H la plante est demi-naine (environ 120 cm)), ce qui correspond à Lutin étudié au chapitre 2 ;

- 2H la plante est normale, mais basse (environ 145 cm)), ce qui correspond à Goéland étudié au chapitre 2 ;

- 3H la plante est normale, mais haute (environ 170 cm)), ce qui correspond à la lignée Capitot étudié au chapitre 2 ;

- 4H la plante est très haute (environ 200 cm).), ce qui correspond à Extra étudié au chapitre 2.

Cette répartition permet de rendre compte de toutes les variétés existantes sur le marché ou en cours de développement. Les paramètres de ce caractère variétal déterminent la hauteur en fonction du nombre d'allèles H (*Tableau 3.6*). Ils pourront ensuite être modifiés si les variétés commercialisées évoluent.

3.2. Nouvelles équations

Les équations développées dans le chapitre 2 ont l'inconvénient de ne permettre de prévoir que le comportement des repousses de colza dans une culture de colza. Il faut élargir le domaine d'application de ces équations :

- aux cultures de colza comprenant des densités variables de repousses de plusieurs génotypes ;

- aux repousses de colza présentes dans les jachères repousses ;

Les équations n'ont pas pu être adaptées aux autres types de jachères, aux bordures ou aux cultures autres que le colza à cause du manque de données pertinentes. Dans ces cas, les anciennes équations ont été conservées.

3.2.1. En culture de colza

Pour étendre aux cultures de colza les équations développées pour les repousses, nous proposons de modéliser le comportement de tous les génotypes de l'association en fonction de leur différence de hauteur à la hauteur moyenne du couvert.

On appelle hauteur du couvert la moyenne des hauteurs des génotypes présents dans la parcelle pondérée par la densité de chacun.

$$(3.6) \quad H_{couv} = \frac{\sum_{i=1}^n H_i * D_i}{\sum_{i=1}^n D_i}$$

où : H_i est la hauteur du génotype i

D_i est sa densité

Il y a n génotypes différents présents sur la parcelle

Cette notion peut s'étendre à des cultures de colza où plus de deux génotypes sont présents ou à des jachères repousses. En appliquant les équations (1') et (4) de l'article du chapitre 2 pour les repousses à la fois aux cultures et aux repousses, on obtient :

$$(3.7) \quad Rth_i = \frac{k_i}{a + b * \sum_{j=1}^n D_j}$$

où Rth_i est le rendement en g/plante du génotype i en culture pure à la densité $\sum_{j=1}^n D_j$

k_i est le rendement en g/m² en culture pure à la densité 49 pieds/m²

D_j est la densité de plantes de génotype j par m² sur la parcelle (n génotypes présents)

a est en plantes/m²

b est sans dimension

et :

$$(3.8) \quad \ln \frac{R_i}{Rth_i} = \alpha * (1 - \exp[\beta * (H_{couv} - H_i)])$$

où R_i est le rendement réel du génotype i en g/plante sur la parcelle

H_{couv} est la hauteur moyenne du couvert en cm calculé avec l'équation (3.6)

H_i est la hauteur en cm du génotype i

α (sans dimension) et β (en cm⁻¹) sont deux paramètres déterminés grâce aux expérimentations

En estimant les paramètres sur les données bibliographiques et issues des expérimentations (a et b sont égaux aux valeurs estimées au chapitre 2), on obtient :

$$\alpha = 0.1213$$

$$\beta = .0727$$

La courbe d'ajustement et les données sont représentées sur la *figure 3.1*. Le coefficient de corrélation corrigé entre les données expérimentales et les données calculées par l'équation (3.8) est de 0.56.

Dans l'équation (3.7), k_i traduit le potentiel de rendement du génotype i. Cependant, les rendements des variétés de colza commercialisées ne varient que relativement peu (10% environ, voir le chapitre 1). Le rendement est également un caractère quantitatif, c'est-à-dire qu'il faudrait intégrer au moins 2 nouveaux gènes dans GENESYS-COLZA pour en rendre compte. Il y aurait alors 4374 génotypes possibles pour lesquels il faudrait calculer la production de fleurs, de pollen et de graines pour chaque parcelle et chaque année simulée. Nous avons considéré que l'accroissement des temps de calcul lié à l'introduction de deux gènes de rendement ne se justifiait pas. La valeur des k_i a donc été fixée à une constante, moyenne des k_i sur les expérimentations effectuées en 2000 et 2001 (Chapitre 2, paragraphe III).

$$(3.9) \quad k = \frac{\sum_{i=1}^n k_i}{n} = X$$

Pour les mêmes raisons, le poids de mille grains (PMG), caractère dépendant à la fois du génotype, de l'environnement et de l'interaction entre les deux a été fixé à une valeur de 5g pour tous les génotypes i.

Les nombres de graines et de fleurs par plante sont ensuite déduits du rendement par plante.

Cependant, le modèle fonctionne sur le nombre d'individus par m² et en particulier le nombre de fleurs et de graines produites par m², il faut donc multiplier les résultats par plante par le nombre d'individus par m².

$$(3.10) \quad NGP_i = \frac{R_i}{PMG} \quad \text{et} \quad (3.11) \quad NGM2_i = NGP_i * NPM2_i$$

où NGP_i est le nombre de graines par plante de génotype i dans la parcelle étudiée
 $NGM2_i$ est le nombre de graines par m² de génotype i dans la parcelle étudiée
 $NPM2_i$ est le nombre de plantes de génotype i sur la parcelle étudiée

Dans le chapitre 2, la relation entre le nombre de fleurs par plante et le nombre de graines par plante a été étudiée (Chapitre 2, paragraphe III). Nous avons fait l'hypothèse que la différence de pente de cette relation entre le Lutin (demi-nain étudié dans les essais compétition) et Goéland était due à la sélection plus poussée dont était issue Goéland. Cependant, en l'absence de confirmation de cette hypothèse qui nécessiterait une expérimentation assez lourde, l'équation utilisée pour le modèle est établie sur les données de 3 variétés : Lutin et Goéland (essais compétition) et Jet Neuf (Leterme, 1985), sans différenciation génotypique.

$$(3.12) \quad NFP_i = c * NGP_i + d \quad \text{et} \quad (3.13) \quad NFM2_i = NFP_i * NPM2_i$$

où NFP_i est le nombre de fleurs par plante de génotype i dans la parcelle étudiée
 $NFM2_i$ est le nombre de fleurs par m² de génotype i dans la parcelle étudiée
c est l'inverse du nombre de graines par fleur fécondée (inverse du taux de nouaison)
d est le nombre moyen de fleurs non fécondées

On a c=158.7 et d=0.1308 pour une corrélation de 0.88 entre données expérimentales et données simulées.

Tous ces résultats (rendement, nombre de graines, nombre de fleurs) découlent les uns des autres et le seul effet variétal intégré reste la hauteur, c'est-à-dire que deux repousses appartenant à la même classe de hauteur auront, dans un peuplement cultivé donné, le même rendement par plante, le même nombre de graines et de fleurs par plante...

3.2.2. En jachère repousses

Le principe du modèle précédent est conservé dans les jachères repousses. On suppose simplement qu'un broyage va changer le nombre potentiel de fleurs et de graines par m². Les paramètres intervenant dans ce cas ont été mesurés par C. Clermont-Dauphin sur différents essais pour la version précédente de GENESYS-COLZA (Colbach et al, 2001a, 2001b). Ces paramètres ne sont pas changés dans la nouvelle version de GENESYS-COLZA.

La floraison est normale jusqu'au broyage, c'est-à-dire que le nombre de pollinisateurs n'est pas influencé (NPOM2_{ijn} génotype i le jour j dispersant du pollen vers la parcelle n) puis augmente d'un facteur 1.22 après un premier broyage (floraison de toutes les ramifications secondaires) puis diminue d'un facteur 0.0621 après un deuxième broyage (Tableau 3.7).

Tableau 3.7. Effet du broyage sur la production de fleurs et de graines par plante

Après un	Effet du broyage sur la production de	
	fleurs	graines
1 ^{er} broyage	1.22	0.70
2 ^e broyage	0.0621	0.14

Les équations concernées deviennent :

$$(3.14) \quad NFM2_{ni} = EffetBroyF_n * NFP_{in} * NPM2_{in}$$

$$(3.15) \quad NGM2_{ni} = EffetBroyG_n * NGP_{in} * NPM2_{in}$$

où NFM2_{in} est le nombre de fleurs de génotype i par m² dans la parcelle n
 NGM2_{in} est le nombre de graines de génotype i par m² dans la parcelle n
 NPM2_{in} est le nombre de plantes de génotype i par m² dans la parcelle n
 NFP2_{in} est le nombre de fleurs par plante de génotype i dans la parcelle n
 NGP2_{in} est le nombre de graines par plante de génotype i dans la parcelle n
 EffetBroyF_n est l'effet du broyage sur la production de fleurs dans la parcelle n
 EffetBroyG_n est l'effet du broyage sur la production de graines dans la parcelle n

3.2.3. Dans les autres cas

Les anciennes équations de compétition sont conservées dans les cultures d'hiver et les cultures de printemps car le manque de données expérimentales n'a pas permis d'adapter l'équation de compétition à ces contextes.

La compétition dans ces cultures dépend donc uniquement de la densité de pieds par m². Il n'y a pas de différence de compétitivité vis-à-vis des autres espèces entre variétés de colza. En effet, la compétition interspécifique dépend beaucoup des dates relatives de début de montaison. Le colza monte avant le blé ou l'orge, quelle que soit la variété de colza considérée, et sera plus haut que ces cultures. Un équivalent densité est calculé pour les autres espèces (blé, orge,...). Ces coefficients d'équivalence de nombre de plantes dépendent de l'espèce et sont liés à la compétitivité relative des différentes espèces. Cette compétitivité dépend de leur cycle végétatif, de leur hauteur et de l'indice foliaire par plante. L'effet variété

sur tous ces caractères est secondaire par rapport à l'effet espèce. Dans le modèle, un pied de blé est considéré comme 0.3125 pied de colza et un pied de trèfle comme 0.1923 pied de colza. Ceci permet de calculer la densité équivalente en colza sur la parcelle et d'en déduire la production de fleurs et de graines par plante sur la parcelle sous l'effet de la densité (Colbach *et al.*, 2001a, 2001b).

4. Hérité des caractères

À la floraison, chaque plante va produire un certain nombre de graines ; ce nombre est déterminé par son génotype, celui des plantes voisines et leurs densités grâce aux équations de compétition. Le génotype des graines va, lui, être déterminé par le génotype de la plante et celui des pieds de colza voisins susceptibles de la féconder.

Par la modélisation du nombre de descendants de chaque génotype par m², nous distinguons dans la suite du texte les graines produites par autogamie de celles produites par allogamie.

Soit : D le génotype de la graine produite, une combinaison donnée des gènes A, H₁, H₂, C, Rf et MS ;

M, le génotype maternel, une combinaison quelconque de tous les gènes ;

P, le génotype paternel, combinaison quelconque de tous les gènes.

$$D = \begin{bmatrix} \alpha_1 A & \alpha_3 H_1 & \alpha_5 H_2 & \alpha_7 C & \alpha_9 MS & \alpha_{11} Rf \\ \alpha_2 a & \alpha_4 h_1 & \alpha_6 h_2 & \alpha_8 c & \alpha_{10} mf & \alpha_{12} rf \end{bmatrix}$$

où α_1 à α_{12} (sauf α_9 et α_{10}) ont une valeur de 0, 1 ou 2, la somme des α_i sur une colonne étant égale à 2. α_9 et α_{10} ont une valeur de 0 ou 1 et la somme des deux est égale à 1.

Nous faisons l'hypothèse que chaque gène est transmis indépendamment des autres. Au début du calcul, le nombre de graines par m² du génotype D (NGM²_D) est nul.

Graines issues d'allogamie

Dans le cas des graines issues d'allofécondation, le nombre de graines de génotype D produites par m² est le produit, pour chaque gène, pour chaque génotype maternel et paternel possibles, du taux d'allogamie maternel multiplié par la probabilité que la fécondation d'une plante M par une plante P donne une plante D, multiplié par la proportion de pollen P présent, multiplié par la proportion de plantes M par m², multiplié par le nombre de graines produites par plante M.

Pour chaque génotype, le calcul est donc :

$$(3.16) \quad NDM_2 = \prod_{g=0}^{nbgènes} (1 - TxAut_g) * P(Dg/Mg \cap Pg) * NPM_2 * NGP_M * \frac{NPOM_2}{NPOM}$$

Pour chaque gène nucléaire (A, H₁, H₂, C ou R), on peut calculer la probabilité d'avoir un descendant D d'un génotype donné pour le gène g connaissant les génotypes maternel (M) et

Tableau 3.8. Probabilité d'avoir un descendant de génotype donnée pour le gène g pour les gènes nucléaires

Mère (Mg)	Père (Pg)	Descendant (Dg)		
		GG	Gg	gg
GG	GG	1	0	0
	Gg	0.5	0.5	0
	gg	0	1	0
Gg	GG	0.5	0.5	0
	Gg	0.25	0.5	0.25
	gg	0	0.5	0.5
gg	GG	0	1	0
	Gg	0	0.5	0.5
	gg	0	0	1

Tableau 3.9. Probabilité d'avoir un descendant de génotype donné pour le gène g pour le gène cytoplasmique

Mère (Mg)	Descendant (Dg)	
	MS	mf
MS	1	0
mf	0	1

Tableau 3.10. Récapitulatif des gènes intégrés dans le modèle GENESYS-COLZA

Gène	Génotypes possibles	Effet sur
Transgène	AA Aa aa	Résistance à l'herbicide Emission de pollen Taux d'autogamie Production de graines
Cléistogamie	CC Cc cc	Emission de pollen Taux d'autogamie
Stérilité mâle/restauration	MSRfRf MSRfRf MSrfrf MfRfRf MfRfrf mfrfrf	Emission de pollen Production de graines
Hauteur	h1h1h2h2 H1h1h2h2 h1h1H2h2 H1H1h2h2 h1h1H2H2 H1h1H2h2 H1H1H2h2 H1h1H2H2 H1H1H2H2	Production de fleurs Production de graines

Tableau 3.11. Récapitulatif des valeurs des paramètres des nouvelles équations de GENESYS-COLZA

Équation concernée	Paramètre	Valeur (unités)	Déduite de
Rendement potentiel par plante	α	2.46 (plantes.m ⁻²)	Bibliographie et expérimentation
	β	0.95	
	k	340.31 (g.m ⁻²)	
Rendement réel par plante	a	1.0729	Expérimentation
	b	61.7189 (cm ⁻¹)	
Nombre de graines par plante	PMG	0.005 (g)	Expérimentation
Nombre de fleurs par plante	c	158.7 (fleurs.plantes ⁻¹)	Bibliographie et expérimentation
	d	0.1308 (fleurs.graines ⁻¹)	

paternel (P) pour le gène g. Cette probabilité est notée $P(Dg/Mg \cap Pg)$ (Tableau 3.8).

Pour le gène cytoplasmique, la transmission est maternelle et $P(Dg/Mg \cap Pg)$ est en fait égal à $P(Dg/Mg)$ puisque, quel que soit le génotype paternel, le génotype du descendant est celui de la mère (Tableau 3.9).

Graines issues d'autogamie

Pour les graines issues d'autogamie, le principe de calcul est le même, mais les génotypes maternel et paternel sont identiques.

$$(3.17) \quad NDM2_D = \prod_{g=0}^{nbgènes} TxAuto_M * P(Dg / Mg) * NPM2_M * NGP_M$$

Ces deux équations nous permettent de calculer le nombre de graines de chaque génotype produites par m² qui est la somme des graines produites par allofécondation et des graines produites par autofécondation.

5. Conclusion partielle

Il y a donc (Tableau 3.10) :

- 3 génotypes possibles pour le transgène A/a,
- 3 pour le gène de cléistogamie C/c,
- 2 pour le gène de stérilité mâle MS/mf,
- 3 pour le gène de restauration Rf/rf,
- 9 pour les gènes de hauteur H1/h1 et H2/h2.

On peut ainsi obtenir 486 génotypes différents ; par exemple AaCcMSRfrfH1H1h2h2 qui est un colza hybride restauré (mâle stérile à fertilité restauré), fait 145 cm de haut (2 allèles H et 2 h), ne possède qu'une copie du transgène et qu'un gène de cléistogamie (c'est-à-dire que ses fleurs seront semi-ouvertes).

Trois nouveaux caractères ont été inclus dans le modèle : la cléistogamie, la stérilité mâle (et la restauration de fertilité) et la hauteur ; et de nouveaux paramètres ont été introduits pour les prendre en compte (Tableaux 3.11 et 3.12).

Tableau 3.12. Récapitulatif des valeurs de paramètres des caractères variétaux

Gène	Effet sur	Paramètre	Valeurs déduites de
Transgène	Résistance à l'herbicide Emission de pollen Taux d'autogamie Production de graines	EffetHerbTr _i EffetPollTr _i EffetAutoTr _i EffetGraineTr _i	Valeurs fixées par l'utilisateur pour chaque simulation
Cléistogamie	Autogamie Emission de pollen	TxAutogCl _i TxPollenCl _i	Expérimentations et avis d'experts
Stérilité mâle	Emission de pollen Production de graines	NPOM2 EffetMS _i	Expérimentations et avis d'experts
Hauteur	Production de fleurs et de graines	Hauteur	Bibliographie et avis d'experts

La cléistogamie est simulée par un gène à deux allèles C et c. Ce gène pourrait aussi servir à simuler une stérilité mâle partielle puisqu'il influe sur l'émission de pollen et l'autogamie. L'intégration du gène C/c pourrait également servir à simuler un gène « neutre ». En fixant les valeurs des paramètres génotypiques dépendants de C/c à 1, on peut suivre dans une population, dans le temps et dans l'espace, les flux des gènes A/a et C/c, gènes indépendants. On peut, par exemple, voir l'évolution des populations pour ce qui est du transgène A/a et du gène C/c (représentant par exemple une teneur en acide gras).

La stérilité mâle et la restauration de fertilité permettent de simuler les mâles stériles des associations variétales (constituées à 80% de plantes mâles stériles), mais aussi des hybrides restaurés (croisement entre une lignée restauratrice et un colza mâle stérile)

Quant à la hauteur, c'est un phénomène quantitatif, et la prise en compte de ce caractère par deux gènes est une simplification nécessaire. Les valeurs données aux paramètres sont basées sur la gamme de variation existante pour ce caractère, mais peuvent être modifiée si celle-ci évoluent.

Les valeurs données aux paramètres correspondent, soit aux valeurs mesurées en expérimentation, soit à des valeurs fixées à dire d'expert. L'importance de la précision de la mesure ou de la valeur attribuée va dépendre de l'importance du phénomène simulé dans le flux de gènes. Celle ci sera évaluée au cours des analyses de sensibilité aux paramètres.

Les améliorations apportées au modèle comprennent la possibilité de simuler des mélanges de variétés comme les associations variétales comprenant 80% de mâles stériles ou de simuler des contaminations de sacs de semences. Cependant, le modèle ne permet de semer que deux variétés de colza, AA ou aa. Une nouvelle amélioration du modèle serait nécessaire pour semer plusieurs types de colza la même année.

L'étude d'une dizaine de variétés, couramment commercialisées dans les expérimentations du chapitre 2, a permis de connaître la gamme de variation existante pour les différents caractères intégrés au modèle et donc d'effectuer des simulations plus réalistes dans des études d'impact. Ces variétés pourront également être utilisées directement dans des simulations et servir de références.

Cependant, le modèle ne prend pas en compte l'effet du génotype sur la relation entre nombre de fleurs et nombre de graines. La variabilité génotypique du poids de mille grains et du rendement, deux caractères quantitatifs, ne sont pas non plus prises en compte dans le modèle. Pourtant, elles pourraient influencer le nombre de graines et la quantité de pollen produite par un génotype, mais le faible gain attendu par rapport à la complexité accrue du modèle en cas de prise en compte ont motivé ce choix.

La prise en compte d'un effet génotypique sur l'émission de pollen et sur l'autogamie, remet en question l'effet du transgène sur ces deux phénomènes. En effet, il est peu probable que le transgène ait un coût en terme d'émission de pollen ou d'autogamie. Les gènes influençant ces deux phénomènes seront donc différents du transgène et pourront être simulés

indépendamment du transgène par le gène C/c (que celui-ci simule la cléistogamie ou un autre gène).

La transmission des gènes se fait indépendamment dans le modèle et les seuls gènes qui peuvent être liés sont le transgène avec les gènes influant sur l'autogamie, l'émission de pollen ou la production de graines. Ceci ne reflète pas la réalité car plusieurs gènes importants pour le flux de gènes pourraient être, au moins partiellement, liés entre eux. Ce lien pourrait avoir un effet sur les probabilités de création de nouveaux génotypes par croisement.

Quant au domaine de validité défini au chapitre 2.C. pour les équations de compétition, le logiciel simulant des parcelles avec au maximum 125 plantes/m², les simulations ne devraient pas sortir du domaine de validité.

II. Eléments de validation de GENESYS-COLZA

La validation du modèle a commencé en même temps que sa conception. Plusieurs études ont été faites sur ce sujet, soit dans des champs d'agriculteurs (Couturaud, 1998), soit sur des plates-formes inter-instituts dédiées à l'étude d'impact des plantes GM (Berl, 2000; Champolivier, 1998; Champolivier *et al.*, 1997; Champolivier *et al.*, 2002).

1. Résumé des validations déjà faites

Les premières évaluations du modèle ont été réalisées selon deux axes distincts :

- la partie démographique, c'est-à-dire les équations quantitatives donnant le nombre de repousses, indépendamment de leur génotype, en fonction de la succession culturale et des conduites des cultures au niveau régional, est évaluée à l'aide de données recueillies sur des parcelles agricoles ;

- les modèles « génétique » et de « dispersion » sont évalués sur les plates-formes « plantes transgéniques » mises en place avec l'appui de l'INRA, par les instituts techniques (dont le CETIOM) en 1996 (Champolivier *et al.*, 1997) ; les nombres et proportions génotypiques des repousses et plantes cultivées de colza sont relevés à plusieurs stades au cours de l'année dans les champs cultivés et les bordures.

Les premiers résultats sur la partie démographique du modèle indiquent que celui-ci classe les systèmes de culture correctement en fonction de la fréquence de repousses de colza et estime correctement les ordres de grandeur des densités de repousses. Cependant, l'évaluation des parties génétique et dispersion indiquent que le modèle n'estime correctement la dispersion des gènes que sur les dix premiers mètres et la sous-estime nettement sur des distances plus élevées.

Ces problèmes de validation peuvent avoir trois causes : une mauvaise estimation du

Figure 3.2. Comparaison des données réelles et simulées. Ratio d'émission de pollen de aa/AA=1

taux d'autogamie, une mauvaise estimation du taux d'émission de pollen ou une mauvaise estimation de la courbe de dispersion.

Cependant, on peut déjà utiliser le modèle pour réaliser des simulations puisque celui-ci classe correctement les systèmes de culture en fonction du risque d'apparition des repousses. Des simulations ont permis de hiérarchiser les effets des techniques culturales sur les flux de gènes (Angevin *et al.*, 2002). Il ressort, par exemple, l'importance de gérer les bordures et les jachères, mais sans utiliser d'herbicide sélectif (ce qui augmente fortement la proportion de colza transgénique dans les repousses donc le risque de contamination des récoltes). Limiter les pertes à la récolte et adapter le travail du sol à la culture (labour avant colza et chisel avant les autres cultures) permet de diminuer aussi la contamination des cultures de colza. Cependant, les techniques culturales ne permettent pas à elles seules de garantir une pureté des récoltes. Pour ce faire, il faudrait aussi prendre en compte les capacités des variétés à limiter les flux de gènes.

2. Validation complémentaire

Le module de dispersion est constitué d'équations qui simulent la probabilité de dispersion du pollen en fonction de la distance de la source émettrice, du génotype ainsi que de la forme et taille des parcelles.

Les expérimentations sur la cléistogamie étaient constituées de deux parcelles contiguës de même taille, semées l'une en colza émetteur, l'autre en colza récepteur. L'étude des graines produites par ces colzas (chapitre 2.I) a permis de mesurer les taux d'hybridation du colza récepteur (cléistogames A, B et *oxy* ou Falcon *pat*, voir Chapitre 2.I) par le colza émetteur (Falcon *pat* ou Cléistogame *oxy*) en fonction de la distance à la source. Ce taux d'hybridation traduit la dispersion du pollen du colza émetteur dans le colza récepteur.

Sous GENESYS-COLZA, ces expérimentations sont reproduites en simulant un colza émetteur AA semé sur une parcelle contiguë à un colza récepteur aa. La parcelle réceptrice est divisée en sous-parcelles pour étudier l'hybridation en fonction de la distance à la source. Celle-ci reflète la dispersion du pollen en fonction de la distance sous l'influence du taux d'autogamie du colza aa et des taux d'émission de pollen des colzas AA et aa.

Plusieurs scénarios ont été testés. Chaque courbe de dispersion du pollen estimée sur les résultats obtenus expérimentalement a été comparée à des simulations de colzas AA et aa à 70% ou 96% d'autogamie (deux mesures obtenues expérimentalement par deux méthodes différentes) et avec des ratios d'émission de pollen entre colza sensible (aa) et colza résistant (AA) à l'herbicide de 9%, 37%, 100% et 270% (valeurs basées sur les expérimentations cléistogamie 2000 et 2001, les deux colzas émettent autant de pollen pour la valeur testée de 100%).

La comparaison des courbes d'hybridation réelles et simulées devrait nous permettre de vérifier la validité des fonctions de dispersion utilisées par le modèle.

Figure 3.3. Comparaison des données réelles et simulées. Ratio d'émission de pollen de aa/AA=0.09

Figure 3.4. Comparaison des données réelles et simulées. Ratio d'émission de pollen de aa/AA=0.37

Sur la *figure 3.2*, seule la courbe du Falcon *pat* en 2001 se trouve entre les valeurs obtenues pour des taux d'autogamie simulés de 70% et 96%. Le colza cléistogame ne semble donc pas avoir une émission de pollen égale à celle du Falcon *pat*.

Dans l'hypothèse d'un colza cléistogame émettant dix fois moins de pollen qu'un Falcon *pat* (*Figure 3.3*), les valeurs observées en 2001 sur Cléistogame *oxy* se trouvent entre les bornes de 70% et 96% d'autogamie sur les 25 premiers mètres. Sous cette même hypothèse, le Falcon *pat* observé en 2001 se trouve entre les bornes de 70% et 96% d'autogamie sur les 15 premiers mètres. C'est avec l'hypothèse d'un colza cléistogame émettant moins de la moitié du pollen d'un Falcon *pat* (*Figure 3.4*) que le Cléistogame B en 2000 se situe entre ces deux bornes sur les 10 à 15 premiers mètres.

Dans tous les cas, la forme des courbes de dispersion observées semble suivre celle simulée sur les 15 premiers mètres, mais au-delà de cette distance, les simulations sous-estime systématiquement la dispersion de pollen, particulièrement la dispersion du pollen du Falcon *pat* dans le cléistogame.

3. Conclusion partielle

Les éléments de validation obtenus au cours de la thèse confirment les résultats des précédentes validations du modèle : ce modèle sous-estime la dispersion à grande distance. Bien qu'ayant testé différentes valeurs du taux d'autogamie ou du taux d'émission de pollen pour les colzas simulés, aucune de ces combinaisons de valeur n'a permis de retrouver la forme de courbe de dispersion observée sur les essais cléistogamie entre 1999 et 2001. C'est donc sur celle-ci que devraient d'abord porter les travaux d'amélioration du module de dispersion. Des recherches sont en cours (E. Klein, Y. Brunet *et al.*) pour essayer d'améliorer la simulation de la dispersion à grande distance du pollen. Des recherches sur des modèles micrométéorologiques (Y. Brunet *et al.*) sont en cours pour prendre en compte l'effet des obstacles et des discontinuités sur la dispersion du pollen, cependant, ces modèles ne prennent pas en compte la dispersion entomophile. D'autres recherches s'orientent vers des modèles statistiques (E. Klein) basés sur des estimations empiriques qui prennent en compte la dispersion entomophile. Cependant, les simulations qui suivront garderont un biais sur la dispersion à grande distance.

Afin de valider le module compétition, la mise en place de nouvelles expérimentations serait nécessaire (par exemple, un suivi du génotype des populations de repousses sur plusieurs années sur un parcellaire) en particulier pour tester le comportement de la culture et des repousses si plus de deux génotypes sont présents sur la parcelle. De même, de nouvelles expérimentations portant sur différents génotypes à différentes densités sont nécessaires pour valider la relation entre nombre de fleurs et nombre de graines et pour déterminer si la relation moyenne utilisée dans le modèle est justifiée.

Enfin, pour pouvoir valider GENESYS-COLZA dans son ensemble, il serait utile de pouvoir comparer ses simulations à des réalités à grande échelle. Au Canada ou en Australie, la culture de colza de différents types a commencé à grande échelle. Cependant, une

adaptation du modèle serait nécessaire avant de pouvoir valoriser les données de ces pays. En effet, les techniques culturales ne sont pas les mêmes, les variétés utilisées non plus (en particulier au Canada où le colza cultivé est un colza de printemps), ... Cette validation est entreprise pour ce qui concerne la Chine (collaboration entre l'INRA de Dijon et l'Institut de Botanique de Beijing), mais elle sera faite avec d'autres variétés que celles étudiées au cours de cette thèse.

La validation de GENESYS-COLZA à grande échelle nécessite donc d'abord de pouvoir l'adapter à de nouvelles situations agricoles ou de disposer de marqueurs neutres disponibles sur les variétés actuelles afin d'évaluer le modèle sur des situations françaises où existent certains de types variétaux introduits dans le modèle.

III. Analyses de sensibilité aux paramètres variétaux

Ces analyses ont pour but d'étudier l'impact des variations de valeurs des paramètres génotypiques (TxAutogCli - effet du gène C/c sur le taux d'autogamie -, EffetPollenCli - effet du gène C/c sur le ratio d'émission de pollen -, EffetGraineTr - effet du transgène A/a sur le ratio de production de graines - et Hauteur) sur les flux de gènes.

Chacun de ces paramètres est étudié séparément sur un parcellaire simple. Ces analyses permettront de savoir quels sont les caractères qui ont le plus d'influence sur les flux de gènes et donc sur quels caractères la sélection doit porter, mais aussi de savoir quelle est la précision nécessaire sur les mesures de valeurs des paramètres pour les différents caractères.

1. Parcellaires et systèmes de culture

Deux types de scénarios seront simulés :

- dispersion d'un gène vers le voisinage à partir d'une parcelle source ;
- persistance d'un gène dans les populations de repousses sur une parcelle, dans le cadre d'une reconversion d'un type variétal à un autre.

1.1. Maîtrise des contaminations de voisinage

Ce type de scénario simule une coexistence de la culture de 2 types de colza, contaminant et contaminé.

Le parcellaire est constitué d'une parcelle source régulièrement cultivée en colza AA et d'une autre parcelle, réceptrice, régulièrement cultivée en colza aa. La parcelle réceptrice est divisée en sous-parcelles afin d'étudier la dispersion des gènes en fonction de la distance à la source. Les deux parcelles sont séparées par une bordure qui pourra servir de relais aux contaminations (*Figure 3.5*).

Figure 3.5. Schéma du parcellaire simulé pour les effets de voisinage

C/B/OP/J/C/B/OP
C : colza
B : blé d'hiver
OP : orge de printemps
J : jachère

Dans une première série de simulations, les repousses (jachères et bordures) ne sont pas gérées (pas de travail du sol, ni de broyage, ni de désherbage) afin d'augmenter le nombre de repousses et les risques de contamination.

Les techniques culturales employées sur les deux parcelles sont les mêmes (*Tableau 3.13*).

Culture	Déchaumage	Travail du sol	Date de semis	Densité de semis	Broyage	Efficacité de désherbage	Perte à la récolte
Colza GM	oui	Labour	30/08	70gr/m²		95% (sélectif)	5%
Colza NGM	oui	Labour	30/08	70gr/m²			5%
Blé d'hiver	oui	Labour	3/10.	350gr/m²		95%	
Orge de printemps	oui	Labour	1/03	350gr/m²		95%	
Jachère					Aucun ou Mi-Avril		

- Scénario i : Les parcelles 1 et 2 sont semées avec la même culture chaque année.
- Scénario ii : La parcelle 1 est semée en colza et la parcelle 2 en blé la première année.
- Scénario iii : La parcelle 1 est semée en colza et la parcelle 2 en orge la première année.
- Scénario iv : La parcelle 1 est semée en colza et la parcelle 2 en jachère la première année.

Tableau 3.14. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations d'autogamie sans gestion des repousses

	Génotype		
	CC	Cc	cc
Autogamie	De 5 à 99%	Moyenne de CC et cc	70%
Emission de pollen	1	1	1
Hauteur	2m (HHHH)	2m (HHHH)	2m (HHHH)
Stérilité	Fertile (rrmf)	Fertile (rrmf)	Fertile (rrmf)
Effet transgène	Aucun	Aucun	Aucun

Tableau 3.15. Contamination des simulations d'autogamie sans gestion des repousses

Contamination	Taux d'autogamie CC (cc autogamie de 70%)				
	5%	20%	70%	95%	99%
A 12m	0.43	0.39	0.25	0.15	0.13
A 32m	0.029	0.024	0.009	0.003	0.002
A 52m	3E03	2E-03	7E-04	1E-04	2E-05
A 72m	1 E03	1 E03	3E-04	5E-05	9E-06
A 92m	7E-04	6E-04	2E-04	3E-05	6E-06

Figure 3.6. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Pas de décalage entre les parcelles. Contamination la première année de simulations.

Soit 0, 1, 2 ou 3 ans de décalage entre la culture de colza dans la parcelle 1 et la parcelle 2.

Pour chaque simulation, le stock semencier (nombre de graines restées dans le sol) est nul au début de la simulation. Pour voir l'effet à plus long terme (avec un stock semencier non nul), la contamination de la récolte de colza aa n'est étudiée qu'au bout de 18 à 20 ans (soit plus de deux rotations complètes).

Pour chaque caractère, les sorties des simulations sont des graphiques donnant le taux de contamination des sous parcelles de la parcelle réceptrice en fonction de la distance moyenne à la parcelle source et en fonction de la valeur donnée au paramètre étudié. Un tableau résumant le taux de contamination en différents points du champ en fonction de la valeur du paramètre étudié est également donné pour le cas où les deux parcelles sont cultivées en colza la première année de simulation (scénario de type i).

1.2. Gestion d'une parcelle en reconversion

Le parcellaire simulé n'est constitué que d'une parcelle, d'abord cultivée en colza AA puis reconvertie dans la culture du colza aa. On cherche à voir l'influence des paramètres variétaux sur la contamination de la première récolte de colza aa.

La rotation simulée est la même que précédemment :

C/B/OP/J/C/B/OP

C : colza
B : blé d'hiver
OP : orge de printemps
J : jachère

Les techniques culturales sont les mêmes que celle employées pour les effets de voisinage et les jachères sont broyées 20 jours après le début de la floraison.

Le stock semencier est nul au début de la simulation. Pour constituer un stock semencier de graines de colza AA et mieux simuler un cas de reconversion, les 4 premières cultures de colza sont AA. La 5^e culture de colza est aa (soit 3 ans écoulés entre la dernière culture de colza AA et la première culture de colza aa) et la contamination de cette culture de colza aa par l'allèle A est étudiée.

2. Résultat des simulations

2.1. Autogamie

Le taux d'autogamie va influencer les flux de pollen. C'est donc sur le parcellaire « effet du voisinage » que les analyses de sensibilité ont été faites.

2.1.1. Sans gestion des repousses

La première série de simulations a été faite en l'absence de gestion des repousses (jachères et bordures).

Figure 3.7. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Pas de décalage entre les parcelles.

Figure 3.8. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Décalage d'un an entre les parcelles.

Figure 3.9. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Décalage de deux ans entre les parcelles.

Figure 3.10. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Décalage de trois ans entre les parcelles.

Pour simuler une variation du taux d'autogamie non liée au transgène et voir la sensibilité du modèle à ce taux, l'effet du gène C/c sur le taux d'autogamie a été utilisé sans prendre en compte son effet sur l'émission de pollen (les émissions de pollen des différents génotypes CC, Cc et cc ont été simulées comme égales). Les autres paramètres génotypiques ont été également fixés et égaux pour tous les génotypes. (*Tableau 3.14*).

L'autogamie du génotype conventionnel cc a été fixée à 70% (valeur donnée par la bibliographie) et celle du génotype CC varie entre 5 et 99%. Le taux prend les valeurs de 5%, 20%, 60% puis augmente par pas de 5% jusqu'à 95%. La dernière valeur testée est 99% (*Tableau 3.14*). Les hybrides Cc ont un taux d'autogamie égal à la moyenne des taux CC et cc (soit de 45 à 84%).

Le colza contaminant semé est AAcc et le colza contaminé semé est aaCC.

Les taux de contamination diminuant très rapidement, il est difficile de différencier sur un graphique à échelle non logarithmique les résultats en fonction de la valeur du paramètre autogamie au-delà de 40 m. Sur tous les graphiques, l'échelle adoptée est donc logarithmique afin de mieux voir l'effet du paramètre et de distinguer le passage d'ordre de grandeur. En revanche, pour avoir une meilleure idée des contaminations à courte distance, le *tableau 3.15* donne les taux de contamination pour les deux extrêmes testés et pour la valeur de référence.

La forme de la courbe est sensiblement la même pour les contaminations observées la 1^{ère} année ou la 19^e année de simulation (*Figures 3.6. et 3.7*). Les valeurs sont légèrement plus dispersées en 1^{ère} année. Les résultats de contamination seront analysés par la suite après 19 ou 20 ans car des simulations précédentes (Angevin *et al.*, 2002) ont montré qu'au bout de ce temps les niveaux de contamination étaient stabilisés.

La forme de la surface de contamination est également la même pour les 4 types de scénarios testés (décalage entre les cultures de colza AA et aa de 0 à 3 ans) (*Figures 3.7 à 3.10*) ; en particulier, les ordres de grandeur de contamination observés avec un décalage de 0 et 1 an sont comparables (*Figures 3.7 et 3.8*).

Les contaminations observées avec 0 ou 1 an de décalage sont cependant environ 10 fois plus fortes que celles observées avec un décalage de 2 ou 3 ans (*Figures 3.9 et 3.10*). Par la suite, seuls seront présentés les scénarios avec un décalage de 0 et 2 ans.

Sur ces graphiques, la contamination de la récolte diminue fortement en fonction de la distance à la source (de $2,3 \cdot 10^{-1}$ à 12 m à $3,7 \cdot 10^{-6}$ à 492 m en moyenne). Le taux de contamination diminue également lorsque le taux d'autogamie augmente. À 12 m, la contamination avec un taux d'autogamie de 95% n'est que 0,38 fois celle obtenue si le colza aa contaminé a un taux d'autogamie de 20% ; elle n'est que 0,60 fois celle obtenue avec un taux d'autogamie de 70%.

Les distances nécessaires entre source et récepteur pour respecter un seuil de contamination donné (1% ; 0.1% ; etc.) sont influencées par le taux d'autogamie (*Tableau 3.16*).

Tableau 3.16. Distances d'isolement nécessaires pour respecter un seuil donné sur la récolte moyenne

Seuil à respecter	Taux d'autogamie						
	5%	20%	60%	70%	80%	90%	99%
1%	20m	20m	20m	20m	0m	0m	0m
0.1%	40m	40m	20m	20m	20m	20m	20m
0.01%	80m	80m	40m	40m	40m	40m	20m

Tableau 3.17. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations d'autogamie avec gestion des repousses

	Génotype		
	CC	Cc	cc
Autogamie	De 5 à 99%	Moyenne de CC et cc	70% ou 96%
Émission de pollen	1	1	1
Hauteur	2m (HHHH)	2m (HHHH)	2m (HHHH)
Stérilité	Fertile (rrmf)	Fertile (rrmf)	Fertile (rrmf)
Effet transgène	Aucun	Aucun	Aucun

Figure 3.11. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Pas de décalage entre les parcelles.

Figure 3.12. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Décalage de deux ans entre les parcelles.

Le seuil de 1% représente le seuil d'étiquetage officiel, celui de 0.1% représente le seuil de quantification (en deçà de ce seuil, la présence de transgène peut être détectée, mais ne peut pas être quantifiée) et le seuil de 0.01% représente le seuil de détection (en deçà de 0.01% on ne détecte pas la présence de transgène dans le produit ou la récolte). Cependant, il faut garder à l'esprit que le modèle sous-estime la dispersion à longue distance et que donc les distances nécessaires pour respecter les seuils de pureté sont sans doute plus grandes que celles trouvées lors des simulations.

2.1.2. Avec gestion des repousses

Dans la deuxième série de simulations, les repousses sont broyées en cours de floraison.

La gamme de variation du paramètre est la même que précédemment et le colza AA est simulé avec un taux d'autogamie de 70% ou de 96% (résultats d'expérimentation, Cf. Chapitre 2.I) (*Tableau 3.17*) afin de vérifier que le taux d'autogamie du colza émetteur ne joue pas sur les contaminations.

Les contaminations à faible distance sont diminuées avec une gestion des repousses (à 12 m, les contaminations sont de 6.10^{-3} au lieu de $2,4.10^{-1}$). En revanche, à grande distance, les ordres de grandeur des taux de contamination sont les mêmes dans le cas de repousses gérées ou non. La forme des courbes reste la même (*Figures 3.11 à 3.14*), les contaminations diminuent avec l'accroissement de la distance et du taux d'autogamie.

Il existe une plus forte différence entre les contaminations à 99% et à 70% sur les 30 premiers mètres avec gestion de repousses que sans gestion des repousses (*Tableau 3.15 et 3.18*) et la différence entre avec et sans gestion des repousses s'estompe à plus grande distance. La gestion des repousses permet donc d'accentuer l'effet de l'autogamie, en particulier à faible distance.

Il y a peu de différences entre les simulations faites avec un colza AA à 70% ou à 96% d'autogamie. Par exemple, les niveaux de contamination à 12 m, 252 m et 492 m pour 99% d'autogamie du colza aa sont les mêmes, quel que soit le taux d'autogamie du colza AA. L'autogamie du colza récepteur semble donc jouer un rôle important à faible distance de la source. En revanche, le taux d'autogamie du colza émetteur ne semble pas jouer sur les contaminations, ce qui est logique.

Un gain d'autogamie apparaît particulièrement efficace pour limiter les contaminations dans le voisinage immédiat des champs de colza (particulièrement dans les situations où les repousses sont fauchées).

2.2. Emission de pollen

L'autre facteur important dans le flux de pollen vers les champs voisins est le taux d'émission de pollen. Comme pour l'autogamie, tous les paramètres ont été fixés sauf le taux d'émission de pollen (*Tableau 3.19*), lié au gène C/c.

Figure 3.13. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Pas de décalage entre les parcelles.

Figure 3.14. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et du taux d'autogamie. Décalage de deux ans entre les parcelles.

Tableau 3.18. Contamination des simulations d'autogamie avec gestion des repousses

Contamination	Taux d'autogamie CC (cc autogamie de 70%)		
	20%	70%	99%
A 12m	0.018	0.006	2E-04
A 32m	0.003	9E-04	3E-05
A 52m	0.001	4E-04	1E-05
A 72m	7E-04	2E-04	7E-06
A 92m	4E-04	1E-04	5E-06

Tableau 3.19. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations d'émission de pollen

	Génotype		
	CC	Cc	cc
Autogamie	70%	70%	70%
Emission de pollen	De 10 à 1000% par pas de 20% ou 200%	Moyenne de CC et cc	100%
Hauteur	2m (HHHH)	2m (HHHH)	2m (HHHH)
Stérilité	Fertile (rrmf)	Fertile (rrmf)	Fertile (rrmf)
Effet transgène	Aucun	Aucun	Aucun

Figure 3.15. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen. Pas de décalage entre les parcelles.

Figure 3.16. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen. Décalage de deux ans entre les parcelles.

Tableau 3.20. Contamination des simulations d'émission de pollen sans gestion des repousses

Contamination	Ratio d'émission de pollen CC/cc		
	10%	100%	1000%
A 12m	0.06	0.02	0.01
A 32m	5E-03	6E-04	3E-04
A 52m	5E-04	3E-05	8E-06
A 72m	2E-04	1E-05	2E-06
A 92m	1E-04	7E-06	1E-06

Figure 3.17. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen. Pas de décalage entre les parcelles.

Figure 3.18. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de l'émission de pollen. Décalage de deux ans entre les parcelles.

Tableau 3.21. Contamination des simulations d'émission de pollen avec gestion des repousses

Contamination	Ratio d'émission de pollen CC/cc		
	10%	100%	1000%
A 12m	0.06	0.006	6E-04
A 32m	1E-02	9E-04	9E-05
A 52m	6E-03	4E-04	4E-05
A 72m	3E-03	2E-04	2E-05
A 92m	2E-03	1E-04	1E-05

Dans les simulations, le colza CC émet de 10 fois moins (cas du colza cléistogame en présence d'un colza contaminant conventionnel, Cf. Chapitre 2.I) à 10 fois plus de pollen que le colza cc (cas d'un colza conventionnel en présence d'un colza contaminant cléistogame).

Deux séries de simulations ont été faites, avec et sans gestion des repousses, avec des décalages entre les cultures de colza AA et aa de 0 à 3 ans. La parcelle source est semée avec un colza AAHHHHccrrmf et la parcelle réceptrice avec un colza aaHHHHCCrrmf.

2.2.1. Sans gestion des repousses

De même que pour le taux d'autogamie, la forme des surfaces de contamination est la même quel que soit le décalage entre les cultures de colza AA et aa. Les contaminations avec des décalages de 2 ou 3 ans sont également dix fois plus faibles qu'avec des décalages de 0 ou 1 an.

Le taux de contamination diminue avec l'accroissement de la distance, mais aussi du taux d'émission de pollen (*Figures 3.15 et 3.16*). L'effet est particulièrement notable à grande distance de la source où les taux de contamination varient de 10^{-4} à 10^{-6} entre les deux extrêmes (Tableau 3.20)

2.2.2. Avec gestion des repousses

Si les repousses sont gérées, l'effet du taux d'émission de pollen est plus marqué pour les faibles distances (*Figures 3.17 et 3.18*). Les contaminations sont cent fois plus fortes pour un colza aa émettant 10 fois moins de pollen qu'un colza AA que pour un colza aa émettant 10 fois plus de pollen qu'un colza AA quelle que soit la distance à la source (Tableau 3.21).

L'effet de l'émission de pollen apparaît ainsi important pour les flux de gènes vers le voisinage. En effet, le taux d'émission va jouer sur les proportions de pollen présentes dans le voisinage, va permettre ou non de diluer le pollen contaminant, et ainsi de limiter les contaminations. Il serait donc nécessaire de mesurer précisément le ratio d'émission de pollen entre les différents génotypes afin de bien rendre compte de leurs potentialités pour diminuer les flux de gènes. Il pourra également s'avérer intéressant de vérifier l'intérêt de ce caractère, combiné à d'autres.

La sélection pour un colza émettant moins de pollen pourrait s'avérer intéressante pour éviter qu'il ne contamine ses voisins.

2.3. Production de graines

Nous avons considéré que le développement d'un colza possédant un caractère intéressant sur le plan économique, mais ayant un très faible rendement était envisageable.

Deux caractères peuvent avoir un effet sur la production de graines dans le modèle GENESYS-COLZA : la stérilité mâle est liée à un accroissement de la production de graines et le transgène peut avoir un effet sur la production de graines.

Tableau 3.22. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations de production de graines

	Génotype		
	AAHHHHccrrmf	AaHHHHccrrmf	aaHHHHccrrmf
Autogamie	70%	70%	70%
Émission de pollen	100%	100%	100%
Hauteur	2m	2m	2m
Stérilité	Fertile	Fertile	Fertile
Effet transgène sur production de graines	100%	Moyenne de AA et aa	De 50% à 200%

Figure 3.19. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de la production de graines. Pas de décalage entre les parcelles
Tableau 3.23. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations de hauteur

	Génotype	
	AAHHHHccrrmf	aahhhhccrrmf
Autogamie	70%	70%
Émission de pollen	100%	100%
Hauteur	HHHH : de 60 cm à 2m	hhhh : de 60cm à 2m
Différence de hauteur 4H-0H	De -140cm à 140cm	
Stérilité	Fertile	Fertile
Production de graines	100%	100%
Effet transgène	Aucun	Aucun

L'effet de la production de graines aurait pu être étudié en faisant varier la production relative de graines des colzas mâles stériles par rapport aux colzas fertiles ; ce qui aurait permis d'évaluer la précision nécessaire sur ce paramètre. Cependant, il est illogique de semer un colza mâle stérile, surtout s'il existe une source de contamination à proximité. En effet, toutes les graines produites par le colza mâle stérile seront forcément des hybrides entre le colza cultivé aa et le colza AA ou les repousses issues de précédentes cultures. Au bout de quelques années, une partie des repousses seront Aa ou aa, diminuant ainsi le niveau de contamination apparent, mais le niveau de contamination du colza aa mâle stérile ne dépendra pas de la productivité en graines des colzas mâles stériles.

L'effet de la productivité en graines a donc été étudié par le facteur de productivité associé au transgène. Cependant, ceci favorise les contaminations par le colza AA contrairement à des simulations où la productivité en graines serait indépendante du transgène. De plus, les variations de productivité en graines sont, en fait, fortement liées aux conditions environnementales, ce qui ne peut être rendu dans les simulations avec GENESYS-COLZA.

Pour rester dans une gamme des possibles, nous avons simulé un colza contaminé aa produisant deux fois moins à deux fois plus de graines que le colza contaminant AA (*Tableau 3.22*).

Les contaminations de la culture aa diminuent avec l'augmentation de la productivité du colza contaminé à proximité immédiate du contaminant uniquement. Cependant, les variations de niveau de contamination sont très inférieures à celles observées pour les flux de pollen (taux d'autogamie et émission de pollen) (*Figure 3.20*).

Dans un contexte de reconversion, on peut s'attendre à ce que les niveaux de contaminations soient proportionnels à la productivité en graine du génotype contaminant.

Analyser la sensibilité du modèle à ce paramètre a également permis de vérifier l'intérêt d'intégrer de nouveaux gènes dans le modèle (la productivité en graines étant un caractère quantitatif, il faudrait au moins deux gènes pour simuler ce caractère), c'est-à-dire de savoir si il était important de connaître précisément la différence de rendement entre deux colzas pour simuler leur comportement dans GENESYS-COLZA. À la suite de ces simulations, il n'apparaît pas nécessaire d'introduire dans le modèle des gènes spécifiques de la productivité en graines.

2.4. Hauteur

La hauteur des colzas va jouer sur la compétitivité des repousses ; donc sur les contaminations à long terme du voisinage ou sur les contaminations d'une première culture dans le cadre d'une reconversion.

Pour vérifier cet effet, des simulations ont été effectuées en faisant varier la différence de hauteur entre les colzas AA et aa (*Tableau 3.23*) sur les deux types de parcellaires présentés au paragraphe 1 : un parcellaire constitué de deux parcelles et d'une bordure pour tester l'effet sur le voisinage et sur un parcellaire constitué d'une seule parcelle pour regarder

Figure 3.20. Taux de contamination en fonction de la distance à la source et de la différence de hauteur. Pas de décalage entre les parcelles

Figure 3.21. Taux de contamination en fonction de la différence de hauteur. Cas d'une reconversion

la persistance des graines.

2.4.1. Effet de voisinage sans gestion des repousses

L'effet de la hauteur des repousses sur la contamination du voisinage apparaît très faible (*Figure 3.21*). Quelle que soit la différence de hauteur entre les colzas AA et aa, la contamination du colza aa est constante.

2.4.2. Reconversion

Dans le cadre d'une reconversion, toutes les repousses présentes dans le premier colza aa seront de génotype AA, ce qui explique les taux de contamination constatés dans la récolte aa (environ 2%). Cependant, les jachères étant broyées en cours de floraison, les taux de contamination ne sont pas maximum puisqu'une partie des repousses de colza seulement pourra produire des fleurs et des graines pendant la jachère.

La compétition avec la culture aa a un effet sur la productivité des repousses AA en fleurs et en graines, donc la différence de hauteur a un effet sur les contaminations.

Si les repousses AA font 20 cm de moins que la culture, les contaminations sont diminuées de 28% (*Figure 3.22*) et pour plus de 60 cm de différence de hauteur entre culture et repousses, les taux de contaminations observés sont stables (diminution de 88% si les repousses sont plus petites que la culture et augmentation de 12% si elles sont plus hautes). La hauteur apparaît donc comme un caractère important jouant sur les contaminations à long terme d'une parcelle. Cependant, les ordres de grandeur de variation des taux de contamination observés en faisant varier la différence de hauteur entre génotypes sont inférieurs à ceux observés pour l'émission de pollen et le taux d'autogamie.

La dissymétrie de la courbe par rapport à la différence de hauteur montre que plus une repousse est basse moins elle présente de risque de contaminer les récoltes. En revanche, le risque de contamination n'augmente pas avec la taille de la repousse si celle-ci est plus haute que le couvert.

3. Conclusion partielle

Tous les caractères variétaux inclus dans le modèle ne semblent pas jouer sur les flux de gènes.

Le taux d'autogamie influence fortement la dispersion du pollen et les taux de contaminations, mais surtout à faible distance du contaminant. La gamme de variation du taux moyen d'autogamie sur différents lieux observée par Becker *et al.* (1991, 1992) varie entre 57% et 79% selon le génotype. La gamme testée lors des analyses de sensibilité recouvre celle-ci et fait l'hypothèse qu'un colza très autogame peut être sélectionné à partir des individus quasiment autogames (autogamie de plus de 90%) observés par Olsson (1960). Cependant, déjà avec un colza à 80% d'autogamie, les diminutions de contamination

paraissent intéressantes (diminution de 35% par rapport à un colza à 70%). Le problème restant résulte de la forte influence de l'environnement sur le taux d'autogamie (Becker *et al.*, 1991, 1992).

Le taux d'émission de pollen mesuré expérimentalement (Cf. Chapitre 2.II) sur le colza cléistogame en 2000 était 9% de celui d'un colza conventionnel. Il est donc plausible de penser que le ratio d'émission de pollen entre une variété émettrice et une variété réceptrice puisse varier au moins entre 0.1 et 10, ce qui est la gamme testée dans les analyses de sensibilité. Celles-ci montrent l'importance de l'émission de pollen dans les flux de gènes ; cet effet reste notable même à grande distance.

Enfin, la hauteur apparaît également comme un caractère influant sur les flux de gènes, mais uniquement par les repousses. En effet, son influence sur les contaminations de voisinage apparaît très faible. Cependant, les repousses de faible hauteur semblent présenter un faible pouvoir de nuisance dans les champs de variétés hautes. La gamme de variation testée lors des analyses de sensibilité correspond à la gamme existante.

En revanche, la gamme de variation testée pour la productivité en graines dépasse très largement celle observée sur les variétés inscrites (GEVES, 2001), et pourtant, aucun effet notable n'a été observé sur les contaminations du voisinage. Cependant, un effet sur la contamination par les repousses (situation de reconversion d'un colza vers un autre) est probable, mais n'a pas été testé lors de ces analyses de sensibilité car la contamination du colza aa serait proportionnelle à la productivité relative des deux génotypes simulés.

Il ressort de ces simulations la nécessité d'avoir des mesures précises sur les paramètres suivants : autogamie, émission de pollen et différence de hauteur selon le génotype, puisque le modèle est sensible à leur variation. En particulier, une amélioration de la précision sur les ratio d'émission de pollen et sur l'autogamie selon les génotypes sera nécessaire.

Il serait sans doute intéressant de tester l'effet de la productivité en graines dans le cas d'une reconversion. Si le modèle ne s'y avère pas sensible, il ne sera pas nécessaire d'avoir une mesure plus précise des différents paramètres gérant ce caractère dans le module de compétition.

L'influence de l'environnement sur le taux d'autogamie est connue, mais n'est pas prise en compte dans GENESYS-COLZA. Le modèle donne des résultats pour un climat moyen, bien que l'utilisateur puisse inclure des contaminations aléatoires par le pollen ou les graines pour simuler la présence plus ou moins grande d'insectes ou l'effet du vent et du climat.

IV. Impact de différents types variétaux sur les flux de gènes

Cette dernière série de simulations vise à répondre à des questions précises portant sur le comportement de variétés associant certains caractères, dans une situation culturale donnée. Il ne s'agit donc pas d'une exploration systématique des possibilités du modèle, mais d'une illustration de sa capacité à répondre à des questions de la filière.

Dans un premier temps, le modèle a été utilisé pour étudier des types variétaux déjà commercialisés (associations variétales comprenant 80% de mâles stériles, et variétés hybrides demi-nains) dans des contextes à haut risque de contaminations. Nous testerons deux hypothèses : les associations variétales sont très sensibles aux contaminations, les hybrides demi-nain ne posent pas de problèmes spécifiques vis-à-vis des contaminations des récoltes qui les suivent ou les précèdent.

Dans un second temps, l'intérêt et le risque de variétés virtuelles ont été étudiés. Les analyses de sensibilité ayant montré l'effet du taux d'autogamie et de l'émission de pollen sur les contaminations de voisinage, une variété virtuelle combinant forte autogamie et faible émission de pollen a été testée pour vérifier que la combinaison de ces caractères dans une variété d'intérêt particulier permettait de diminuer à la fois la contamination des colzas voisins et celle de la récolte de la variété spéciale.

La hauteur ayant aussi un effet sur les flux de gènes, un deuxième type de variété virtuelle testé est un colza combinant les deux caractéristiques précédentes et une hauteur réduite (nanisme). Ce type de colza devrait permettre de limiter les contaminations du voisinage, mais aussi la compétitivité des repousses dans le cadre d'une reconversion vers un colza conventionnel.

La productivité en graines n'est pas apparue comme un paramètre auquel le modèle était sensible pendant les analyses de sensibilité, cependant il est plausible d'imaginer des variétés de colza produisant des molécules d'intérêt en industrie. Le prix payé pour ce produit compenserait les faibles rendements. La dissémination des gènes contenus dans ces variétés pourraient présenter un danger pour la santé humaine. Serait-il possible d'associer ces gènes à certains caractères (faible émission de pollen, forte autogamie, faible taille) pour limiter les disséminations de ces gènes ? Et quelle est la sensibilité de ce type variétal à des contaminations extérieures ? C'est ce qui sera testé lors d'une série de simulations.

Ces questions peuvent trouver leur réponse sur des parcellaires simples comme ceux élaborés pour les analyses de sensibilité. Cependant, certaines questions nécessitent des simulations sur un parcellaire plus complexe. Dans le but d'explorer les potentialités d'utilisation d'un tel modèle pour étudier l'intérêt de nouveaux types variétaux, nous analyserons la possibilité de respect de seuils de pureté des récoltes dans une ferme d'agriculture biologique dans une petite région d'agriculture conventionnelle utilisant 10% ou 50% de colza OGM. Dans ce cadre, l'intérêt d'utiliser un type non conventionnel de colza soit pour la culture de colza OGM soit pour la culture de colza non OGM sera étudié dans un système de culture limitant les flux de gènes (les techniques culturales limitant les flux identifiées par Angevin *et al.* (2002) seront utilisées dans ce système de culture).

1. Parcellaires et systèmes de culture

Comme pour les analyses de sensibilité, on cherche à voir l'impact des caractères variétaux sur la dispersion des gènes dans l'espace et dans le temps.

Diagramme illustrant la configuration des parcelles et de la bordure :

- Parcelle 1 émettrice de 500m*200m
- Bordure de 2m*200m
- Parcelle 2 réceptrice de 500m*200m (divisée en 25 sous-parcelles de 20m*200m)

Figure 3.5. Schéma du parcellaire simulé pour les effets de voisinage

Tableau 3.24. Techniques culturelles utilisées pour les simulations « effet de voisinage »

Culture	Déchaumage après culture suivante	Travail du sol	Date de semis	Densité de semis	Broyage	Efficacité de désherbage	Perte à la récolte
Colza contaminant	oui	Labour	30/08	70gr/m²		95% (sélectif)	5%
Colza contaminé	oui	Labour	30/08	70gr/m²			5%
Blé d'hiver	oui	Labour	3/10.	350gr/m²		95%	
Orge de printemps	oui	Labour	1/03	350gr/m²		95%	
Jachère					Mi-Avril		

Trois parcellaires sont retenus pour les simulations :

- deux parcelles contiguës avec une bordure, pour tester l'effet d'un type variétal sur la contamination du voisinage, selon le même principe que dans le chapitre précédent ;
- une parcelle unique, pour les études de reconversion, selon le même principe que dans le chapitre précédent ;
- un parcellaire complexe, réaliste, de 325 ha, représentant deux fermes contiguës, l'une en agriculture biologique, l'autre en agriculture conventionnelle.

Pour chaque type variétal étudié, la situation témoin (colzas contaminant et contaminé conventionnels) est comparée à la situation où le nouveau type variétal remplace le colza contaminant ou le colza contaminé.

1.1. Maîtrise des contaminations de voisinage

Ce type de scénario simule une coexistence de la culture de 2 types de colza, contaminant et contaminé. On cherche à déterminer si l'utilisation d'un autre type variétal que le colza conventionnel permet de limiter les contaminations ou risque de les augmenter.

Il s'agit du même parcellaire (*Figure 3.5*) que celui utilisé pour les analyses de sensibilités (Paragraphe III/1/1.1).

Le parcellaire simulé est constitué d'une parcelle source régulièrement cultivée en colza AA et d'une autre parcelle, réceptrice, régulièrement cultivée en colza aa. Les deux parcelles sont séparées par une bordure qui pourra servir de relais aux contaminations. Toutes les sous-parcelles de la parcelle réceptrice (2) sont cultivées avec la même culture une année donnée.

Les deux parcelles sont cultivées avec une rotation :

C/B/OP/J/C/B/OP

C : colza

B : blé d'hiver

OP : culture de printemps

J : jachère

Les conditions de culture simulées sont les mêmes que lors des analyses de sensibilité avec gestion des repousses (*Tableau 3.24*).

Pour chaque caractère et chaque série de simulations, plusieurs scénarios sont testés :

- Scénario i : Les parcelles 1 et 2 sont semées avec la même culture chaque année.
- Scénario ii : La parcelle 1 est semée en colza et la parcelle 2 en orge la première année.
Soit 0 ou 2 ans de décalage entre la culture de colza dans la parcelle 1 et la parcelle 2.

Comme pour les analyses de sensibilité, pour chaque simulation, le stock semencier est nul au début de la simulation (Paragraphe III/1/1.1).

Tableau 3.25. Rotations simulées pour les simulations de contamination après une reconversion

Années entre le colza AA et le colza aa	Scénario avec jachères repousses (Type α)	Scénario avec jachères de printemps (Type β)
3 ans	.../Colza AA/ Blé/ Culture de Printemps/ <u>Colza aa</u>	
4 ans	.../Colza AA/ Blé/ Culture de Printemps/ Blé/ <u>Colza aa</u>	.../Colza AA/ Blé/ Culture de Printemps/ Jachère/ <u>Colza aa</u>
5 ans	.../Colza AA/ Culture de Printemps/ Blé/ Culture Printemps/ Blé/ <u>Colza aa</u>	.../Colza AA/ Blé/ Culture de Printemps/ Jachère/ Blé/ <u>Colza aa</u>
6 ans	.../Colza AA/ Blé/ Culture de Printemps/ Blé/ Culture de Printemps/ Blé/ <u>Colza aa</u>	.../Colza AA/ Blé/ Culture de Printemps/ Jachère/ Blé/ Culture de Printemps/ <u>Colza aa</u>
7 ans	.../Colza AA/ Culture de Printemps/ Blé/ Culture de Printemps/ Blé/ Culture de Printemps/ Blé/ <u>Colza aa</u>	.../Colza AA/ Culture de Printemps/ Blé/ Culture de Printemps/ Jachère/ Blé/ Culture de Printemps/ <u>Colza aa</u>

Figure 3.22. Parcellaire utilisé pour les simulations d'agriculture biologique et ses bordures

Pour chaque caractère, les sorties des simulations sont données sous forme de tableau résumant le taux de contamination moyen, en valeur absolue et en pourcentage du témoin et donnant les distances minimales nécessaires entre les parcelles pour respecter des seuils de contamination.

1.2. Gestion d'une parcelle en reconversion

Le parcellaire simulé n'est constitué que d'une seule parcelle, d'abord cultivée en colza AA, puis reconvertie dans la culture du colza aa. On cherche à voir l'intérêt ou le risque des types variétaux sur la contamination de la première récolte de colza aa.

Les simulations sont faites avec un stock semencier initial nul comme pour les analyses de sensibilité, et les techniques culturales employées sont les mêmes (Cf. Paragraphe III/1.1.2)

Les rotations simulées sont diverses et varient selon le temps écoulé entre la dernière culture de colza AA et la première culture de colza aa afin d'étudier la persistance des graines dans le sol. Pour chaque temps de retour, deux rotations sont simulées : avec des jachères « repousses » broyées 20 jours après la floraison ou avec des jachères semées au printemps afin d'empêcher le développement des repousses.

Les 11 premières années de la rotation sont toujours les mêmes :

Colza AA/Blé/ Culture Printemps/ Jachère/ Colza AA/Blé /Culture Printemps /Colza AA/ Blé/ Culture Printemps/ Jachère

avec des jachères repousses pour les scénarios de type α) et des jachères de printemps pour les scénarios de type β). Seules varient les cultures semées entre le dernier colza AA et le premier colza aa. Ces cultures sont détaillées dans le *tableau 3.25*. Les scénarios de type β n'ont été testés que pour les types variétaux présentant un fort risque de contamination.

1.3. Agriculture biologique

Pour répondre à la dernière question posée dans l'introduction de la partie III (intérêt d'un colza non conventionnel pour limiter les contaminations d'une production de semences biologiques dans un environnement présentant des colzas GM), le parcellaire simulé est nécessairement plus complexe.

Le parcellaire simulé est une reproduction d'un parcellaire existant du Varois constitué de 74 parcelles et de 7 bordures de champ (*Figure 3.23*). La simulation témoin est basée sur les simulations effectuées avec GENESYS-COLZA lors d'une étude pour la Communauté Européenne (Angevin *et al.*, 2002) et les bonnes techniques culturales identifiées lors de cette étude seront simulées afin de limiter les niveaux de contamination des cultures et de faire ressortir l'effet variété.

On attribue à la ferme biologique des parcelles de petite taille, ce qui correspond à la situation

Tableau 3.26. Description du parcellaire utilisée pour les simulations en agriculture biologique

Ferme biologique avec production de semences	
Surface totale simulée	325 ha
SAU de la ferme	13 ha
% de colza sur la ferme	10-12%
Taille moyenne des parcelles	1 ha
Nombre de parcelles de production de semences	1
% de colza OGM hors ferme	10 ou 50%

Tableau 3.27. Gestion des cultures sur la ferme

Culture	Déchaumage	Travail du sol	Date de semis	Densité de semis	Efficacité de désherbage	Perte à la récolte
Colza	oui	Labour	30/08	70gr/m ²		5%
Colza semence	oui	Labour	30/08	70gr/m ²		5%
Blé d'hiver	oui	Chisel	3/10	350gr/m ²	40%	
Culture de printemps	oui	Chisel	1/03	350gr/m ²	40%	
Jachère		Chisel	1/03	330gr/m ²		

Tableau 3.28. Gestion des cultures hors de la ferme

Culture	Déchaumage	Travail du sol	Date de semis	Densité de semis	Broyage	Efficacité de désherbage	Perte à la récolte
Colza GM	oui	Chisel	30/08	70gr/m ²		95% (sélectif)	5%
Colza NGM	oui	Chisel	30/08	70gr/m ²			5%
Blé d'hiver	oui	Chisel	3/10	350gr/m ²		95%	
Culture de printemps	oui	Chisel	1/03	350gr/m ²		95%	
Jachère					Mi-Mai		

Tableau 3.29. Scénarios simulés avec une association variétale. Reconversion

Scénarios	Colza AA (contaminant)	Colza aa (contaminé)
Témoin 1	Conventionnel	Conventionnel
Témoin 2	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 1	Conventionnel	Association variétale
Scénario 2	Conventionnel	Association variétale

Tableau 3.30. Scénarios simulés avec une association variétale. Effet de voisinage

Scénarios	Colza AA (contaminant)	Colza aa (contaminé)
Témoin 3	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 3	Conventionnel	Association variétale

française la plus fréquente (Observatoire de l'Agriculture Biologique, 1999). La surface totale du parcellaire est de 325 ha et celle de la ferme simulée est de 13 ha constituée de petites parcelles d'environ 1 ha (*Figure 3.23, Tableau 3.26*).

Les fermes d'agriculture biologique ont des rotations avec des légumineuses et des légumes secs. Elles sont donc plus riches en cultures de printemps que les fermes conventionnelles. C'est ce que reflètent les rotations simulées.

Rotations :

Colza : C ; Blé d'hiver : BH ; Culture de printemps : OP ; Jachère de printemps : JP

Sur la ferme :
C/BH/OP/JP/BH/OP
OP/BH/PP/JP/BH

Hors de la ferme :
C/BH/BH/J/BH/OP
OP/BH/BH

Ces rotations sont ensuite distribuées au hasard sur les parcelles de la ferme et hors de la ferme, tout en respectant chaque année les proportions de colza du scénario simulé. Les pratiques culturales ne sont pas les mêmes en agriculture biologique ou conventionnelle. C'est en particulier le cas du travail du sol (labour ou chisel) et de la lutte contre les repousses (mécanique ou chimique). C'est pourquoi, elles ont été distinguées lors des simulations (*Tableaux 3.27 et 3.28*).

Les bordures sont broyées vers mi-mai afin d'empêcher les repousses de colza de produire des graines. Nous avons supposé que l'efficacité de désherbage n'était que de 40% en agriculture biologique, car il s'agit d'un désherbage mécanique peu efficace et non chimique.

2. Résultats

2.1. Impact d'une association variétale comprenant 80% de plantes mâle stériles

Une culture de colza en association variétale (80% de mâles stériles et 20% de mâles fertiles) devrait être plus exposée aux contaminations qu'un colza conventionnel. En effet, elle émet moins de pollen qu'un colza conventionnel (Cf. Chapitre 2/I) et son taux d'autogamie moyen est fortement abaissé par la présence des mâles stériles, ce qui peut poser un problème i) dans le cas d'une reconversion d'un colza AA conventionnel vers un colza aa association variétale ou ii) s'il y a dans le voisinage du colza aa (association variétale) des cultures de colza AA (conventionnel).

Ce sont les deux hypothèses testées par les scénarios suivants (*Tableaux 3.29 et 3.30*). Le niveau de contamination de la première récolte aa dans le cadre d'une reconversion ou celui d'une récolte aa après plusieurs cultures contiguës de colza AA et aa sont comparés à des témoins où tous les colzas cultivés sont conventionnels. Dans le cas de la reconversion, deux variantes de la conduite de la jachère ont été analysées : l'une où la jachère n'est broyée

Tableau 3.31. Génotypes semés pour les scénarios 1 à 3

Colza	Génotype
AA conventionnel	AAHHHHccrfrfmf
aa conventionnel	aaHHHHccrfrfmf
aa association variétale	80% aaHHHHccrfrfMS + 20% aaHHHHccrfrfmf

Tableau 3.32. Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 1 à 3

Valeur des paramètres	AAHHHHccrfrfmf	aaHHHHccrfrfmf	aaHHHHccrfrfMS
Autogamie	70%	70%	0%
Émission de pollen	100%	100%	0%
Hauteur	200cm	200cm	200cm
Production de graines	100%	100%	110%
Fertilité mâle	Fertile	Fertile	Stérile
Effet du transgène	Aucun	Aucun	Aucun

Tableau 3.33 Taux de contamination pour les scénarios 1 et 2

Simulation	Taux de contamination de la parcelle	Contamination en % du témoin 1	Contamination en % du témoin 2
<i>Témoin 1</i> AA et aa conventionnels jachères repousses	2.21E-02	100	372
<i>Scénario 1</i> aa association variétale jachères repousses	4.06E-02	184	684
<i>Témoin 2</i> AA et aa conventionnels jachères printemps	5.94E-03	27	100
<i>Scénario 2</i> aa association variétale jachères printemps	1.13E-02	51	190

Figure 3.24. Nombres d'années nécessaires au respect d'un seuil maximum d'impuretés.**Témoins 1 et 2, Scénarios 1 et 2**

Ces résultats ne tiennent pas compte de la sous-estimation de la dispersion à longue distance du modèle
GENESYS-COLZA

que le 20^e jour de la floraison des repousses de colza et où ces repousses émettent pollen et graines (Scénario 1, Témoin 1) ; l'autre où les jachères sont semées au printemps pour empêcher qu'elles ne servent de relais au flux de gènes (Scénario 2, Témoin 2).

Le scénario 3 est simulé pour un décalage de 0 ou de 2 ans entre les cultures de colza AA et aa. Le témoin 3, qui sera réutilisé par la suite pour toutes les études de contamination de voisinage, simule la culture de deux colzas conventionnels et l'étude de la contamination de l'un de ces colzas, aa, par l'autre colza, AA, dans une situation « stabilisée », i.e. après 19 ou 20 ans de culture commune des deux colzas AA et aa.

Les caractéristiques des colzas simulés sont basées sur celles des colzas conventionnels et association variétale existants (*Tableaux 3.31 et 3.32*). Le *tableau 3.33* présente les résultats obtenus pour un scénario où 3 ans se sont écoulés entre la dernière culture de colza AA et la première culture de colza aa.

La reconversion d'un colza conventionnel vers une association variétale présente beaucoup plus de risques qu'un colza conventionnel quel que soit le mode de gestion des jachères (*Tableau 3.33*). Le niveau de contamination de la première récolte de colza aa est presque doublé.

Le nombre d'années nécessaires pour respecter un seuil de pureté donné est sans doute sous-estimé par la modèle, cependant, ces simulations permettent de classer les différents scénarios selon les risques de contamination. D'après ces simulations, seul un semis des jachères au printemps permet de respecter un seuil de 1% de contaminations dans la récolte au bout de 3 ans pour un colza aa conventionnel (Témoin 2, *Figure 3.23*). Si l'on attend 4 ans pour semer le colza aa après la dernière culture de colza AA, on obtient une contamination inférieure à 1% pour le témoin 1 (colzas AA et aa conventionnels) et les scénarios simulant une culture aa en association variétale (Scénarios 1 et 2). Il faut attendre 5 ans pour avoir une contamination inférieure à 0.1% pour les colzas aa conventionnels (Témoins 1 et 2) et pour le colza aa en association variétale (scénario 2, jachères de printemps). Au bout de 6 ans, on passe au-dessous du seuil de 0.1% pour le scénario 1 (colza aa en association variétale, jachères repousses) et pour le témoin 2 (colza aa et AA conventionnels, jachères de printemps), les niveaux de contamination observés sont inférieurs à 0.01%. Il faut en revanche, attendre 7 ans pour que le témoin 1 (colza aa et AA conventionnels, jachères repousses) et les scénarios simulant une culture aa en association variétale (Scénarios 1 et 2) obtiennent des taux de contamination inférieurs à 0.01%.

En conclusion, le délai à respecter entre la dernière culture de colza AA et la première culture de colza aa pour ne pas dépasser un seuil X de contamination est supérieur si la culture aa est une association variétale, surtout si les jachères sont semées au printemps et broyées en cours de culture (*Tableau 3.34*). Comme lors des analyses de sensibilité, le taux de contamination des récoltes aa est divisé par plus de dix si les cultures de colza sont décalées dans le temps (Témoin 3, culture de colza aa en année 1 ou 3). En effet, si les cultures de colza aa et AA sont décalées, le seul pollen A présent l'année n de la culture du colza aa

Tableau 3.34. Taux de contamination pour le scénario 3

Simulation	Taux de contamination de la récolte de colza aa la 19 ^e année de simulation				
	Taux moyen sur la parcelle	Taux moyen en % du témoin	Distance minimum pour le respect du seuil X		
			X=1%	X=0.1%	X=0.01%
<i>Témoin 3</i> aa et AA conventionnels en année 1	1.02E-02	100	20m	20m	40m
<i>Scénario 3</i> aa association variétale en année 1	1.62E-02	159	20m	40m	80m
<i>Témoin 3</i> aa et AA conventionnels colza aa en année 3	8.15E-04	100	0m	0m	20m
<i>Scénario 3</i> aa association variétale en année 3	1.55E-03	190	0m	20m	20m

Tableau 3.35. Scénarios simulés avec un colza demi-nain

Scénarios	Colza AA (contaminant)	Colza aa (contaminé)
Témoin 1	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 4	Demi-nain hybride restauré	Conventionnel
Scénario 5	Conventionnel	Demi-nain hybride restauré

Tableau 3.36. Génotypes semés pour les scénarios 4 et 5

Colza	Génotype
AA conventionnel	AAHHHHccrfrmf
AA demi-nain	AAHhhhccrfrmf
aa conventionnel	aaHHHHccRfrfMS
aa demi-nain	aaHhhhccRfrfMS

Tableau 3.37. Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 4 et 5

Valeur des paramètres	HHHH	Hhhhh
Autogamie	70%	70%
Émission de pollen	100%	100%
Hauteur	200cm	118cm
Production de graines	100%	100%
Fertilité mâle	Fertile	Fertile
Effet du transgène	Aucun	Aucun

provient des repousses, or ces repousses sont détruites au moment du semis de la culture de printemps en année *n* sur la parcelle source (cultivée en colza AA l'année *n-2*). Au contraire, si les cultures AA et aa sont simultanées, les flux de pollen sont plus importants et les repousses des deux champs ne sont pas détruites cette année là.

L'association variétale peut très facilement être contaminée par un colza conventionnel voisin (*Tableau 3.34*), même si les deux variétés ne sont pas cultivées la même année (aggravations des contaminations par les repousses). Les distances d'isolement nécessaires pour respecter un niveau maximum de contamination de 0.1% ou 0.01% sont également allongées dans le cas d'une culture d'association variétale.

L'association variétale paraît donc beaucoup plus sensible aux contaminations qu'un colza conventionnel, que ce soit pour la contamination par un voisin ou par une culture précédente sur la même parcelle. Les distances d'isolement et les temps à attendre entre deux cultures pour le respect d'un niveau de contamination sont allongées par rapport à une culture de colza conventionnel.

2.2. Impact des hybrides demi-nains

Les colzas demi-nains commencent à être commercialisés. La hauteur jouant un rôle important dans la compétitivité des repousses, la reconversion d'un colza AA demi-nain vers un colza aa présente peut-être moins de risques que celle d'un colza AA conventionnel vers un colza aa conventionnel. On doit également se demander si, à l'inverse, une culture de colza aa demi-nain après plusieurs années de culture de colza AA conventionnel ne présenterait pas plus de risques d'être contaminée.

Les colzas demi-nains sont des hybrides restaurés. Issus d'un croisement entre un colza mâle stérile et un colza mâle fertile restaurateur de fertilité, les repousses issues de ces colzas pourront être stériles ou fertiles.

Deux cas de figures ont donc été comparés au témoin 1 utilisé dans l'analyse précédente (*Tableau 3.35*). Les colzas simulés varient pour la hauteur (*Tableaux 3.36 et 3.37*).

La reconversion d'un colza AA demi-nain vers un colza aa conventionnel (Scénario 4) présente beaucoup moins de risques que le témoin (*Tableau 3.38*). De plus, le risque de contamination d'une culture de colza aa demi-nain par des cultures précédentes de colza AA conventionnel est plus faible que le risque de contamination observé sur des colzas aa en associations variétales (Scénario 1, Cf. la partie précédente).

Le temps nécessaire entre les deux cultures de colza pour respecter les seuils de 1%, 0.1% et 0.01% est également diminué dans le cas du scénario 4 (AA demi-nain) par rapport au témoin AA conventionnel (Témoin 1) (*Figure 3.26*). Les contaminations d'un colza aa demi-nain après des cultures répétées de colza AA conventionnel (Scénario 5) sont faiblement augmentées (*Tableau 3.38*), mais le temps à attendre pour respecter un seuil donné de contamination reste globalement inchangé pour ce scénario (*Figure 3.26*).

Tableau 3.38. Taux de contamination pour les scénarios 4 et 5

Simulation	Taux de contamination de la parcelle	Contamination en % du témoin
<i>Témoin 1</i> aa et AA conventionnels	2.21E-02	100
<i>Scénario 4</i> AA demi-nain	1.66E-03	7.5
<i>Scénario 5</i> aa demi-nain	2.48E-02	112

Figure 3.24. Nombre d'années nécessaires au respect d'un seuil maximum d'impuretés. Témoin 1, Scénarios 4 et 5.

Ces résultats ne tiennent pas compte de la sous-estimation de la dispersion à longue distance du modèle GENESYS-COLZA

Tableau 3.39. Scénarios simulés avec un colza « cléistogame stable »

Scénarios	Colza AA (contaminant)	Colza aa (contaminé)
Témoin 3	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 6	« Cléistogame stable »	Conventionnel
Scénario 7	Conventionnel	« Cléistogame stable »
Scénario 8	« Cléistogame stable »	« Cléistogame stable »

Tableau 3.40. Génotypes semés pour les scénarios 6 à 8

Colza	Génotype
AA conventionnel	AAHHHHccrfrmf
AA « cléistogame stable »	AAHHHHCCrfrmf
aa conventionnel	aaHHHHccrfrmf
aa « cléistogame stable »	aaHHHHCCrfrmf

Le développement de colzas demi-nains conventionnels pourrait donc constituer un atout pour limiter les contaminations de colzas spéciaux par des conventionnels : il suffirait que les variétés d'usage spécial soient des variétés hautes. À l'inverse, cette configuration ne présente pas de gros inconvénient vis-à-vis de la contamination des colzas conventionnels demi-nains par les repousses de variétés spéciales.

2.3. Impact de la « cléistogamie stabilisée »

La cléistogamie du colza entraîne une fermeture des fleurs pendant toute la floraison si le caractère est stable. Si ce caractère de cléistogamie est stabilisé, il devrait avoir un effet sur deux caractères : l'émission de pollen devrait être diminuée et le taux d'autogamie augmenté. Les bénéfices attendus sont donc une moindre contamination à la fois des colzas voisins et par les colzas voisins. Les simulations avec GENESYS-COLZA devraient nous permettre d'évaluer l'impact de cette réduction des contaminations en cas de stabilité de la cléistogamie.

Trois scénarios seront comparés à un témoin afin d'étudier les différents cas possibles (*Tableau 3.39*) sur la situation « contaminations de voisinage » décrite au paragraphe 2.1. Les scénarios 6 (diminution de la contamination du voisinage grâce à l'utilisation d'un colza AA « cléistogame »), 7 (moindre contamination d'un colza aa si il a une « cléistogamie stabilisée ») et 8 (diminution des flux de gènes par la culture conjointe de colzas AA et aa « cléistogames stables ») seront comparés à ce témoin pour évaluer le gain apporté par la culture de variétés à « cléistogamie stabilisée ».

Les génotypes utilisés dépendent des scénarios (*Tableaux 3.40 et 3.41*).

L'utilisation d'un colza AA « cléistogame stable » (Scénario 6) permet de diminuer le taux de contamination moyen de la parcelle par rapport à une culture de colza AA conventionnel (Témoin 3) (*Tableau 3.42*) et permet de diminuer les distances minimum nécessaires pour respecter les seuils de contamination de 1% et 0.01% (cas des cultures simultanées, Scénario 6, colza aa en année 1). L'utilisation d'un colza aa « cléistogame stable » (Scénario 7) permet de diminuer son niveau de contamination dans le cas d'une culture simultanée des deux colzas (Scénario 7, colza aa en année 1), mais pas si les cultures de colza aa et AA sont décalées (Scénario 7, colza aa en année 3). Contrairement à ce qui était attendu, l'utilisation de colzas AA et aa « cléistogames stables » (Scénario 8) ne permet pas de diminuer les contaminations par rapport au scénario 6 où seul le colza AA était « cléistogame stable ». En effet, dans le scénario 8, le colza aa émet moins de pollen a et le pollen A est moins dilué ; les proportions de pollen A et a sont les mêmes que pour le témoin 3. Les contaminations observées sont cependant inférieures à celles observées pour le témoin 3 car le taux d'autogamie du colza aa est plus élevé, ce qui permet de diminuer faiblement les taux de contamination.

Tableau 3.41. Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 6 à 8

Valeur des paramètres	CC	Cc	cc
Autogamie	96%	83%	70%
Émission de pollen	10%	55%	100%
Hauteur	200cm	200cm	200cm
Production de graines	100%	100%	100%
Fertilité mâle	Fertile	Fertile	Fertile
Effet du transgène	Aucun	Aucun	Aucun

Tableau 3.42. Taux de contamination pour les scénarios 6 à 8

Simulation	Taux de contamination de la récolte de colza aa la 19 ^e année de simulation				
	Taux moyen sur la parcelle	Taux moyen en % du témoin	Distance minimum pour le respect du seuil X		
			X=1%	X=0.1%	X=0.01%
<i>Témoin 3</i> aa et AA conventionnels en année 1	1.02E-02	100	20m	20m	40m
<i>Scénario 6</i> AA cléistogame colza aa en année 1	8.03E-03	79	0m	20m	40m
<i>Scénario 7</i> aa cléistogame en année 1	9.54E-03	94	0m	20m	40m
<i>Scénario 8</i> aa et AA cléistogames en année 1	8.15E-03	80	0m	20m	40m
<i>Témoin 3</i> aa et AA conventionnels colza aa en année 3	8.15E-04	100	0m	0m	20m
<i>Scénario 6</i> AA cléistogame colza aa en année 3	6.93E-04	85	0m	0m	20m
<i>Scénario 7</i> aa cléistogame en année 3	8.37E-04	103	0m	0m	20m
<i>Scénario 8</i> aa et AA cléistogames colza aa en année 3	6.68E-04	82	0m	0m	20m

Ces résultats ne tiennent pas compte de la sous-estimation de la dispersion du modèle GENESYS-COLZA

Tableau 3.43. Scénarios simulés avec un colza nain « cléistogame stable ». Contamination du voisinage

Scénarios	Colza AA (contaminant)	Colza aa (contaminé)
Témoin 3	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 9	Nain « cléistogame stable »	Conventionnel

Tableau 3.44. Scénarios simulés avec un colza nain « cléistogame stable».
Contamination après reconversion

Scénarios	Colza AA (contaminant)	Colza aa (contaminé)
Témoin 1	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 10	Nain « cléistogame stable»	Conventionnel

Tableau 3.45. Génotypes semés pour les scénarios 9 et 10

Colza	Génotype
AA conventionnel	AAHHHHccrfrmf
aa conventionnel	aaHHHHccrfrmf
AA nain « cléistogame »	AAhhhhCCrfrmf

Tableau 3.46. Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 9 et 10

Valeur des paramètres	AAHHHHccrfrmf	aaHHHHccrfrmf	AAhhhhCCrfrmf
Autogamie	70%	70%	96%
Émission de pollen	100%	100%	100%
Hauteur	200cm	200cm	90cm
Production de graines	100%	100%	100%
Fertilité mâle	Fertile	Fertile	Fertile
Effet du transgène	Aucun	Aucun	Aucun

Tableau 3.47. Taux de contamination pour le scénario 9. Contaminations du voisinage

Simulation	Taux de contamination de la récolte de colza aa la 19 ^e année de simulation				
	Taux moyen sur la parcelle	Taux moyen en % du témoin	Distance minimum pour le respect du seuil X		
			X=1%	X=0.1%	X=0.01%
<i>Témoin 3</i> aa et AA conventionnels en année 1	1.02E-02	100	20m	20m	40m
<i>Scénario 9</i> AA nain cléistogame colza aa en année 1	9.24E-04	9	0m	0m	20m
<i>Témoin3</i> aa et AA conventionnels colza aa en année 3	8.15E-04	100	0m	0m	20m
<i>Scénario 9</i> AA nain cléistogame colza aa en année 3	4.06E-05	5	0m	0m	0m

Tableau 3.48. Taux de contamination pour le scénario 10. Contamination après une reconversion

Simulation	Taux de contamination de la parcelle	Contamination en % du témoin
<i>Témoin 1</i> AA et aa conventionnels	2.21E-02	100
<i>Scénario 10</i> AA nain cléistogame	2.58E-04	1.2

**Figure 3.25. Nombres d'années nécessaires au respect d'un seuil maximum d'impuretés.
Témoin 1, Scénario 10.**

Ces résultats ne tiennent pas compte de la sous-estimation de la dispersion à longue distance du modèle GENESYS-COLZA

Quel que soit le scénario testé avec un colza aa et/ou AA « cléistogame stable », les distances nécessaires pour respecter le seuil de 1% sont diminuées en cas de culture de colza aa en année 1, mais les distances nécessaires pour respecter les seuils de 0.1% et 0.01% ne sont pas diminuées avec l'utilisation d'un colza aa et/ou AA « cléistogame stable ». Si les cultures aa et AA sont décalées (colza aa en année 3), les distances nécessaires pour respecter un seuil maximum d'impuretés dans la récolte aa ne sont pas modifiées par l'utilisation d'un colza aa et/ou AA « cléistogame stable ».

Les distances citées dans le *tableau 3.42* sont certainement inférieures à celles nécessaires pour respecter ces seuils de pureté, mais elles permettent de montrer qu'avec l'hypothèse des valeurs de paramètres que nous avons adoptées pour le colza « cléistogame stable », une telle variété permettrait de limiter faiblement la contamination des colzas voisins ; cependant, elle ne serait pas moins susceptible aux contaminations par un colza conventionnel.

2.4. Impact des nains « cléistogames stables »

L'utilisation de colza demi-nain semble intéressante pour diminuer les contaminations dans le cadre d'une reconversion et l'utilisation d'un colza « cléistogame stable » permet de limiter les contaminations du voisinage. La combinaison des caractères de nanisme et de « cléistogamie stabilisée » pourrait être envisagée afin de diminuer les contaminations à la fois vers le voisinage, mais aussi, à long terme, de limiter la contamination par les repousses AA ou Aa.

La contamination d'un colza aa par un colza AA nain « cléistogame » a donc été comparée à la situation colza AA conventionnel dans les deux situations « contamination du voisinage » et « contamination après reconversion ». (*Tableaux 3.43 et 3.44*). Les géotypes semés seront les mêmes dans les deux cas de figure (*Tableaux 3.45 et 3.46*).

L'utilisation d'un colza nain « cléistogame stable » permet effectivement de très fortement diminuer les niveaux de contamination de la récolte par les colzas voisins par rapport à un colza conventionnel (*Tableau 3.47*) ou même par rapport à un colza « cléistogame » (contamination par un colza cléistogame en pourcentage du témoin 1 : 79% si les cultures sont simultanées et 85% si elles sont décalées pour le colza AA « cléistogame stable » au lieu de 9% et 5% pour le nain « cléistogame stable »). Les distances d'isolement suffisantes pour respecter les seuils de 1%, 0.1% et 0.01 sont très fortement diminuées par rapport à un colza conventionnel (Témoin 3).

La reconversion d'un colza AA nain « cléistogame stable » présente aussi beaucoup moins de risque qu'en colza conventionnel (*Tableau 3.48*).

Les temps nécessaires entre deux colzas pour respecter les seuils de contamination de 1%, 0.1% et 0.01% sont diminués avec un colza AA nain « cléistogame stable » (*Figure 3.27*) : 3 ans suffisent à respecter le seuil de 0.1% et il suffit d'attendre 4 ans pour respecter le seuil de 0.01%. Cependant, ces nombres d'années ne doivent pas être pris comme des valeurs

Tableau 3.49. Scénarios simulés avec un colza « pharmaceutique »

Scénarios	Colza AA (contaminant)	Colza aa (contaminé)
Témoin 3	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 11	Conventionnel	Pharmaceutique
Scénario 12	Pharmaceutique	Conventionnel
Scénario 13	Conventionnel	Pharmaceutique nain « cléistogame stable »
Scénario 14	Pharmaceutique nain « cléistogame stable »	Conventionnel
Scénario 15	Conventionnel	Pharmaceutique « cléistogame stable »
Scénario 16	Pharmaceutique « cléistogame stable »	Conventionnel

Tableau 3.50. Génotypes semés pour les scénarios 11 à 16

Colza	Génotype
AA conventionnel	AAHHHHccrfrmf
AA pharmaceutique	AAHHHHccrfrmf
AA pharmaceutique nain cléistogame stable	AAhhhhCCrfrmf
AA pharmaceutique cléistogame stable	AAHHHHCCrfrmf
aa conventionnel	aaHHHHccrfrmf
aa pharmaceutique	aaHHHHccrfrmf
aa pharmaceutique nain cléistogame stable	aahhhhCCrfrmf
aa pharmaceutique cléistogame stable	aaHHHHCCrfrmf

Tableau 3.51. Valeurs des paramètres génotypiques pour les simulations 11 à 16

Valeur des paramètres	CC	Cc	cc
Autogamie	96%	83%	70%
Émission de pollen	10%	55%	100%
Hauteur	De 200cm si 4H à 90cm si 0H		
Production de graines	100%	100%	100%
Fertilité mâle	Fertile	Fertile	Fertile
Effet du transgène sur la production de graine	Colza de qualité (AA ou aa) produit deux fois moins de graines d'un colza conventionnel (aa ou AA) pour les scénarios 11 à 16		

absolues mais plutôt être comparées à celles nécessaires pour respecter les seuils dans le cas du Témoin 1. En effet, le modèle sous-estime la dispersion des gènes et les niveaux de contamination des récoltes.

Le nain « cléistogame stable » permet donc de limiter les flux de gènes vers un colza voisin et dans les cultures suivantes. Il constituerait une intéressante combinaison de caractères pour un colza dont les fuites de graines et de pollen doivent être limitées.

2.5. Impact des colzas « de qualité »

Comme annoncé en introduction, nous allons maintenant étudier le cas de cultures de colza « de qualité », assurant une récolte par hectare relativement faible, mais très riche en composés d'intérêt.

Ces colzas « de qualité » pourraient contaminer des colzas alimentaires avec ces molécules d'intérêt. Ceci pourrait avoir de graves conséquences sur la récolte de colza alimentaire si ces molécules présentent un risque potentiel pour la santé humaine. Quel serait le risque de contamination de colzas alimentaires voisins par ces colzas spécifiques ? Ce risque peut-il être diminué si le caractère de « cléistogamie stabilisée » (et de nanisme) est associé au colza « de qualité » ?

La culture de colza spécifique ne peut être rentable pour l'industrie que si le colza produit assez de molécules d'intérêt et donc si la contamination de la récolte de ce colza est inférieure à un seuil donné. Quel est le risque que ce colza « de qualité » soit contaminé par les cultures voisines ? Ce risque est-il diminué si le caractère de « cléistogamie stabilisée » (et de nanisme) est associé au colza « de qualité » ?

Pour commencer à répondre à ces questions, plusieurs simulations ont été nécessaires pour tester tous les scénarios (*Tableau 3.49*) sur tous ces géotypes (*Tableau 3.50 et 3.51*). Pour accentuer l'effet de la productivité, le colza « de qualité » a été simulé comme produisant deux fois moins de graines qu'un colza conventionnel. La production de graines est liée au transgène pour les raisons évoquées précédemment (Paragraphe III.3).

Le *tableau 3.52* donne les taux de contamination observés pour chaque scénario simulé. On observe qu'un colza aa colza « de qualité » est plus contaminé par un colza AA qu'un colza aa conventionnel, quels que soient les caractères associés (Scénarios 11 : aucuns caractères supplémentaires, 13 : nanisme et « cléistogamie stable » associés, et 15 : « cléistogamie stable »).

L'association du caractère de « cléistogamie stabilisée » au colza colza « de qualité » (Scénario 15) permet de diminuer faiblement la contamination du colza aa colza « de qualité » si les cultures sont simultanées ; en revanche, si les parcelles voisines sont cultivées de façon décalée, la « cléistogamie stabilisée » ne présente aucun avantage.

Pour limiter la contamination du colza aa colza « de qualité » par un colza AA, la

Tableau 3.52. Taux de contamination pour les scénarios 11 à 16

Simulation	Taux de contamination de la récolte de colza aa la 19 ^e année de simulation				
	Taux moyen sur la parcelle	Taux moyen en % du témoin	Distance minimum pour le respect du seuil X		
			X=1%	X=0.1%	X=0.01%
<i>Témoin 3</i> aa et AA conventionnels en année 1	1.02E-02	100	20m	20m	40m
<i>Scénario 11</i> aa de qualité en année 1	1.47E-02	145	20m	20m	60m
<i>Scénario 12</i> AA de qualité colza aa en année 1	1.44E-03	14	0m	20m	20m
<i>Scénario 13</i> aa de qualité nain cléistogame en année 1	3.28E-02	322	20m	20m	60m
<i>Scénario 14</i> AA de qualité nain cléistogame colza aa en année 1	5.06E-05	0.5	0m	0m	0m
<i>Scénario 15</i> aa de qualité cléistogame en année 1	1.35E-02	132	20m	20m	60m
<i>Scénario 16</i> AA de qualité cléistogame colza aa en année 1	5.36E-04	5	0m	0m	20m
<i>Témoin 3</i> aa et AA conventionnels colza aa en année 3	8.15E-04	100	0m	0m	20m
<i>Scénario 11</i> aa de qualité en année 3	1.03E-03	126	0m	20m	20m
<i>Scénario 12</i> AA de qualité colza aa en année 3	2.77E-04	34	0m	0m	20m
<i>Scénario 13</i> aa de qualité nain cléistogame en année 3	1.34E-03	164	0m	20m	20m
<i>Scénario 14</i> AA de qualité nain cléistogame colza aa en année 3	1.14E-05	1.4	0m	0m	0m
<i>Scénario 15</i> aa de qualité cléistogame en année 3	1.08E-03	133	0m	20m	20m
<i>Scénario 16</i> AA de qualité cléistogame colza aa en année 3	.74E-04	21	0m	0m	20m

Ces résultats ne tiennent pas compte de la sous-estimation de la dispersion à longue distance du modèle GENESYS-COLZA

distance d'isolement pour respecter un seuil de 0.1% est augmentée de 20 m (soit une sous-parcelle) par rapport à un colza aa conventionnel. La distance est encore augmentée si le colza aa est également « cléistogame stable » (nain ou non) pour le seuil de 0.01% (152 m d'isolement sont nécessaires au lieu de 112 m pour le témoin). En effet, un colza « cléistogame stable » émet moins de pollen et pourrait ainsi être plus facilement contaminé.

En revanche, le colza « de qualité » AA (scénario 12) est bien moins contaminant qu'un colza AA conventionnel et ne présente pratiquement aucun risque pour la parcelle voisine de colza aa (les contaminations occasionnées par un colza AA « de qualité » sont pratiquement dix fois plus faibles que celles qui seront occasionnées par un colza AA conventionnel en cultures simultanées et trois fois plus faibles en cultures décalées). Le cumul du caractère de faible productivité avec des caractères de « cléistogamie stabilisée » (scénario 16) permet de diminuer encore ces disséminations à un niveau très faible (5% des contaminations observées chez le témoin en cultures simultanées, 21% en cultures décalées). Le caractère de nanisme permet de diminuer encore plus fortement les contaminations du colza aa par un colza AA « de qualité » nain et « cléistogame stable » (scénario 14). En revanche, il augmente fortement les risques de contamination de la culture « de qualité » aa (scénario 13). Et cela d'autant plus que la culture « de qualité » est « cléistogame stable » (scénario 15). Dans ce cas, la proportion de pollen aa est très faible et la grande majorité des graines issues d'allofécondation sont fécondées par du pollen A, ce qui augmente la contamination de la culture « de qualité » aa.

Ainsi les colzas « de qualité » peu productifs semblent présenter peu de risques pour les colzas conventionnels voisins, surtout s'ils sont également « cléistogames stables ». Les risques de contamination de colza alimentaire sont donc très faibles et les distances nécessaires pour respecter des seuils de 0.01% dans les colzas alimentaires voisins sont bien inférieures à celles nécessaires dans le cas de colzas conventionnels.

En revanche, le colza « de qualité » est beaucoup plus facilement contaminé par des cultures voisines qu'un colza conventionnel et les distances d'isolement nécessaires pour respecter un seuil maximum d'impuretés sont augmentées pour les seuils de 0.1% en cas de culture de colza aa 2 ans après le colza AA et 0.01% en cas de culture simultanée de colza aa et AA. Associer le caractère de nanisme à un colza « de qualité » augmente nettement le risque de contamination du colza « de qualité » par les colzas voisins et leurs repousses, mais permet quand même de nettement diminuer la contamination du voisinage par le colza « de qualité ».

2.6. Impact des types variétaux dans l'agriculture biologique

Une autre culture à risque est la culture de colza biologique. En effet, il s'agit généralement de petites surfaces et les contaminations par du pollen issu de variétés OGM ne sont pas tolérées. Une étude précédente (Angevin *et al.*, 2002) a montré la difficulté de produire du colza biologique dans un environnement où du colza GM (génétiquement modifié) est cultivé, avec différentes proportions d'OGM dans l'environnement (10% ou

Tableau 3.53. Scénarios simulés sur une ferme en agriculture biologique

Scénarios	Colza AA (GM)	Colza aa (NGM)
Témoin 4	Conventionnel	Conventionnel
Scénario 17	Nain « cléistogame stable »	Conventionnel
Scénario 18	Conventionnel	« Cléistogame stable »
Scénario 19	« Cléistogame stable »	« Cléistogame stable »

Chaque scénario est simulé avec soit avec une proportion de 10% d'OGM hors de la ferme, soit avec 50% d'OGM hors de la ferme.

Tableau 3.54. Génotypes semés pour les scénarios 17 à 19

Colza	Génotype
AA conventionnel	AAHHHHccrfrfmf
AA nain « cléistogame »	AAhhhhCCrfrfmf
AA « cléistogame »	AAHHHHCCrfrfmf
aa conventionnel	aaHHHHccrfrfmf
aa « cléistogame »	aaHHHHCCrfrfmf

Tableau 3.55. Valeurs des paramètres génotypiques pour les scénarios 17 à 19

Valeur des paramètres	CC	Cc	cc
Autogamie	96%	83%	70%
Émission de pollen	10%	55%	100%
Hauteur	De 200cm si 4H (normal) à 90cm si 0H (nain)		
Production de graines	100%	100%	100%
Fertilité mâle	Fertile	Fertile	Fertile
Effet du transgène	Résistance à l'herbicide utilisé en colza GM		

Tableau 3.56. Moyennes des contaminations sur une rotation complète après stabilisation des contaminations

		%OGM dans la récolte			% parcelles de la ferme contaminées au delà du seuil X		
		Ferme	Semences	Hors Ferme	X=0.01%	X=0.1%	X=1%
10% OGM hors ferme	Témoin 4 AA et aa conventionnels	3.54E-04	1.91E-03	5.01E-05	50%	25%	0%
	Scénario 17 AA nain et cléistogame	3.41E-05	1.68E-04	3.66E-06	25%	0%	0%
	Scénario 18 aa cléistogame	4.48E-04	2.37E-03	6.20E-05	50%	25%	0%
	Scénario 19 AA et aa cléistogames	4.94E-05	2.70E-04	1.69E-05	25%	0%	0%
50% OGM hors ferme	Témoin 4 AA et aa conventionnels	2.02E-04	2.14E-03	2.78E-04	38%	13%	0%
	Scénario 17 AA nain et cléistogame	1.65E-05	2.14E-04	1.85E-05	13%	0%	0%
	Scénario 18 aa cléistogame	2.47E-04	2.64E-03	3.41E-04	50%	13%	0%
	Scénario 19 AA et aa cléistogames	5.38E-05	3.00E-04	9.13E-05	13%	0%	0%

Ces résultats ne tiennent pas compte de la sous-estimation de la dispersion à longue distance du modèle GENESYS-COLZA

50%). Des simulations ont été faites avec GENESYS-COLZA sur ces contextes culturels pour estimer l'intérêt des nouveaux types de colzas pour limiter les contaminations des productions de colzas biologiques.

Lors de la production de semences biologiques aucune contamination par du colza OGM n'est tolérée (pollen ou repousses). Cette production se fait généralement sur une petite surface et en cas de production de semences hybrides (1/3 seulement des plantes sont mâles fertiles et celles-ci ne sont pas récoltées), les risques de contamination sont encore augmentés. Lors des simulations, on s'intéressera non seulement à la contamination moyenne de la récolte de colza biologique sur la ferme, mais aussi à la contamination d'une parcelle simulant une production de semences lignée.

L'utilisation d'un colza biologique aa cléistogame ou de colza GM AA nain cléistogame permet-il de respecter les seuils de pureté des récoltes de colza biologique pour la production de colza NGM (non génétiquement modifié) aa sur la ferme biologique ou en dehors ? Qu'en est-il si, sur la ferme biologique, il y a production de semences de colza biologique ?

Pour simuler des conditions favorables, les meilleures techniques culturales identifiées lors de l'étude ESTO par Angevin *et al.* ont été intégrées aux scénarios simulés. On a ensuite comparé les contaminations observées dans ces contextes avec des colzas conventionnels par rapport aux contaminations observées en changeant le colza utilisé (AA, aa ou les deux) (Tableaux 3.53 à 3.55).

Les contaminations sont observées environ dix ans après le début de la simulation (les stocks semenciers étaient nuls en début de simulation). À cette date, les niveaux de contamination apparaissent stables (ils ne varient pas dans les rotations suivantes).

Les résultats obtenus avec ce contexte plus complexe sont du même type que précédemment (Tableau 3.56). L'utilisation d'un colza AA contaminant nain « cléistogame stable » ou « cléistogame stable » (scénarios 17 et 19) permet de réduire les contaminations des récoltes de colza aa : par rapport au témoin 4, les contaminations observées sont divisées par dix pour le scénario 17 (colza AA nain « cléistogame ») et par 4 ou 7 pour le scénario 19 (colza AA et aa « cléistogames stables »). En effet, dans le cas du colza AA nain et « cléistogame stable », le colza AA émet moins de pollen et ses repousses sont moins compétitives. Dans le cas des deux colzas AA et aa « cléistogame stables », la proportion de pollen AA et aa est la même que celle observée avec le Témoin 4, cependant, le gain d'autogamie apporté par la « cléistogamie stabilisée » permet de limiter les contaminations des récoltes. L'utilisation de colza aa « cléistogame stable » (scénario 18) semble contre-indiquée car elle augmente le niveau de contamination des récoltes de près de 25% (Tableau 3.56). En effet, dans ce cas, la proportion de pollen aa est très faible et presque toutes les graines issues d'allofécondation ont été fécondées par du pollen A, ce qui augmente les contaminations des récoltes aa.

L'utilisation de colza AA OGM nain « cléistogame » ou « cléistogame » permet de respecter des seuils de 1% et 0.1% pour toutes les parcelles de la ferme et hors de la ferme, en

particulier pour la production de semences (seuils non respectés pour le témoin), mais ne permet toujours pas de respecter le seuil de 0.01% (seuil de détection, utilisé en agriculture biologique) pour les semences et ne permet de le respecter qu'occasionnellement pour le reste des cultures NGM (les données du *tableau 3.56* sont des moyennes sur une rotation soit sur 6 ans, sauf pour les semences dont la production n'a lieu qu'une fois par an). La même tendance est observée dans les deux contextes avec 10% ou 50% d'OGM hors de la ferme.

Cependant, bien que les classements des scénarios quant aux risques de contamination des récoltes soient exacts, ces valeurs sont des sous-estimations de la réalité. De plus, ces résultats pourraient varier dans un autre contexte ou avec un autre assolement. En effet, le placement des cultures en première année de simulation s'est fait au hasard et la parcelle de production de semence est contiguë à deux parcelles qui ne sont cultivées en colza OGM que l'année après la production de semences.

3. Conclusion partielle

Les simulations effectuées dans cette partie nous permettent de tirer quelques conclusions applicables à la production de semences. Lors de la production de semences, les taux maximaux d'impuretés variétales acceptés sont très faibles (de 1‰ à 1% selon la phase de sélection, voir Chapitre 1/I) Pour limiter les contaminations lors de la production de semences, deux moyens principaux sont utilisés : le temps de retour du colza afin de limiter le nombre de repousses présentes dans la culture et les distances d'isolement afin de limiter la pollution pollinique.

Si les semences produites sont des lignées, il n'y a pas vraiment d'effet des caractères étudiés sur le risque de repousses, seule la hauteur semble jouer sur les contaminations des récoltes par les colzas précédents. Si le colza précédent était un colza de faible hauteur, 5 ans suffisent pour respecter le seuil 0.01% au lieu de 7 ans si le colza précédent était haut, ce qui signifie que le temps de retour du colza sur cette parcelle pour la production de semences est diminué ; si, en revanche, il s'agit de produire des semences de colza de faible hauteur, il n'est pas nécessaire d'attendre plus de 7 ans. Les caractères étudiés peuvent avoir un effet sur les distances d'isolement nécessaires pour respecter les normes de pureté : par exemple, si le colza utilisé pour la production de semences émet moins de pollen que les colzas voisins, les distances d'isolement devront être augmentées pour respecter les seuils. En revanche, si les colzas voisins produisent moins de pollen, les distances pourront être diminuées. De même, si le cultivé produit moins de graines que les colzas voisins, il est important d'augmenter les distances d'isolement car les taux de contamination risquent d'augmenter fortement.

Si les semences produites sont des hybrides, les risques de contamination sont augmentés. Ce cas s'apparente à la culture d'associations variétales puisqu'une partie des plantes cultivées (celle sur laquelle les semences seront récoltées) est mâle stérile. Les simulations ont montré que dans ce cas, le risque de contamination par des repousses et par le voisinage était augmenté fortement. Il faut donc allonger les temps de retour et augmenter les distances d'isolement, ce qui correspond aux recommandations du GNIS (GNIS, 2001). À

cela s'ajoutent les effets évoqués au paragraphe précédent. L'effet de l'émission de pollen sera d'autant plus marqué que les plantes produisant du pollen lors de production de semences hybrides sont peu nombreuses.

Les simulations effectuées peuvent aussi être utilisées pour tirer des conclusions sur les risques inhérents à la culture de certains types variétaux. Pour l'instant, seuls deux types de colza (alimentaire et érucique) sont produits à grande échelle en France. Si la diversification se poursuit, il est peu réaliste d'imaginer un fort développement des associations variétales. En effet, elles sont plus sensibles à la contamination et ne peuvent être cultivées sans risques que si les cultures voisines sont du même type ou si les distances d'isolement et les temps de retour sont suffisamment grands.

Les simulations ont montré la grande sensibilité des associations variétales, type variétal déjà commercialisé, aux contaminations.

Un autre type de colza commercialisé est le colza demi-nain. Une des craintes était que ce colza soit plus sensible aux contaminations par les repousses des cultures de colza précédentes. Les simulations effectuées dans le cadre de reconversion ont montré que ces colzas ne présentaient pas plus de risques de contaminations que les autres, mais que en revanche, ils permettaient de limiter les contaminations dans les colzas suivants. Ce type de colza s'adapte donc bien à une diversification de la composition de la graine et des utilisations du colza et permettrait une reconversion plus facile.

La cléistogamie avait été présentée au chapitre 2 comme un type de colza en développement qui devait permettre de limiter la dispersion des gènes vers le voisinage et les contaminations de la récolte par le voisinage. Cependant, les simulations effectuées dans cette partie ont montré que même si la cléistogamie était stabilisée, son utilité serait limitée. Elle permet en effet de limiter la dispersion des gènes vers le voisinage, mais cette faible émission de pollen fait que ce colza est plus susceptible d'être contaminé. L'utilisation de la cléistogamie pour limiter la dissémination des gènes vers d'autres cultures paraît appropriée autant pour un parcellaire limité que pour un parcellaire plus complexe surtout si elle est associée au nanisme.

Ces simulations montrent qu'il semble plus intéressant de jouer sur les caractéristiques du colza contaminant que sur celles du colza contaminé. L'utilisation de colzas « pharmaceutiques » ne poserait pas de risque fort pour les autres colzas, surtout si ce colza est également cléistogame. Le modèle paraît donc à même de répondre aux questions de la filière, dans des contextes culturels variés. Son utilisation devrait permettre d'identifier les types variétaux à risque pour certains systèmes de culture et inversement d'identifier les types variétaux adaptés à un système de culture. L'objectif à terme pourrait être d'utiliser GENESYS-COLZA pour adapter à chaque situation culturelle la variété et les systèmes de culture associés.

Discussion générale

L'objet de ce travail était d'étudier l'influence de certains caractères variétaux sur les flux de gènes entre populations de colza, en particulier sur la contamination des récoltes de colza par d'autres populations de colza.

Après avoir établi à partir des données bibliographiques et des avis d'experts que trois caractères principaux étaient susceptibles d'avoir un effet majeur sur les flux de gènes en France, la variabilité de ces trois caractères - taux d'autogamie, taux d'émission de pollen et compétitivité en peuplement mixte - a été étudiée expérimentalement, et l'effet de la compétition sur les production de pollen et de graines a été modélisé. Ces caractères, et leur transmission héréditaire ont été inclus dans le modèle de flux de gènes GENESYS-COLZA. Des analyses de sensibilité du modèle aux paramètres variétaux et des analyses d'impact de types variétaux existants ou virtuels ont été ensuite effectuées.

Des analyses de sensibilité du modèle aux paramètres variétaux et des analyses d'impact de types variétaux existants ou virtuels ont été effectuées grâce au modèle amélioré.

À l'issue de ce mémoire, les acquis peuvent être présentés selon trois grands axes :

- Connaissances générales sur le colza ;
- Effets des variétés et intérêt du modèle pour l'étude des flux de gènes ;
- Méthodologie d'étude a priori des effets des innovations variétales.

1. Connaissances générales sur le colza

Les études réalisées ont permis de préciser différents aspects de la biologie du colza et d'élaborer de nouvelles méthodes de quantification de certains caractères.

1.1. Autogamie

Trois méthodes d'estimation du taux d'autogamie ont été présentées au cours de cette thèse. La première, utilisée le plus couramment, consiste en une mesure de taux d'hybridation sur des pieds « isolés » en situation de repousses dans une culture, utilisable à grande échelle mais présentant un risque de biais en cas de compétition entre les génotypes. La deuxième, utilisée uniquement par Becker et al. (1991, 1992), consiste en une mesure de taux d'hybridation avec un marqueur supposé neutre (c'est à dire sans effet sur le comportement, en particulier reproducteur, du colza) en situation de culture. Cette deuxième méthode est coûteuse en temps et en argent et ne peut donc être mise en œuvre, contrairement aux deux autres, que sur un petit nombre de plantes. Il peut également y avoir des surestimations du taux d'autogamie avec cette méthode, si une ou plusieurs plantes proches de celle étudiée possèdent les mêmes profils isoenzymatiques rares. La troisième méthode, développée au cours de la thèse, consiste en une comparaison des taux d'hybridation de la variété étudiée et de colzas mâles stériles. Cette méthode est utilisable à grande échelle comme la première. Il peut y avoir un biais si le comportement des insectes pollinisateurs est différent sur les variétés

mâles stériles et celles étudiées.

Ces trois méthodes nécessitent, au minimum, l'utilisation de deux génotypes de colza différant pour au moins un caractère utilisé comme marqueur. Elles n'ont jamais été comparées sur un même essai. Lors de la thèse, la première et la troisième méthode ont été comparées sur la même parcelle ; les valeurs de taux d'autogamie mesurées avec ces deux méthodes se sont révélées différentes. La méthode utilisant des mâles stériles a permis d'obtenir des résultats avec un faible coefficient de variation.

Pour vérifier la fiabilité des résultats et le biais sur chacune des méthodes, il serait nécessaire de mesurer le taux d'autogamie par les trois méthodes dans plusieurs situations : peuplement phénotypiquement homogène, ou peuplement associant variété cultivée et repousses ; variété à fleurs ouvertes tout au long de la floraison, variété à fleurs fermées du type cléistogame, ou association des deux phénotypes..

Une telle comparaison permettrait de déterminer la précision et les biais liés à chacune des méthodes et donc de savoir laquelle utiliser et dans quel cas afin de mesurer le taux d'autogamie de chaque variété de colza. En effet, le taux d'autogamie d'une repousse est peut-être très différent de celui d'une plante en culture à cause des conditions environnementales.

La comparaison entre une situation associant deux colzas à fleurs ouvertes et une situation associant un colza à fleurs ouvertes à un colza à fleurs fermées permettrait également de mesurer l'importance des insectes pollinisateurs dans l'allofécondation chez le colza. En effet, Pierre *et al.* (2002) ont étudié le comportement différencié des abeilles selon le type de colza, et montré que les circulation d'abeilles de l'un à l'autre étaient rares. Le génotype du colza n'aura, en revanche pas d'effet sur la dispersion anémophile du pollen. La comparaison des taux observés dans les deux cas permettrait ainsi de déterminer l'importance de la fécondation par les insectes. La question de l'importance relative (Mesquida et Renard, 1982, Scheffler *et al.*, 1993) des pollinisations entomophile et anémophile dans les allofécondations est en effet très controversée.

D'autres moyens sont envisageables pour estimer l'importance de la pollinisation entomophile. Par exemple, la pulvérisation d'insecticides ou de répulsifs sur certaines parcelles expérimentales pendant la floraison permettrait de comparer des situations avec et sans insectes dans un essai. Il serait également envisageable de comparer, sur des populations allogames, (males stériles par exemple), la fonction de dispersion réelle, avec insectes, à celle issue d'un modèle micrométéorologique (Foudhil *et al.*, 2002).

Le modèle GENESYS-COLZA utilise une fonction de dispersion empirique établie sur une expérimentation, qui ne différencie pas la pollinisation anémophile de la dispersion entomophile. Estimer l'importance de la dispersion par les insectes permettrait d'intégrer cet effet dans le modèle autrement qu'en terme d'effet aléatoire, donc de mieux simuler la dispersion du pollen et peut-être de résoudre une partie du problème de sous-estimation de la dispersion à grande distance.

La première méthode de mesure du taux d'autogamie, sur des pieds « isolés », est la plus employée pour déterminer les taux d'autogamie du colza, mais aussi d'autres espèces. Kakizaki a ainsi mesuré le taux d'autogamie de la tomate (Kakizaki, 1929) et de l'aubergine (Kakizaki, 1924) (cités par Jain *et al.*, 1968). Macvicar et Parnell (1941) ont utilisé la même méthode pour le millet des oiseaux (*Setaria italica*) (cité par Jain *et al.*, 1968). Innes (1961) et Simpson *et al.* (1954) pour mesurer le taux d'autogamie du coton (cité par Jain *et al.*, 1968). La méthode alternative développée pendant la thèse pourrait sans doute être adaptée et utilisée sur d'autres espèces pour lesquelles la pollinisation est principalement anémophile.

La question de la traçabilité, donc de la maîtrise des flux de gènes, remet à l'ordre du jour la mesure du taux d'autogamie. En effet, tant que les flux de gènes ne devaient être maîtrisés que sur des productions de niche à forte valeur ajoutée (semences, érucique), et que les contaminations n'étaient considérées comme gênantes qu'au-delà du pour mille ou du pour cent, il était possible de se contenter d'une appréciation grossière du taux d'autogamie et de ne pas connaître précisément sa variabilité génétique. Aujourd'hui, les seuils de pureté des récoltes exigés, pour les productions sans OGM particulièrement, nous obligent à connaître précisément le taux d'autogamie des plantes et à essayer de trouver des variétés plus autogames. Le problème de la mesure du taux d'autogamie ne concerne pas que le colza mais également les autres cultures. En effet, les moyens nécessaires pour gérer les flux ne seront pas les mêmes selon le taux d'autogamie des plantes, quelle que soit l'espèce considérée, en particulier avec les seuils de pureté exigés avec l'arrivée des OGM sur le marché.

1.2. Compétition

Les expérimentations portant sur la compétition entre des repousses d'un génotype et une culture d'un génotype différent ont permis de mettre en évidence l'effet de la hauteur sur la compétition intervariétale. Le fort effet de la différence de hauteur semble indiquer que la compétition pour la lumière est importante. Hakebotte (1996) avait également trouvé un fort effet de la compétition pour la lumière dans les phénomènes de compétition entre repousses de colza et cultures de blé. Cependant, d'autres facteurs influencent la compétition intraspécifique, ce qui est illustré par la qualité moyenne des modèles obtenus et par le fait que les meilleurs ajustements des équations aux données ne passent pas par 0. Selon les situations étudiées, des facteurs nutritifs peuvent être limitants et d'autres caractères comme la capacité à absorber l'azote par exemple, peuvent devenir déterminant pour la compétition. Dans ce cas, des caractéristiques de l'appareil racinaire vont sans doute influencer la compétitivité des génotypes.

Cependant, les équations élaborées au cours de la thèse ne pourront être utilisées dans le modèle pour des prédictions que si les différences de hauteur sont stables entre années. Pour le vérifier, il serait nécessaire d'établir des référentiels de hauteur sur plusieurs années et plusieurs sites.

Une conclusion intéressante du travail est l'absence de symétrie de l'effet de la différence de hauteur entre les génotypes. En effet, les expérimentations ont montré qu'une

repousse de colza basse dans un colza haut souffrait fortement de la compétition et ne produisait en conséquence pratiquement aucune graine. En revanche, une repousse de colza haute dans un couvert bas ne bénéficie que faiblement de son avantage compétitif puisqu'elle ne produit qu'un peu plus de pollen et de graines que le même génotype en culture pure. Ce phénomène sera intéressant à valoriser dans la gestion des flux de gènes.

Une autre question reste en suspens à l'issue de ces expérimentations : Buson (1979) a constaté, chez le colza, un effet hybride qui aurait dû avantager les hybrides pendant la compétition dans notre expérimentation. Or, aucun effet hybride n'a été mis en évidence. Les colzas hybrides demi-nains ne semblent pas très compétitifs, même en début de cycle, alors que la différence de hauteur ne s'est pas encore exprimée ; le comportement de l'hybride haut semble pouvoir être prédit par sa seule hauteur. Existe-t-il un effet hybride sur la compétition intervariétale, indépendant de la hauteur ? Pour le vérifier, il faudrait mettre en place des expérimentations comprenant des colzas lignées et hybrides de même hauteur et des colzas de hauteur différente mais du même type (hybrides ou lignées).

1.3. Cléistogamie

Le travail effectué pendant la thèse sur le taux d'autogamie du colza a aussi permis d'étudier un type variétal non encore commercialisé : le colza cléistogame. Le taux d'autogamie de ce colza semble être le même que celui d'un colza à fleurs ouvertes. Par contre, son émission de pollen paraît diminuée par rapport à un colza fleurs ouvertes. Le problème mis en avant par ces expérimentations est celui de l'instabilité de la cléistogamie. Chaque année, certaines fleurs du colza cléistogame se sont ouvertes sans que l'ouverture ou la fermeture des fleurs ait pu être reliée à des conditions climatiques précises. D'autres expérimentations et suivis plus précis seront nécessaires pour identifier les conditions de l'ouverture ou de la fermeture des fleurs cléistogames. Des essais en environnement contrôlé (serre) seront sans doute nécessaires.

Le ratio d'émission de pollen entre un colza à fleurs ouvertes et un colza à fleurs fermées a été estimé sur un petit nombre de plantes pièges et de graines. Une mesure à plus grande échelle et complétée par des mesures avec des pièges physiques permettrait de confirmer les résultats obtenus.

La sélection du colza cléistogame pour une meilleure stabilité du caractère de cléistogamie est en cours à l'INRA de Rennes et ce caractère est introduit dans différents fonds génétiques pour vérifier l'effet de ce fond sur la stabilité du caractère. Des recherches sont également en cours pour identifier et localiser le gène majeur de la cléistogamie. Après avoir sélectionné un colza cléistogame stable, la mesure de l'émission de pollen et du taux d'autogamie de ce colza sera nécessaire pour paramétrer GENESYS-COLZA pour le gène CC, lequel agit sur ces deux caractères.

1.4. Association variétale

La compétition entre mâles stériles et mâles fertiles dans une association variétale est

également liée à la hauteur des plantes, et il est nécessaire d'associer des génotypes qui n'ont pas une différence de hauteur trop grande. Généralement les plantes stériles, qui sont des hybrides, sont plus hautes et plus productives que les plantes mâles fertiles. Si celles-ci sont trop courtes par rapport aux mâles stériles, leur production en graines et surtout en pollen risque d'être affectée, ce qui peut entraîner une faible pression pollinique, une baisse de la fécondation des mâles stériles, et donc des pertes de rendement.

2. Effets des variétés et intérêt du modèle pour l'étude des flux de gènes

GENESYS-COLZA est un moyen d'exploration des possibilités de combinaison des caractères variétaux et des techniques culturales. Nous l'avons utilisé pour évaluer l'intérêt potentiel de génotypes virtuels, qui n'existent pas encore et qui n'existeront peut-être jamais. Par exemple, bien qu'il n'existe pas encore de colza fertile émettant peu de pollen, le modèle a permis de mettre en avant l'intérêt de mettre en place un programme de sélection dans le but de le créer. Le modèle a aussi été utilisé pour hiérarchiser les caractères variétaux par rapport à leur influence sur le flux de gènes.

Les analyses de sensibilité et les simulations effectuées dans la dernière partie de ce mémoire montrent la forte influence de l'émission de pollen sur les flux de gènes dans le voisinage et celle de la hauteur sur les contaminations dans le temps par les repousses. A l'inverse, le taux d'autogamie, dont on attendait une influence forte sur la pureté de la récolte, n'a pas d'effet marqué sur les contaminations, dans la gamme explorée. Dans ce cas, il paraît possible de créer des variétés dont les caractères génétiques ne doivent pas être dispersés, en sélectionnant pour une faible émission de pollen. Par contre, il ne paraît pas intéressant de chercher à créer des colzas à fort taux d'autogamie puisque cela ne suffit pas à garantir la pureté de la récolte de ce colza. Il est également apparu que la productivité en graines des colzas pouvait avoir un effet fort sur la contamination des récoltes. Cet effet pourrait être proportionnel au ratio de la productivité du colza contaminant sur la productivité du colza contaminé et influencerait la propagation des repousses et donc les contaminations dans le temps des parcelles cultivées en colza.

Une des questions des sélectionneurs concernait l'intérêt de proposer à l'inscription des associations variétales de différentes qualités, par exemple riche en acide érucique. Au vu des résultats de simulation, l'intérêt du producteur n'est pas de mettre en culture des associations variétales riches en acide érucique puisqu'elles seront fortement contaminées par les cultures de colza alimentaires voisines. Il vaudrait donc mieux éviter d'autoriser l'inscription de ces associations variétales et la sélection de tels colzas n'est pas à recommander.

À l'inverse, le développement de colza nain paraît intéressant. En effet, son utilisation permet de limiter les contaminations dans les cultures suivantes. De plus, les taux de contamination des récoltes de colza demi-nain par les cultures précédentes n'est que faiblement supérieur à ceux de colzas conventionnels grâce à l'asymétrie de la courbe de contamination issue des analyses de sensibilité.

Cependant, ces résultats sur les effets des différents caractères sur les flux de gènes, ont été obtenus sur des parcellaires simplifiés et ne sont pas applicables directement à des cas plus complexes puisque les analyses de sensibilité réalisées par N Colbach (travail en cours) ont montré que les flux de gènes étaient très dépendants de la forme, de la disposition et de la taille des parcelles.

Plusieurs problèmes restent à régler avant de pouvoir utiliser le modèle GENESYS-COLZA sans « risques d'erreurs ». En premier lieu, la validation du modèle reste très partielle. En particulier, les effets des caractères génotypiques dans le modèle n'ont pas encore été validés. Cette validation nécessiterait cependant la mise en place de lourdes expérimentations. La difficulté de mise en place de ces expérimentations est encore augmentée dans le contexte actuel de méfiance vis-à-vis des plantes transgéniques. Or, les colzas cultivés en France ne sont que de deux types, érucique ou non ; il est donc difficile de valider les résultats de simulations de flux de gènes à grande échelle. Pour ce faire, il faudrait disposer de marqueurs neutres non transgéniques (microsatellites,...). Ceux-ci sont en cours de développement et certaines études les utilisent déjà (Deville, travail en cours). D'autres pays comme le Canada ont commencé la culture de colza GM résistant à des herbicides. Dans ces situations culturales, les marqueurs disponibles, résistance/sensibilité à un herbicide, permettraient de valider le modèle sur des régions agricoles avec des parcelles de grande taille. Cependant, ceci nécessiterait d'adapter le modèle à ces contextes. Par exemple, le colza cultivé au Canada est de type printemps ; les techniques culturales et les parcellaires sont également différents dans ces pays, en particulier pour ce qui concerne la taille des parcelles. Les validations déjà faites ont montré que le modèle sous-estimait les contaminations à grande distance, des recherches sont donc en cours pour améliorer la courbe de dispersion de pollen, en particulier à grande distance ou en cas de présence de discontinuité (haie, route, bois,...). Pour l'instant, les ordres de grandeur de contamination des parcelles voisines obtenus par simulation sont inférieurs à ceux constatés, en raison des courbes de dispersion utilisées qui sous-estiment les dispersions de pollen et de graines. Ce modèle est prévu pour classer les systèmes et non pour prévoir des taux de contamination de récolte. C'est pourquoi le fait que les équations de compétition ne permettent pas de prédire précisément l'effet sur la production de graines ou de pollen des colzas n'est pas important puisque les effets de la compétition sur les ordres de grandeur de contamination sont convenablement simulés. Un autre point faible de GENESYS-COLZA concerne le comportement des populations de repousses hors champ de colza Deville *et al.*, (2002) ont entrepris de modéliser l'évolution temporelle de la structure génétique de ces populations. L'intégration de ce modèle à GENESYS-COLZA pourrait permettre d'améliorer la fiabilité des résultats obtenus avec GENESYS-COLZA, particulièrement pour les simulations de contaminations de proximité, sous l'hypothèse d'un entretien réduit des bordures de champ.

Enfin, pour accroître sa puissance dans l'étude de l'effet des génotypes sur les contaminations, le modèle GENESYS-COLZA devrait être modifié pour pouvoir simuler la culture de plus de deux variétés de colza différentes et intégrer d'autres gènes comme un gène ayant un effet sur le profil en acide gras si celui-ci devait avoir un effet sur d'autres caractères du colza comme la survie des graines dans le sol.

Cependant, GENESYS-COLZA est le premier modèle conçu pour simuler des flux de gènes intraspécifiques dans le temps et dans l'espace. D'autres travaux sont en cours pour adapter ce modèle à d'autres espèces comme la betterave. Des modèles analogues existent sur diverses espèces. Par exemple, MAPOD (Angevin *et al.*, 2001 ; Angevin *et al.*, 2002) permet de prévoir les flux de gènes entre cultures de maïs à l'échelle d'une région agricole. À la différence de GENESYS-COLZA, ce modèle ne prend pas en compte l'échelle temporelle puisque le problème des repousses ne se pose pas chez le maïs. Il n'y a donc pas besoin de simuler la transmission des caractères par des gènes pour intégrer des caractéristiques variétales dans ce modèle. Ce modèle devrait, en revanche, permettre à terme de tester des paysages aléatoires (Angevin *et al.*, travail en cours), donc d'évaluer l'effet moyen d'une technique culturale sur une gamme de variation de parcellaires, ce qui ne peut pas être fait sous GENESYS-COLZA.

3. Méthodologie d'étude *a priori* des effets des innovations variétales

L'évaluation de nouvelles variétés se fait classiquement par expérimentation sur de petites parcelles, chacune ensemencées avec une seule variété. Les caractères étudiés sont alors la productivité (rendement), la valeur industrielle (teneurs en huile, protéines et glucosinolates), les résistances aux maladies ou à la verse et des caractéristiques de développement (précocité et hauteur) ; toutes ces caractéristiques peuvent être mesurées aisément sur un réseau expérimental standard, tel que ceux mis en place par le CTPS, le CETIOM ou les sélectionneurs. Cependant, certains caractères variétaux ne peuvent être appréciés que dans des dispositifs spécifiques, spatialement étendus, et/ou pluriannuels, (donc très coûteux) ou en conditions agricoles : ainsi la compétitivité en repousses, la vulnérabilité au pollen extérieur, ou la capacité à diffuser du pollen en grande quantité. Nous avons montré que, pour apprécier l'impact de telles caractéristiques sur les flux de gènes, la modélisation constituait un outil très puissant en permettant d'étudier un ou plusieurs caractères dans une large gamme d'environnements ou sous l'effet de combinaisons de plusieurs techniques culturales.

L'utilisation d'un modèle temporel (simulant plusieurs années de culture) permet alors d'évaluer les variétés et leurs effets à court terme (une à quelques années) mais aussi à plus long terme (10 ans et plus). Si le modèle est spatial et simule un parcellaire ou un paysage, il est possible d'évaluer les variétés et leurs effets à grande échelle et en interaction avec d'autres variétés ou d'autres espèces cultivées tandis que l'évaluation classique doit se contenter d'études comparatives des variétés sans prendre en compte leurs interactions ni leurs arrière effets. L'utilisation d'un modèle permet également de connaître le comportement des variétés dans différents systèmes de culture, ce qui est possible, mais très coûteux (multiplication des expérimentations) dans l'évaluation classique.

Enfin, nous avons montré qu'un modèle permettait également d'évaluer une variété avant même sa création et donc de juger de l'intérêt de sélectionner sur un caractère avant d'engager le programme ; cette projection dans l'avenir peut intégrer différentes hypothèses concernant les systèmes de culture ou les contextes d'utilisation de la variété, ce qui permet

de cerner le créneau d'utilisation potentiel de la variété virtuelle. L'utilisation d'un modèle permet donc de limiter les frais d'expérimentation, d'accéder précocement (dès que la variété est fixée) à des impacts qui ne sont généralement connus que par l'utilisation à grande échelle, mais aussi d'éviter au sélectionneur de rentrer dans ses programmes des caractères peu intéressants dans le contexte auquel il destine la variété.

La première étape de la démarche a consisté à choisir un modèle. Pour l'étude menée ici, il fallait un modèle à la fois spatial et temporel. GENESYS-COLZA correspondait à ces exigences et était conçu pour étudier l'effet des conduites culturales sur les flux de gènes chez le colza. Cependant, pour évaluer et comparer des variétés, il fallait que le modèle prenne en compte certains caractères variétaux et leur effet sur ces flux.

La deuxième étape a donc été d'identifier les caractères variétaux à intégrer dans le (ceux influençant le phénomène d'intérêt, i.e. les flux de pollen et de graines) et de modifier le modèle pour ce faire. Afin de modéliser l'effet des caractères sur plusieurs années, il a été nécessaire de simuler leur transmission. C'est pourquoi l'effet des caractères sur les flux de pollen et de graines a été intégré dans le modèle par le biais de paramètres variétaux liés à des gènes. La valeur prise par les paramètres dépend donc du génotype simulé. La liaison entre les gènes simulés étant inconnue, ceux-ci ont été modélisés comme indépendants. Afin de ne pas ralentir les simulations, le caractère quantitatif a été simulé par deux gènes indépendants, ce qui permet d'obtenir plusieurs classes pour un caractère avec un minimum de gènes. Ces gènes agissent sur plusieurs paramètres variétaux et permettent de simuler l'introduction de variétés, le croisement de ces variétés et leurs effets au cours du temps. Les gènes simulés correspondent à des caractères sur lesquels la sélection peut porter. Ainsi, les résultats de simulations peuvent directement servir à orienter les programmes de sélection.

La troisième étape a consisté à mesurer la valeur des paramètres variétaux sur la base d'expérimentations ou de bibliographie. Des analyses de sensibilité du modèle à ces paramètres ont permis d'identifier les paramètres sur lesquels les mesures devaient être précises et de mettre en avant des besoins supplémentaires en expérimentation. Si, plus tard, d'autres caractères paraissent importants à simuler, ils pourront être ajoutés au modèle en reprenant les deux précédentes étapes (étude du caractère et de son effet sur le phénomène étudié, modélisation et intégration au modèle).

Une étape de validation du modèle modifié doit suivre ces analyses. Elle consiste généralement en une comparaison des situations réelles avec la simulation des mêmes situations avec le modèle. Cependant, il reste difficile de mener des expérimentations à grande échelle et sur plusieurs années (voir *supra*). C'est pourquoi la validation du modèle s'est faite et se continue par morceaux, chaque module (démographie, dispersion du pollen,...) se faisant sur des dispositifs séparés. Notons cependant que la validation de la prise en compte dans le modèle de certains caractères variétaux non intégrés aujourd'hui dans des variétés commerciales (cléistogamie par exemple) sera nécessairement peu poussée.

Enfin, la dernière étape est l'utilisation du modèle pour évaluer des variétés, existantes ou non. Pour détecter au mieux l'effet des variétés, les simulations doivent être effectuées sur

des situations culturelles augmentant les contrastes. Pour une variété dont on attend un bénéfice, la situation simulée doit présenter un maximum de risques. Par exemple, si une variété de colza doit permettre de limiter le flux de pollen, elle doit être testée dans une situation où les risques de contamination par le pollen sont élevés, telles deux parcelles contiguës cultivées en colza simultanément. Puis, si le bénéfice attendu n'est pas observé, cette variété doit être évaluée sur une situation culturelle à moindre risque. À l'inverse, une variété qui présenterait un risque doit d'abord être évaluée dans une situation minimisant les risques ; puis, si l'impact attendu n'est pas observé, cette variété devra être évaluée sur une situation à risque. Afin d'évaluer le bénéfice (ou la perte) apporté(e) par chaque variété, chaque simulation doit pouvoir être comparée à une situation témoin qui, ici, consistait en l'utilisation dans les mêmes circonstances d'une variété « conventionnelle », selon une démarche analogue à celle qui consiste à comparer la nouvelle variété à des « témoins » dans les expérimentations classiques. Ces simulations permettent de définir l'étendue de situations culturelles dans lesquelles les bénéfices et les pertes des différentes variétés s'expriment.

L'utilisation d'un modèle pour faire de l'évaluation variétale nécessite, comme ce mémoire l'a illustré, un travail préalable de modélisation, d'estimation de paramètres et de validation. Généralement, des expérimentations supplémentaires sont nécessaires, mais, une fois le modèle validé, il peut devenir, du moins nous l'espérons, un outil précieux pour la filière en vue de l'évaluation *ex-ante* des innovations variétales.

Références bibliographiques

- AMSOL – PROLEA** (2001a). Colza: dossier de presse juillet 2001 - Une huile et un tourteau aux nombreuses qualités. <http://www.amsol.asso.fr/actualites/frameactu.htm>
- AMSOL – PROLEA** (2001b). Colza: dossier de presse juillet 2001 - Le colza: un marché porteur. <http://www.amsol.asso.fr/actualites/frameactu.htm>
- AMSOL – PROLEA** (2001c). Colza: dossier de presse juillet 2001 - Colza: les débouchés non alimentaires. <http://www.amsol.asso.fr/actualites/frameactu.htm>
- AMSOL – PROLEA** (2001d). Colza: dossier de presse juillet 2001- Le marché du colza. <http://www.amsol.asso.fr/actualites/frameactu.htm>
- AMSOL – PROLEA** (2002). Colza: dossier de presse juillet 2002 - Innovations génétiques au service de la filière. <http://www.amsol.asso.fr/actualites/frameactu.htm>
- Angevin F., Klein E., Choimet C., Meynard J.M., de Rouw A., Sohbi Y.** (2001). Modélisation des effets des systèmes de culture et du climat sur les pollinisations croisées chez le maïs. In *"Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ"* (Ed. Meynard J.M., Le Bail M.) p.23-38.
- Angevin F., Colbach N., Meynard J.M., Roturier C.** (2002). Task 3 Analysis of necessary adjustments of farming practices. In *"Scenarios for coexistence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture"*. (Bock A., Lheureux K, Libeau-Dulos M, Nilsagard H, Rodriguez-Cereso E.) Ed. IPTS p.21-73.
- Astoin M.F., Champolivier J., Messéan A.** (2000). *Introduction de variétés génétiquement modifiées de colza tolérantes à différents herbicides dans le système de l'agriculture française: Evaluation des impacts agro-environnementaux et élaboration de scénarios de gestion*. Ed. CETIOM. 193 p.
- Azaïs J.M., Onillon J., Lefort-Buson M.** (1986). Une méthode d'étude des phénomènes de compétition entre génotypes - Application au colza (*Brassica napus* L.). *Agronomie*, **6**: 601-614.
- Becker H.C., Karlsson B., Damgaard C.** (1991). Genotypic and environmental variation for outcrossing rate in rapeseed. In *"GCIRC 1991 Congress"*, pp. 1454-1459, Saskatoon (Canada).
- Becker H.C., Damgaard C., Karlsson B.** (1992). Environmental variation for outcrossing rate in rapeseed (*Brassica napus*). *Theor. appl. Genet.*, **84**: 303-306.
- Berl M.** (2000). *Scénarios de gestion envisageables pour la mise en culture de colza transgénique résistant à un herbicide à large spectre*. Mémoire de DAA, INA P-G, Paris.
- Bilsborrow P.E., Evans E.J., Bowman J., Bland B.F.** (1998). Contamination of edible double-low oilseed rape crops via pollen transfer from erucic cultivars. *J. Sci. Food Agric.*, **76**:17-22.
- Buson M.** (1979). *Hétérosis et paramètres génétiques de quelques caractères agronomiques chez le colza oléagineux (Brassica napus L.)*. Thèse de l'Université Paris 6, Paris.
- Champolivier J.** (1998). *Plates-formes ICTA, Evaluation du flux de gènes dans l'environnement de parcelles de colza résistant à un herbicide*. Ed. CETIOM.

- Champolivier J., Messéan A.** (1997). Impact du colza transgénique dans les systèmes de culture : étude du flux de gènes. *OCL, Oléagineux, Corps gras, Lipides*, **4**: 111-113.
- Champolivier J., Messéan A.** (2002). Dispersion du pollen de colza: contribution des observatoires de terrain. In AIP-INRA "OGM et Environnement" (INRA, ed.), pp. 18-21, Paris.
- Child R.D., Chauvaux N., John K., Ulskov P., Van Onckelen H.A.** (1998). Ethylene biosynthesis in oilseed rape pods in relation to pod shatter. *J. exp. Bot.*, **49**: 829-838.
- Colbach N., Meynard J.M.** (1996). Modelling the influence of cropping system on gene flow for herbicide resistant rapeseed, presentation of model structure. In "X^e Colloque international sur la biologie des mauvaises herbes", pp. 223-230.
- Colbach N., Meynard J.M., Clermont-Dauphin C., Champolivier J.** (2000). GENESYS-COLZA: un modèle des effets à moyen et long terme des systèmes de culture sur les flux de gènes entre champs de colza et repousses dans un espace agricole. *OCL, Oléagineux, Corps gras, Lipides*, **7**: 329-340.
- Colbach N., Clermont-Dauphin C., Meynard J.M.** (2001a). GENESYS-COLZA: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. *Agric., Ecosystems Environ.*, **83**: 255-270.
- Colbach N., Clermont-Dauphin C., Meynard J.M.** (2001b). A model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rape volunteers in a field. *Agric., Ecosystems Environ.*, **83**: 235-253.
- Couturaud M.C.** (1998). *Effet des systèmes de culture sur les risques de dissémination du transgène de colza dans l'environnement : évaluation et utilisation du modèle GENESYS*. Mémoire de DAA. INA P-G, Paris.
- Delourme R., Budar F.** (1999). Male sterility. In "Biology of Brassica Coenospecies" Ed. Gomez-Campo C. p.185-216.
- Demotes-Mainard S., Doussinault G., Meynard J.M.** (1995). Effects of low radiation and low temperature at meiosis on pollen viability and grain set in wheat. *Agronomie*, **15**: 357-365.
- Denis M., Delourme R., Gourret J.P., Mariani C., Renard M.** (1993). Expression of engineered nuclear male sterility in *Brassica napus*: genetics, morphology, cytology and sensitivity to temperature. *Plant Physiol. (Bethesda)*, **101**(4): 1295-1304.
- Desmarescaux P.** (1998). Situation et perspectives de développement des productions agricoles à usage non alimentaire. <http://www.agriculture-gouv.fr/medi/etud/radesmarescaux.doc>.
- Deville A., Garnier A., Lecomte J., Huet S., Rozenholc Y., Larédo C., Emériaux V., Merrien A., Messéan A.** (2002). Origine et dynamique des populations de colza hors des champs. In AIP-INRA "OGM et Environnement" (INRA, ed.), pp. 42-45, Paris.
- Eisikowitch D.** (1981). Some aspects of oilseed rape. *J. agric. Sci., Camb.*, **96**: 321-326.
- Eurobaromètre 55.2** (2001). *Les européens, la science et la technologie*. Commission Européenne, Direction Générale de la Recherche.
- Fargue A.** (1999). *Effets des systèmes de culture et des génotypes sur la contamination génétique des*

- récoltes de colza*. Mémoire de DAA, INA P-G, Paris.
- Foudhil H., Brunet Y., Caltagirone J.P.** (2002). Modélisation physique de la dispersion atmosphérique à l'échelle d'un paysage hétérogène. In AIP-INRA "*OGM et Environnement*" (INRA, ed.), pp. 27-30, Paris.
- Gabrielle B, Roche R., Gosse G.** (1999). CERES-Rape, a model for the production and environmental impact of rapeseed. In "*10th International Rapeseed Congress*", Canberra (Australia).
- GEVES** (2001). *Les variétés de colza oléagineux du catalogue officiel français 2000-2001 - V.A.T. des variétés de la liste A et de l'annexe de la liste A*. n°3 août 2001. Ed. GEVES.
- GNIS** (2001). *Règlements techniques de la production, du contrôle et de la certification des semences*. Tome 1. Semences de grandes cultures certifiées commerciales mélanges. Ed. GNIS.
- Hails R.S., Rees. M., Kohn D.D., Crawley M.J.** (1997). Burial and seed survival in *Brassica napus* subsp. *oleifera* and *Sinapis arvensis* including a comparison of transgenic and non-transgenic lines of the crop. *Proc. royal Soc. London B*, **264**: 1-7.
- Habekotté B.** (1996). *Winter oilseed rape: analysis of yield formation and crop type design for higher yield potential*. Thèse de Wageningen Agricultural University, Wageningen (Pays-Bas).
- Hühn M., Rakow G.** (1979). Einige experimentelle Ergebnisse zur Fremdbefruchtungsrate bei Winterraps (*Brassica napus oleifera*) in Abhängigkeit von Sorte und Abstand. *Z. Pflanzenzücht.*, **83**: 289-307.
- Husson F., Leterme P.** (1997). Construction et validation d'un modèle de prédiction de la date de floraison du colza d'hiver. *OCL, Oléagineux, Corps gras, Lipides*, **4**: 379-384.
- Jain S.K., Marshall D.R.** (1968). Simulation of models involving mixed selfing and random mating. I. Stochastic variation in outcrossing and selection parameters. *Heredity*, **23**:411-432.
- Klein E.** (2000). *Estimation de la fonction de dispersion du pollen. Application à la dissémination de transgènes dans l'environnement*. Thèse de l'Université d'Orsay. Orsay.
- Lavigne C., Godelle. B., Reboud X., Gouyon P.H.** (1996). A method to determine the mean pollen dispersal of individual plants growing within a large pollen source. *Theor. appl. Genet.*, **93**: 1319-1326.
- Lavigne C., Klein E.K., Vallée P., Pierre J., Godelle B., Renard M.** (1998). A pollen-dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theor.appl. Genet.*, **96**: 886-896.
- Le Bail M., Meynard J.M., Angevin F.** (2001) Proposition de stratégies de ségrégation au champ et en entreprise de collecte-stockage. In "*Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ*". (Ed. Meynard J.M., Le Bail M.) p.5-22.
- Leterme P.** (1985). *Modélisation de la croissance et de la production des siliques chez le colza d'hiver ; application à l'interprétation de résultats de rendements*. Thèse INA P-G, Paris.
- Lewis L.J., Woods D.L.** (1991). Outcrossing in summer oilseed rape (*Brassica napus* L.) under Peace River, Alberta conditions. In "*GCIRC 1991 Congress*", pp. 1528-1531, Saskatoon (Canada).
- Lutman P.J.W.** (1993). The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Asp.appl. Biol.*, **35**: 29-36.

- Marshall B., Dunlop G., Ramsay G., Squire G.R.** (2000). Temperature-dependent germination traits in oilseed rape associated with 5'-anchored simple sequence repeat PCR polymorphisms. *J. exper. Bot.*, **51** (353): 2075-2084.
- Mesquida J., Renard M.** (1982). Etude de la dispersion du pollen par le vent et de l'importance de la pollinisation anémophile chez le colza. *Apidologie*, **13**: 353-366.
- Morgan C.L., Ladbroke Z.L., Bruce D.M., Child R., Arthur A.E.** (2000). Breeding oilseed rape for pod shattering resistance. *J. agric. Sci.*, **135**: 347-359.
- Olsson G.** (1960). Self-incompatibility and outcrossing in rape and white mustard. *Hereditas*, **46**: 241-252.
- Pekrun C., Hewitt J.D.J., Lutman P.J.W.** (1998). Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *J. agric. Sci.*, **130**: 155-163.
- Pessel F.** (2000). *De l'origine à la dynamique des populations spontanées de colza (Brassica napus) : une contribution à l'estimation et à la gestion des risques associés à l'introduction de variétés transgéniques*. Thèse de l'Université d'Orsay, 96 p.+annexes.
- Pessel F., Lecomte J.** (2000). Vers une compréhension de la dynamique des populations de colza "échappées" des cultures à l'échelle d'une région agricole. *OCL, Oléagineux, Corps gras, Lipides.*, **7**: 324-328.
- Pierre J., Mesquida J., Marilleau R., Pham-Delègue M.H., Renard M.** (1999a). Nectar secretion in winter oilseed rape, *Brassica napus* - quantitative and qualitative variability among 71 genotypes. *Plant Breed.*, **118**: 471-476.
- Pierre J., Renard M.** (1999b). Plant development mutants : incidence on honey bees behaviour and pollination. In "10th International Rapeseed Congress", 5 p., Canberra (Australia).
- Pierre J., Pham-Delègue M.H.** (2000a). Comment étudier l'impact de colzas transgéniques sur les abeilles? *OCL, Oléagineux, Corps gras, Lipides*, **7** (4): 341-344.
- Pierre J., Renard M.** (2000). Variabilité du comportement de butinage de l'abeille domestique (*Apis mellifera*) sur des mutants de colza (*Brassica napus*). Conséquences pour la pollinisation. *Acte des colloques des insectes sociaux*, **13**: 35-45.
- Pierre J., Picault, H., Tanguy, X., Renard, M.** (2001). Abondance et comportement des insectes pollinisateurs sur du colza à fleurs fermées: incidence sur les flux de gènes. *Colloque de la société française pour l'étude du comportement animal* (SFECA), 19 mai-1 juin 2001, Poitiers (France).
- Pierre J., Renard M.** (2002). La longévité du pollen de colza. *OCL, Oléagineux, Corps gras, Lipides*, **9**: 11-13.
- Price J.S., Hobson R.N., Neale M.A., Bruce D.M.** (1996). Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. *J. agric. Eng. Res.*, **65**: 183-191.
- Quinsac A.** (2001). Bonne teneur en huile du colza mais hausse des impuretés en 2001. *Oléoscope*, **63**: 22-24.
- Rakow G., Woods D.L.** (1987). Outcrossing in rape and mustard under Saskatchewan Prairie conditions. *Can. J. Plant Sci.*, **67**: 147-151.
- Renard M., Pelletier G.** (1994). Amélioration génétique du colza pour des utilisations non-

- alimentaires. In "*Colloque VANA*"
- Renard M., Delourme R.** (1995). Perspectives sur les hybrides de colza. In "*Rencontres annuelles du CETIOM*".
- Renard M., Delourme R., Barret P., Pelletier G., Guerche P., Morice J.** (1997). Amélioration génétique de la qualité de la graine de colza. In "*Réunion A.S.F.*".
- Rieger M.A., Lamond M., Preston C., Powles S.B., Roush R.T.** (2002). Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science*, **296**: 2386-2388.
- Rives M.** (1954). Le système de reproduction du colza. Sa signification du point de vue de la théorie polygénique de l'hérédité des caractères quantitatifs. *Ann.s de l'INRA, série B Ann. d'Amélioration des Plantes*, **4**: 21-31.
- Rudloff E., Schweiger W.** (1984). Eine Methode zur Schätzung der Fremdbefruchtungsrate bei Qualitätsraps (*Brassica napus* L.). *Archiv Züchtungsforsch.*, **14**: 327-334.
- Rush S., Conner J.K., Jenetten P.** (1995). The effects of natural variation in pollinator visitation on rates of pollen removal in wild radish. *Am. J. Bot.* **82** (12) : 1522-1526.
- Sauermann W.** (1993). Einflüsse auf den Glucosinolatgehalt - Ergebnisse 2-jähriger Untersuchungen aus den Landessortenversuchen. *Raps*, **11 Jg.(2)**: 82-86.
- Scheffler J.A., Parkinson R., Dale P.J.** (1993). Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oilseed rape. *Transgenic Res.*, **2**: 356-364.
- Schlink S.** (1994). *Ökologie der Keimung und Dormanz von Körnerraps (Brassica napus L.) und ihre Bedeutung für eine Überdauerung der Samen im Boden.* J. Cramer, Berlin, Stuttgart.
- Schott J.J., Bar-Hen A., Monod H., Blouet F.** (1994). Compétition entre génotypes dans des essais variétaux de colza oléagineux d'hiver. *Cah. Agricultures*, **3**: 377-383.
- Sicard, G.** (2002). La gestion de la pureté variétale en production de semences. In "*ESF Workshop : Estimating and managing gene flow and dispersal in GM crops*", 10p. Lille (France).
- Squire G.R., Marshall B., Dunlop G., Wright G.** (1997). Genetic basis of rate-temperature characteristics for germination in oilseed rape. *J. exper. Bot.*, **48**: 869-875.
- Squire G.R.** (1999). Temperature and heterogeneity of emergence in oilseed rape. *Ann. appl. Biol.*, **135**: 439-447.
- Stringam G.R., Downey R.K.** (1982). Effectiveness of Isolation Distances in Seed production of Rapeseed (*Brassica napus*). *Agron. Abst.*, 136-137.
- Szabo T.I.** (1985). Variability of flower, nectar, pollen and seed production in some canadian canola (rapeseed) varieties. *Amer. Bee J.*, **125 (5)** : 351-354.
- Thompson C.E., Squire G., Mackay G.R., Bradshaw J.E., Crawford J., Ramsay G.** (1999a). Regional pattern of gene flow and its consequences for GM oilseed rape. In "*1999 BCPC Symposium Proc.*", 96-106.
- Thompson C.E., Squire G., Mackay G.R., Bradshaw J.E., Crawford J., Ramsay G.** (1999b). Regional patterns of gene flow and its consequence for GM oilseed rape. In "*Gene Flow and Agriculture, relevance for transgenic crops*" (P.J.W. Lutman, ed.), pp. 95-100. BCPC, Keele, R-U.

- Timmons A.M., O'Brien E.T., Charters Y.M., Dubbels S.J., Wilkinson M.J.** (1995). Assessing the risks of wind pollination from fields of GM *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica*, **85**: 417-423.
- Uluskov P., Luchetti A.** (1998). FAIR Program Area 3: FAIR-CT96-3072: Engineering shatter resistance into oilseed rape. , <http://www.nf-2000.org/secure/Fair/S690.htm>. Bio-Mat Net.

Annexe A. Normes de commercialisation du colza

Seuils et contraintes de commercialisation (d'après Bris, 1999, CETIOM, Oléoscope 49 :14)

Annexe B. Précocité de floraison des variétés

Annexe C. Stades de floraison

(d'après Eisikowitch, 1981)

Annexe D. Itinéraires techniques des expérimentations menées au cours de la thèse

Essais association variétale et compétition 2000

Ces essais étaient intégrés à une parcelle d'essai de 9.3 ha.

Travail effectué	Produit/Matériel	Quantité	Date	Matière active
Labour			13/09/99	
Préparation du sol	Tiller		15/09/99	
Préparation de la terre	Herse packer		15-17/09/99	
Semis	Carma	5 kg/ha	15-17/09/99	
Herbicide	Novall	2.5L/ha	16-17/09/99	
Remplissage en colza		3kg/ha	17-22/09/99	
Apport d'azote	Amonitrate	200U/ha	20/09/99	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	23/09/99	Methaldehyde5%
Anti-limace	Limasan -R	5kg/ha	30/09/99	Methaldehyde5%
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	13/10/99	Pirimor G 0.5kg/ha
Herbicide (allées)	Round-up	5L/ha	08/11/99	
Herbicide (graminées)	Fusilade X2	0.6L/ha	12/11/99	Fluazifop-p-butyl 250gr/L
Apport d'azote	Azote Liquide	40U/ha	08/02/00	
Herbicide	Fusilade X2	0.6L/ha	21/02/00	Fluazifop-p-butyl 250gr/L
Apport d'azote	Azote liquide	50U/ha	08/03/00	
Apport de soufre	Sulfate de potasse	80U/ha	14/03/00	
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	06/04/00	Pirimor G 0.5kg/ha
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	28/04/00	Pirimor G 0.5kg/ha
Fongicide	Calidan	3L/ha	28/04/00	
Détourage essais			22/06/00	
Récolte des pieds isolés			05/07/00	
Andainage			06/07/00	
Début Récolte			19/07/00	

Essais association variétale et compétition 2001

Ces essais étaient intégrés à une parcelle d'essai de 8ha50.

Travail effectué	Produit/Matériel	Quantité	Date	Matière active
Herbicide	Round-up	3L/ha	01/09/00	
Engrais de fond	P-K	150U/ha	09/09/00	
Labour			11-12/09/00	
Préparation du sol	Tiller		12/09/00	
Préparation de la terre	Herse packer Crosskilette		12/09/00	
Semis (association variétale)	Stelon	9 kg/ha	12-13/09/00	
Remplissage en colza	Lutin	3kg/ha	14/09/00	
Herbicide	Novall	2.5L/ha	14/09/00	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	15/09/00	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	22/09/00	Methaldehyde5%
Préparation du sol	Tiller		22/09/00	
Préparation de la terre	Herse packer		25/09/00	
Semis (compétition)	Stelon	9 kg/ha	25/09/00	
Remplissage en colza	Lutin	3kg/ha	27/09/00	
Herbicide	Novall	2.5L/ha	27/09/00	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	06/10/00	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	23/10/00	Methaldehyde5%
Herbicide (allées)	Round-up	6L/ha	09/10/00	
Apport d'azote	Azote Liquide	60U/ha	31/01/01	
Herbicide	Cent,7	0.4L/ha	21/02/01	
Herbicide	Round-up	5L/ha	20/02/01	
Apport d'azote	Azote Liquide	40U/ha	08/02/00	
Herbicide	Fusilade X2	0.6L/ha	21/02/00	Fluazifop-p-butyl 250gr/L
Apport d'azote	Azote liquide	40+60U/ha	12/03/01	
Apport de soufre	Sulfate de potasse	80U/ha	13/03/01	
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	03/04/01	Pirimor G 0.5kg/ha
Apport d'azote	Azote liquide	40U/ha	06/04/01	
Broyage allées			10/04/01	
Fongicide	Punch.CS	0.8L/ha	23/04/01	Fluzilazole 200gr/L+Carbedazi me 125gr/L
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	10/05/01	Pirimor G 0.5kg/ha
Relever allées	Tiller phoma		15/05/01	
Herbicide (allées)	Round-up	5L/ha	17/05/01	
Andainage			27-29/06/01	
Début Récolte			09/07/01	

Essai Cléistogamie 1999

Travail effectué	Produit/Matériel	Quantité	Date	Matière active
Labour			07/09/98	
Préparation de la terre			07/09/98	
1 ^{er} Semis	Carma	9 kg/ha	07/09/98	
Herbicide	Novall	2.5L/ha	07/09/98	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	16/09/98	Methaldehyde5%
Labour 2 ^e semis			24/09/98	
Préparation de la terre			24/09/98	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	29/09/98	Methaldehyde5%
2 ^e Semis	Carma	9 kg/ha	29/09/98	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	05/10/98	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	12/10/98	Methaldehyde5%
Semis remplissage-céréales	Ritmo	120kg/ha	14/10/98	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	20/10/98	Methaldehyde5%
Herbicide	Novall	2.5L/ha	22/10/98	
Apport d'azote	Ammonitrate	40U/ha	26/10/98	
Anti-limace	Malice	7.5kg/ha	29/10/98	Methaldehyde5%
Apport d'azote	Azote liquide	60U/ha	12/02/99	
Herbicide	Lontryx 200 + huile	0.5L/ha+ 1L/ha	17/02/99	Clopyralid 200gr/L+Agral
Apport d'azote	Azote liquide	50U/ha	18/03/99	
Apport de soufre	Sulfate de potasse	75U/ha	26/03/99	
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	09/04/99	Pirimor G 0.5kg/ha
Fongicide	Calidan	3L/ha	09/04/99	
Récolte des pieds isolés			01/07/99	
Andainage			02/07/99	
Début Récolte			07/07/99	

Essai Cléistogamie 2000

Travail effectué	Produit/Matériel	Quantité	Date	Matière active
Labour			06/09/99	
Préparation de la terre			07-08/09/99	
1 ^{er} Semis	Carma	9 kg/ha	08/09/99	
Herbicide	Novall	2.5L/ha	09/09/99	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	13/09/99	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	23/09/99	Methaldehyde5%
Remplissage	Ray-grass		11/10/99	
Herbicide (détourage)	Round-up	5L/ha	12/10/99	
Apport d'azote	Azote liquide	40U/ha	14/10/99	
Anti-limace	Malice	7.5kg/ha	29/10/98	Methaldehyde5%
Apport d'azote	Azote liquide	60U/ha	12/02/99	
Herbicide	Fusilade X2	0.6L/ha	19/01/00	Fluazifop-p-butyl 250gr/L
Apport d'azote	Azote liquide	40U/ha	08/02/00	
Repiquage des mâles stériles			23/02/00	
Apport d'azote	Azote liquide	50U/ha	09/03/00	
Apport de soufre	Sulfate de potasse	80U/ha	14/03/00	
Broyage Ray-grass			04/04/00	
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	06/04/00	Pirimor G 0.5kg/ha
Pose de la ruche			11/04/00	
Retrait de la ruche			17/05/00	
Broyage Ray-grass			19/05/00	
Récolte plantes individuelles			22/06/00	
Andainage			23/06/00	
Début Récolte			18/07/00	
Herbicide	Round-up	5L/ha	17/08/00	

Essai Cléistogamie 2001

Travail effectué	Produit/Matériel	Quantité	Date	Matière active
Herbicide	Round-up	3L/ha	12/09/00	
Engrais de fond	P-K	150U/ha	18/09/00	
Covercrop			18/09/00	
Labour			26/09/00	
Préparation de la terre	Herse packer		26/09/00	
Semis	Stelon	9 kg/ha	26-27/09/00	
Semis poquets			27/09/00	
Herbicide	Novall	2.5L/ha	27/09/00	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	27/09/00	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	06/10/00	Methaldehyde5%
Remplissage	Blé	130kg/ha	09/10/00	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	23/10/00	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	01/12/00	Methaldehyde5%
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	04/12/00	
Apport d'azote	Azote liquide	80U/ha	01/02/01	
Herbicide (détourage)	Round-up	5L/ha	20/02/01	
Eclaircissage ou repiquage des poquets	'Fu58 Falcon'		01/03/01	
Apport d'azote	Azote liquide	60U/ha	12/03/01	
Apport de soufre	Sulfate de potasse	80U/ha	13/03/01	
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	03/04/01	
Pose de la ruche			03/04/01	
Broyage Blé			11/04/01	
Rabattage	'Falcon pat'		18/04/01	
Fongicide	Punch CS	0.8L/ha	23/04/01	
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	10/05/01	Pirimor G 0.5kg/ha
Fongicide	Punch CS	0.8L/ha	22/05/01	
Broyage Blé			14/06/01	
Récolte plantes individuelles			03/07/01	
Andainage			04/07/01	
Début Récolte			24-25/07/01	
Herbicide	Round-up	5L/ha	30/08/01	

Essai Autogamie et hauteur 2001

Travail effectué	Produit/Matériel	Quantité	Date	Matière active
Herbicide	Round-up	3L/ha	18/08/00	
Engrais de fond	P-K	150U/ha	31/08/00	
Covercrop			01/09/00	
Labour			04/09/00	
Préparation de la terre	Tiller		05/09/00	
Préparation de la terre	Herse packer (*2)		05/09/00	
Semis	Stelon	9 kg/ha	05/09/00	
Semis poquets			06/09/00	
Herbicide	Novall	2.5L/ha	06/09/00	
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	11/09/00	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	22/09/00	Methaldehyde5%
Anti-limace	Helarion	5kg/ha	06/10/00	Methaldehyde5%
Remplissage	Blé	130kg/ha	09/10/00	
Apport d'azote	Azote liquide	80U/ha	01/02/01	
Herbicide (détourage)	Round-up	5L/ha	20/02/01	
Herbicide	Cent 7	0.4L/ha	21/02/01	
Herbicide (détourage)	Round-up	5L/ha	08/03/01	
Eclaircissage ou repiquage des poquets			09/03/01	
Broyage Y colza			28/03/01	
Pose de la ruche			01/04/01	
Broyage Blé			11/04/01	
Fongicide	Punch CS	0.8L/ha	23/04/01	
Insecticide	Karate vert	0.15L/ha	10/05/01	
Broyage Blé			14/06/01	
Récolte plantes individuelles			19/06/01	
Andainage			19/06/01	
Début Récolte			06/07/01	
Herbicide	Round-up	5L/ha	30/08/01	

Annexe E. Climat observé pendant les périodes de floraison du colza sur les expérimentations 1999, 2000 et 2001

*Gene flow management in rapeseed:
Ex-ante study of some varietal innovation impact*

Fargue Agnès (2002)

PhD Thesis, Institut National Agronomique Paris-Grignon

Abstract

Rapeseed production and uses (food and non food) are very diversified. New kinds of rapeseed are being commercialised or developed. This diversification of rapeseed crops and uses needs a guarantee of product purity. But, harvest contaminations can occur due to gene flow via pollen (rapeseed can be outcrossed by pollen moved by wind or insects) during flowering or via seeds (dehiscence at maturity, harvest conveyance), which can develop into volunteers. Some cropping techniques and varietal traits can diminish or increase these gene flow and thus influence harvest contamination. To better manage gene flow, it is necessary to choose the best varietal traits and cropping techniques for each cropping situation. This study focused on evaluating the positive or negative impact of some varietal traits on the management of intraspecific gene flow.

The GENESYS-RAPE model (Gene and cropping System) was chosen to evaluate this impact on different cropping situations. This model (Colbach et al 2001a,b) simulates the effect of some cropping techniques and some varietal traits on gene flow between rapeseed populations in an agricultural region. But only one gene is taken into account in this model: a transgene, which can have an effect on herbicide resistance, autogamy rate, pollen emission and seed production.

Several experimentations were set up in 1999, 2000 and 2001 to measure the effect of some varietal traits on gene flow and to measure the existing variation scale for competitiveness (an equation modelling the effect of intraspecific competition on pollen and seed production was elaborated), autogamy rate and pollen emission. Five new genes were added to the model and parameterised to simulate these three traits: two genes having an effect on plant height, two genes simulating a male fertility/sterility system and one gene having an effect on autogamy rate and pollen emission. GENESYS-RAPE thus modified was used to estimate the effect of genotypical parameters on gene flow. The most pertinent parameters were the autogamy and the pollen emission rate, which influence gene flow between plots and plant height, which influences the capability of a genotype to contaminate the succeeding rapeseed crops.

Other simulations were done to answer questions of the rapeseed production path. Varietal associations (containing 80% of male sterile plants) were found to be more susceptible to contaminations by preceding or neighbouring crops. On the other hand, associating dwarfism and low pollen emission to a transgene can limit dissemination of the transgene to a contiguous plot. The validation of the model is still being done but it can already be used to determine the most adapted variety x cropping techniques combination to limit gene flow in a given cropping situation.

***Maîtrise des flux de gènes chez le colza :
Etude ex-ante de l'impact de différentes innovations variétales***

Fargue Agnès (2002)

Thèse de doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon

Résumé

La tendance actuelle en colza est à la diversification de la production et des utilisations alimentaires et non-alimentaires. Cette diversification doit pouvoir s'appuyer sur une garantie de pureté des produits. Or, des contaminations des récoltes peuvent se produire à travers des flux de gènes via le pollen (le colza peut-être allofécondé par du pollen transporté par le vent ou les insectes), à la floraison, et via les graines (déhiscence précoce, transport des récoltes), qui peuvent donner naissance à des repousses. Ces flux peuvent être plus ou moins favorisés par certaines techniques culturales et certains caractères variétaux. Une adéquation entre systèmes de culture et caractères variétaux est nécessaire pour permettre une meilleure maîtrise des gènes.

Le travail de thèse a pour objectif d'évaluer l'impact positif ou négatif de certains caractères variétaux sur la maîtrise des flux de gènes intraspécifiques.

Pour évaluer cet impact dans diverses situations culturales, il a été choisi d'utiliser un modèle déjà existant : (GENEs et SYStèmes de culture), lequel permet de simuler l'effet de certaines techniques culturales et caractères variétaux sur le flux de gènes chez le colza.

Cependant, ce modèle ne prend en compte qu'un seul gène, le transgène, et son effet sur le taux d'autogamie, l'émission de pollen et la productivité en graines.

Différentes expérimentations ont été mises en place en 1999, 2000 et 2001 pour mesurer l'effet de certains caractères variétaux sur les flux de gènes et mesurer la gamme de variation existante pour ces caractères. Il s'agit de la compétitivité (élaboration d'une équation de l'effet de la compétition intervariétale sur la production de graines et de pollen), le taux d'autogamie et l'émission de pollen.

Cinq nouveaux gènes ont été ajoutés au modèle et paramétrés pour rendre compte de ces caractères : 2 gènes agissant sur la hauteur, 2 gènes simulant un système de stérilité/fertilité mâle et 1 gène pouvant agir sur le taux d'autogamie et l'émission de pollen.

GENESYS-COLZA, ainsi modifié, a été utilisé pour estimer l'effet des paramètres génotypiques sur les flux de gènes. Les paramètres les plus pertinents semblent être l'émission de pollen qui influence fortement les flux de parcelle à parcelle, ainsi que la hauteur des génotypes qui va influencer la capacité d'un génotype à contaminer les cultures suivantes de colza.

L'intégration des nouveaux gènes dans GENESYS-COLZA a servi à effectuer d'autres simulations. Leur but était de répondre à des questions de la filière concernant l'effet de certaines combinaisons de caractères sur les flux de gènes dans l'espace et dans le temps. Ces simulations ont montré le risque accru de contamination des associations variétales (80% de mâles stériles) par les cultures de colza précédentes ou voisines. Et, dans le cas d'un gène dont la dissémination dans l'espace et/ou dans le temps doit être limitée, des simulations ont permis de montrer l'intérêt d'associer nanisme et émission de pollen réduite à ce gène.

La validation du modèle se poursuit mais il pourra être utilisé pour déterminer la combinaison variétés x pratiques culturales permettant de limiter les flux la plus adaptée à chaque situation culturale.