

# FLUX DE GÈNES ENTRE LA BETTERAVE SUCRIÈRE GM ET LES BETTERAVES RUDÉRALES DANS LES CONDITIONS DE LA PRODUCTION DE SEMENCES AU CHAMP

B. ALIBERT\*, H. SELLIER\* ET A. SOUVRÉ\*\*

• GNIS, France

- \*\* *Professeur d'Université émérite, Responsable scientifique, Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, INP-ENS Agronomique de TOULOUSE, France*

## RÉSUMÉ

La compatibilité entre le pollinisateur GM (gène *EPSPS* de résistance au glyphosate et gène *uidA*) et les rudérales de la région ayant été mesurée et les techniques d'analyse mises au point au laboratoire, une expérimentation au champ a été effectuée successivement pendant trois ans dans le sud-ouest de la France, principale région de production de semences de betteraves.

La première année a permis: *i*) de mesurer les taux d'hybrides GM chez les jeunes plants et les embryons de semences non germées des 60 rudérales et des 20 MS, issues de microparcelles implantées à 10m, 50m, 100m et 200m de la source, et *ii*) de vérifier le potentiel fécondant du pollen GM à 1000m de la source en utilisant des îlots de MS.

La seconde année a été conçue pour mesurer les flux de transgènes en fonction de la distance (jusqu'à 1000m) et de la densité des rudérales dans les microparcelles (1,5 ou 50 rudérales + 20 MS) et évaluer la dispersion du pollen par captage\* jusqu'à 1500m de la source de pollen GM.

La troisième année a été consacrée à l'étude de la transmission des transgènes entre des rudérales hybrides GM et les rudérales non-GM de même génération.

Notons que le pollinisateur GM et les MS étaient diploïdes, comme les rudérales qui ont été écimées au cours des deux premières années pour améliorer le synchronisme des floraisons.

Succinctement, les résultats permettent de dire que dans nos conditions expérimentales qui volontairement favorisaient le transfert, une bonne compatibilité et le potentiel fécondant du pollen GM à longue distance de la source permettent le transfert des transgènes entre la source de betteraves sucrières GM et les rudérales, dans les conditions de la production de semences au champ. Mais, que l'orientation par rapport au vent dominant, l'éloignement, l'autocompatibilité partielle et le fort potentiel pollinisateur des rudérales limitent considérablement les possibilités d'introgession des gènes étrangers chez ces rudérales. Par ailleurs, le flux de gènes ne semble pas avoir de caractère invasif pour les générations suivantes.

\* L'étude du captage pollinique a été effectuée par le Dr. M. Calléja, Lab. De Palynologie, ENSA Montpellier, France.

## **SUMMARY - GENE FLOW FROM SUGAR BEET TO WILD RELATIVES UNDER FIELD CONDITIONS OF SEED PRODUCTION**

In prior studies, the compatibility of GM beet pollen, (expressing *EPSP* and *uidA* genes), and the environmental wild relatives (ruderals) have been measured and analytical techniques optimised. We report here, results concerning a three year open field trial in South West of France, a well known area for beet seed production.

The first year allowed to: *i*) to measure the level of GM hybrids in germinated seedlings and in non-germinated embryos issued from 60 ruderals and 20 male sterile (MS) plants, which were planted in micro-plots located at 10m, 50m, 100m and 200m from the GM pollen source and *ii*) to study the fertilisation potential of the GM pollen at 1000m from the source by using MS plots.

The second year experiments were conceived to measure transgene flow with respect to the distance (up to 1000m) and to the density of ruderals in micro-plots (1, 5, 50 ruderals + 20 MS) and to evaluate pollen dispersal for distances reaching 1500m from the GM source by using the pollen trap technique\*.

During the third year, we measured the transfer of transgenes between GM hybrids of ruderals with non transgenic ruderals of the same generation.

Note, the GM and MS lines were diploïds as ruderals which were headed during the first two years, to increase the synchronism of flowerings.

Briefly, these results show that under our conditions favouring gene transfer in addition of the compatibility and the fertilisation potential of GM pollen, transgene flow from GM source to ruderals does occur under conditions of field seed production. However, field orientation with respect to prevailing winds, distance, partial autocompatibility and the relatively high pollinating potential of ruderals, are determinant factors and considerably limit the possibility of introgression of foreign genes into these wild relatives. In addition, gene flow does not seem to have any invasive character during successive generations.

\* The pollen trap study was made by Dr. M. Calléja, Palynology Lab., ENSA Montpellier, France.

## **ZUSAMMENFASSUNG - GENFLOW ZWISCHEN GM-ZUCKERRÜBEN UND VERWILDERTEN RÜBEN UNTER DEN FREILANDBEDINGUNGEN**

Nachdem in vorhergehenden Studien die Kompatibilität zwischen einem GM-Pollenspender (*EPSPS*-Gen, Glyphosatresistenz und *uidA*-Gen) und den verwilderten Rüben der Region gemessen und Analysetechniken optimiert

worden waren, wurde im Südwesten Frankreichs, der größten Zuckerrübensaatgutvermehrungsregion des Landes, ein dreijähriger Freilandversuch durchgeführt.

Im ersten Jahr konnte: *i*) der Prozentsatz der GM-Hybriden der gekeimten Samen und der der GM-Embryonen des nicht gekeimten Saatgutes von 60 verwilderten Rüben und 20 MS-Pflanzen gemessen werden, die in Microparzellen in einer Entfernung von 10 m, 50 m, 100 m und 200 m vom GM-Pollenspender gepflanzt worden waren, und *ii*) das befruchtungsfähige Potenzial der GM-Pollen in einer Entfernung von 1.000 m vom Pollenspender untersucht werden, indem Kleinparzellen mit MS-Pflanzen in verschiedenen Himmelsrichtungen angelegt worden waren.

Das zweite Jahr wurde darauf verwendet, den Flux Transgener in Abhängigkeit sowohl der Entfernung (bis zu 1.000 m) als auch der Bestandesdichte von verwilderten Rüben in Microparzellen (1,5,50 Wildrüben und 20 MS-Pflanzen) zu messen und die Pollenverbreitung mittels Pollenfallen\* bis auf 1.500 m von der Pollenspenderquelle entfernt zu bewerten.

Das dritte Versuchsjahr galt der Untersuchung der Übertragung der Transgener zwischen verwilderten GM-Hybriden und nicht-GM verwilderten Rüben derselben Generation.

Es sei angemerkt, dass der GM-Pollenspender und die MS-Pflanzen diploid waren wie auch die verwilderten Rüben, die während der ersten beiden Versuchsjahre gezeitet wurden, um die Blütermine der eingesetzten Materialgruppen besser zu synchronisieren.

Die Ergebnisse haben zusammenfassend gezeigt, dass unter den gegebenen Versuchsbedingungen, die eine Übertragung begünstigten, eine gute Kompatibilität und dieses Befruchtungspotenzial der GM-Pollens die Übertragung Transgener von der GM-Zuckerrübenquelle auf die verwilderten Rüben unter den Freilandbedingungen der Saatgutvermehrung erlaubten. Die Lage des Feldes jedoch hinsichtlich der Hauptwindrichtung, die Entfernung, eine partielle Autokompatibilität und das hohe Befruchtungspotenzial der verwilderten Rüben schränken erheblich die Möglichkeiten einer Übertragung von Fremdgenen auf diese verwilderten Rüben ein. Der Genflow scheint auch keinen invasiven Charakter bei nachfolgenden Generationen zu haben.

\* Das Pollentrapping wurde von Dr. M. Calléja, palynologisches Labor, ENSA Montpellier, Frankreich.

## INTRODUCTION

Une des principales caractéristiques de la betterave cultivée (*Beta vulgaris* ssp *vulgaris*) est d'être interféconde avec la sous-espèce sauvage (*Beta vulgaris* ssp *maritima*) présente sur les zones littorales et côtières du territoire français. D'après la bibliographie (revue de Boucherie & Nardi, 1999), cette interfécondité serait à l'origine des betteraves mauvaises herbes qui regroupent en particulier : ***i*) des formes dites rudérales présentes dans le Sud de la France, issues de la sous-espèce sauvage d'origine méditerranéenne ayant introgressé des gènes de la sous-espèce cultivée, au moins pour celles de la zone de production de semences** (Van Dijk & Desplanque, 1998) et *ii*) des formes dites

adventices (le terme de mauvaises herbes est également utilisé) issues des betteraves porte-graines ayant introgressé des gènes des formes rudérales (Boudry & al., 1993).

**L'étude succinctement résumée ici a duré trois ans, elle avait pour objectif de déterminer dans quelles conditions s'effectue le flux du gène de résistance au glyphosate (matière active de l'herbicide Round-up) par la voie pollinique depuis une parcelle émettrice contenant des pollinisateurs de betterave sucrière génétiquement modifiés (GM) vers des betteraves rudérales environnantes (Ru), dans les conditions réelles de culture et à l'échelle des parcelles de production de semences de betteraves. Il est très important de souligner que pour cette étude, nous avons volontairement mis en place, tant en serre qu'au champ, des conditions favorisant au maximum le flux de transgène entre le pollinisateur cultivé GM, les rudérales et les mâles stériles utilisés comme témoins (MS).**

Parmi ces conditions, *i)* le choix d'un pollinisateur GM diploïde produisant un pollen haploïde qui permet une meilleure adaptation à la pollinisation et à la fécondation des rudérales qui sont elles-même diploïdes, *ii)* la pratique de l'écimage des rudérales qui améliore considérablement la concordance des floraisons et permet un meilleur recouvrement de la période de floraison du pollinisateur cultivé GM avec celle des rudérales généralement plus précoces, *iii)* l'utilisation au champ de sources de pollen GM d'une surface de 1 hectare, représentative d'une parcelle de production de semences.

Il est important de souligner aussi que nous avons utilisé au laboratoire des méthodes d'analyse complémentaires, en liaison avec la présence du gène *uidA* en plus du gène de résistance à l'herbicide (gène *EPSPs*) dans la construction génétique retenue. Ceci permettait une analyse complète de la descendance hybride, de recréer des conditions proches de la réalité et de présenter des résultats les plus fiables possibles.

## **1.- ÉTUDE DU FLUX DE TRANSGÈNES PAR LA VOIE POLLINIQUE A PROXIMITÉ DE LA SOURCE**

**Nous avons tout d'abord vérifié que toutes les betteraves transgéniques cultivées en serre ou en champ répondaient au test GUS (GUS+) et n'étaient pas détruites par l'herbicide (glyR). Nous avons aussi vérifié par PCR que les plantes GUS+ et / ou résistantes au glyphosate portaient bien le transgène. Ainsi, il était possible de pratiquer indifféremment l'un ou l'autre test pour caractériser le matériel transgénique.** L'avantage du test GUS étant qu'il pouvait être effectué sur les plantes, les plantules mais aussi sur les embryons des semences, viables, non viables, dormantes, après semis et même après avoir séjourné plusieurs semaines dans le sol, ce qu'il est impossible de faire avec le test herbicide.

***Une expérimentation en conditions contrôlées (serre 2 loges contenant 20 pollinisateurs GM, 15 rudérale (castrées ou non) et 15 MS) a montré qu'il existait une très bonne compatibilité entre le pollen du pollinisateur GM fourni par la Société SYNGENTA SEEDS et les rudérales originaires de la région de production des semences de betteraves, le Sud-Ouest.*** En effet, nous avons observé un taux de 94% d'individus (embryons et plantules) GM,

hybrides issus du croisement entre des rudérales castrées (♂) et le pollinisateur (♀) GM, associé à un taux de remplissage des glomérules supérieur à 98%, ce qui est sensiblement identique aux valeurs obtenues avec la lignée MS témoin. **Cette expérimentation a également mis en exergue l'importance de la compétition entre le pollen GM et le pollen des rudérales, sur le niveau de transfert du transgène.** Ainsi, le taux d'hybridation diminue de plus de 50% lorsque le pollen de 20 pollinisateurs GM est en compétition avec le pollen de 15 rudérales.

**L'expérimentation au champ de la première année (Figure 1) avait pour but de mesurer le flux transgénique depuis une parcelle émettrice (1 ha) contenant 4500 pollinisateurs GM, vers de larges cibles situées jusqu'à 200m et constituées par des microparcelles de proximité contenant chacune 60 rudérales bordées de 2 rangs de 10 MS.** Cette étude menée dans des conditions réelles de production de semences dont la descendance des rudérales et des MS a été largement analysée pour les 4 directions cardinales, a confirmé globalement les données des autres auteurs ayant utilisé des sources beaucoup plus petites (Boucherie et Nardi, 1999). **Ainsi, la possibilité du flux de transgènes est confortée et la forte influence du vent dominant sur ces flux a été bien mise en évidence. Les flux diminuent très rapidement avec l'éloignement par rapport à la source GM.** Dans nos conditions, le taux d'hybridation des rudérales à 200m sous le vent dominant, est inférieur à 0.5 % et il est encore inférieur dans les 3 autres directions (Figure 2). **En plus de la distance, la densité du nuage pollinique produit par les 60 rudérales de chaque microparcelle semble constituer une concurrence importante vis à vis du pollen GM provenant de la source et limiter considérablement l'introgession du transgène chez ces rudérales.**

De plus, des capteurs biologiques constitués de 2 îlots de 80 MS, placés sous le vent et au vent à environ 1000m de la source, ont permis de montrer la présence de pollen viable et fécondant à cette distance.

Enfin, chez des rudérales implantées dans les lignes de MS de la parcelle émettrice (1 groupe de 6 / ligne), le taux d'hybridation est resté limité à moins de 10% et n'était que de 60% chez les MS témoins, ce qui confirme bien le rôle protecteur du pollen de rudérales vis-à-vis du flux de transgène.

## **2.- ETUDE DU FLUX DE TRANSGENES A LONGUE DISTANCE DE LA SOURCE ET EN FONCTION DE LA COMPETITION POLLINIQUE**

**Au vu des résultats de la première année, la deuxième année d'étude a été conçue dans le but de déterminer avec plus de précision l'effet de la densité des rudérales sur le flux de transgènes et aussi de mesurer le niveau de transfert des transgènes à longue distance de la source.** Nous avons mis en place un système unidirectionnel placé sous le vent dominant. Il était composé d'une parcelle émettrice de 1 hectare et de microparcelles réceptrices situées jusqu'à 1000m de la source GM (Figure 3). Isolées par du chanvre et des filets coupe-vent, celles-ci contenaient 1, 5 ou 50 rudérales et 20 MS. Aux distances de 400 m et 1000 m nous avons ajouté un capteur biologique constitué d'une microparcelle contenant uniquement 80 MS. En

outre, parallèlement à la mesure du flux de transgènes par l'analyse des taux d'hybridation, des mesures de la production pollinique de la parcelle émettrice et de la dispersion pollinique jusqu'à la distance de 1500m de la source GM ont été effectuées à l'aide d'un système de captage du pollen. Cette étude effectuée par le Laboratoire de Palynologie de l'ENSA Montpellier était placée sous la direction de Michel Calléja.

La mini-station météo associée au captage a montré que le vent avait soufflé dans la direction des microparcelles réceptrices pendant seulement la moitié de la période de pollinisation. Cet événement associé à une production pollinique limitée du pollinisateur (moins de 500 grains de pollen/m<sup>3</sup>d'air/heure à la sortie de la source à l'optimum de pollinisation) expliquent un taux d'hybrides GM dans la descendance des 50 rudérales des microparcelles situées à 10 m de la source, inférieur à celui mesuré en 1999 avec 60 rudérales dans les mêmes conditions.

***Les taux d'hybrides transgéniques mesurés dans la descendance de rudérales implantées isolément au sein même de la parcelle émettrice (ce qui serait une situation incongrue en production de semences), confirme les données obtenues en conditions contrôlées et les observations de 1999. Ils montrent que le pollen des rudérales entre fortement en compétition avec le pollen du pollinisateur cultivé GM pour la pollinisation des rudérales. Ainsi, pour des rudérales de même origine géographique, les taux d'hybridation des plantes isolées dans la parcelle émettrice en 2000 dépassent 75%. Ils étaient inférieurs à 10% lorsque les rudérales étaient implantées par groupes de 6 en 1999 dans une source pollinisatrice plus puissante.***

Les résultats obtenus en 1999 avaient montré l'importance de la compétition entre le pollen des rudérales et le pollen GM pour s'opposer à la contamination des rudérales. ***L'expérimentation 2000 a confirmé que le pollen des rudérales limite considérablement le flux des transgènes et ce quelques soient les distances à la source*** (Fig. 4). Ainsi, dans nos conditions expérimentales (i.e. compte-tenu de la puissance pollinisatrice de la source et de l'orientation des vents pendant la pollinisation), ***la pollinisation de 5 rudérales regroupées suffit pour réduire très fortement la fécondation de celles-ci par le pollen GM, et celle de 50 rudérales pour la bloquer dès 50 m de la source. Inversement, les rudérales isolées sont très exposées à la contamination, même à longue distance de la source.*** La protection des rudérales précoces et isolées ne peut être, semble-t-il, que le résultat d'un décalage de floraison avec le pollinisateur cultivé généralement plus tardif. Cependant, rien ne prouve que dans des circonstances particulières et / ou avec certains géotypes cultivés, un synchronisme de floraison ne soit pas établi. Une analyse statistique comparative de la durée de floraison des pollinisateurs, des MS et des rudérales, effectuée sur les betteraves de la parcelle émettrice en 2000, a montré que la durée de floraison des rudérales même écimées était significativement plus longue que celle des betteraves cultivées.

Soulignons que l'écimage des rudérales qui améliorait le synchronisme de floraison avec le pollinisateur GM était favorable au transfert de transgènes chez ces rudérales. Dans les conditions naturelles le niveau de ce transfert aurait été plus limité. En revanche, soulignons aussi que la puissance de

pollinisation de la source GM en 2000 en direction des récepteurs ne semblait pas optimale ainsi que l'ont prouvé une étude biologique simple du pollinisateur et les résultats du captage pollinique. Elle était inférieure à celle de 1999, même compte-tenu de la présence de 9000 pollinisateurs (cette déficience étant pour une part liée aux conditions culturales défavorables de la parcelle source et aux conditions de vernalisation des plançons du pollinisateur).

Dans le cas des microparcelles à 1 rudérale, les courbes des taux d'hybrides GM mesurés chez la descendance de cette rudérale et chez la descendance des MS, se superposent parfaitement avec la courbe de dispersion du pollen du genre *Beta* à la période optimale de pollinisation du pollinisateur GM, jusqu'à la distance de 400m. Au delà de cette distance et en particulier à 1000m, lorsque l'on se situe dans la zone dite de « background pollinique », le pourcentage de grains de pollen sédimentés représente 0.7% de ceux sédimentés dans la parcelle émettrice (il était de 17% à 100m) alors que le taux d'hybridation chez la descendance de la rudérale isolée ne représente plus que 0.09% du taux mesuré chez des rudérales isolées implantées dans les lignes MS de la parcelle émettrice. Par ailleurs, dès 400m le flux du transgène mesuré chez des rudérales isolées est pratiquement identique à celui observé chez les MS. Enfin, la possibilité d'hybridation des rudérales isolées en pots par du pollen GM a pu être mise en évidence sous le vent dominant jusqu'à 1500m environ de la source.

**Sur le plan pratique, compte-tenu des résultats obtenus au cours de ces deux années, il semble que pour limiter au mieux le transfert par la voie pollinique de transgènes depuis une parcelle de production de semences de betteraves cultivées GM vers les betteraves rudérales environnantes, tout en conservant une bonne pureté génétique de ces semences et sans garantir à 100% que le transfert ne puisse se produire, il serait judicieux :**

- 1) De procéder à l'éradication minutieuse des rudérales dans la parcelle de multiplication et jusqu'à une distance minimale de 1000m qui est actuellement la distance d'isolement reconnue pour la betterave semence.
- 2) Au-delà de cette distance dans le périmètre de multiplication surveillé, de procéder soit à l'éradication de rudérales, s'il y a risque de contamination de la culture, en veillant surtout à ne pas oublier les individus isolés ou regroupés en faible nombre, soit au maintien de l'intégrité des îlots de rudérales qui s'auto-protègeront d'une pollinisation par du pollen GM.
- 3) De limiter la puissance de la source pollinisatrice à son strict nécessaire.
- 4) Dans la mesure du possible de tenir compte du vent dominant et des barrières naturelles de l'environnement pour limiter le flux de pollen vers les rudérales situées sous les vents dominants.

### 3.- LE TRANSFERT DU TRANSGÈNE DANS LA DESCENDANCE DES RUDÉRALES

Le dispositif de la troisième année avait pour objectif d'étudier la dissémination du transgène dans la descendance G2 d'une population de rudérales issue de l'expérimentation 2000 et contenant un pourcentage variable de rudérales hétérozygotes ayant introgressé le transgène. Les taux de rudérales GM de 0% (50 rudérales non GM), 2% (1 rudérale GM/50), 6% (3 rudérales GM/50), 12% (6 rudérales GM/50) ont été retenus dans un système à 3 répétitions contenant 50 plantes par répétition.

Bien que limitée à l'étude de la deuxième génération, *nos analyses basées sur des tests GUS appliqués aux embryons mettent nettement en évidence que le potentiel d'invasion des transgènes mesuré dans les populations de rudérales est plus limité que prévu* (des rudérales hétérozygotes GM vers les rudérales non GM et globalement dans les lots des rudérales GM et non GM). Ce phénomène (Figure 5) pourrait être attribué d'une part à l'introgression des gènes de betterave cultivée simultanément aux transgènes, lors de l'hybridation cultivée GM x rudérale qui semble modifier le développement des rudérales hybridées GM et diminuer leur capacité de pollinisation et, d'autre part, à la présence d'un système d'auto-compatibilité partielle chez les rudérales de la zone de production de semences que nous avons utilisées (mis en évidence par un taux d'embryons G2 GM supérieur à la valeur théorique dans la descendance des plantes G1 GM). *Les deux aspects, fort potentiel de pollinisation et auto-compatibilité partielle limitent nettement les possibilités d'introgression de gènes étrangers chez les rudérales.*

### CONCLUSION

En conclusion, l'étude qui a été résumée succinctement ici permet d'affirmer que *dans les conditions de la multiplication des semences de betteraves GM, il existe la possibilité d'un flux de transgènes entre un pollinisateur GM et les betteraves rudérales de l'environnement, par la voie anémophile* ; la pollinisation entomophile fortuite chez la betterave n'a pas été prise en compte dans cette étude. Elle met aussi nettement en évidence *la limitation très importante de l'introgression des transgènes induite par l'éloignement des rudérales par rapport à la source GM et par la compétition entre le pollen GM et la propre pollinisation de ces rudérales*. Par ailleurs, *cette introgression de transgènes n'atteint pas le niveau théoriquement attendu et donc ne semble pas avoir de caractère invasif pour les générations suivantes, si aucune sélection liée au caractère du transgène n'est appliquée*.

Cette étude qui avait la particularité de faire appel à deux types de tests liés à la présence de deux gènes marqueurs (gène uidA et gène EPSPs) pour l'analyse des descendance, devrait également constituer une base pour l'appréciation des risques que pourraient constituer la culture de plantes anémophiles contenant des transgènes d'intérêt mais plus difficiles à révéler dans les conditions de la production ou de la multiplication des semences.



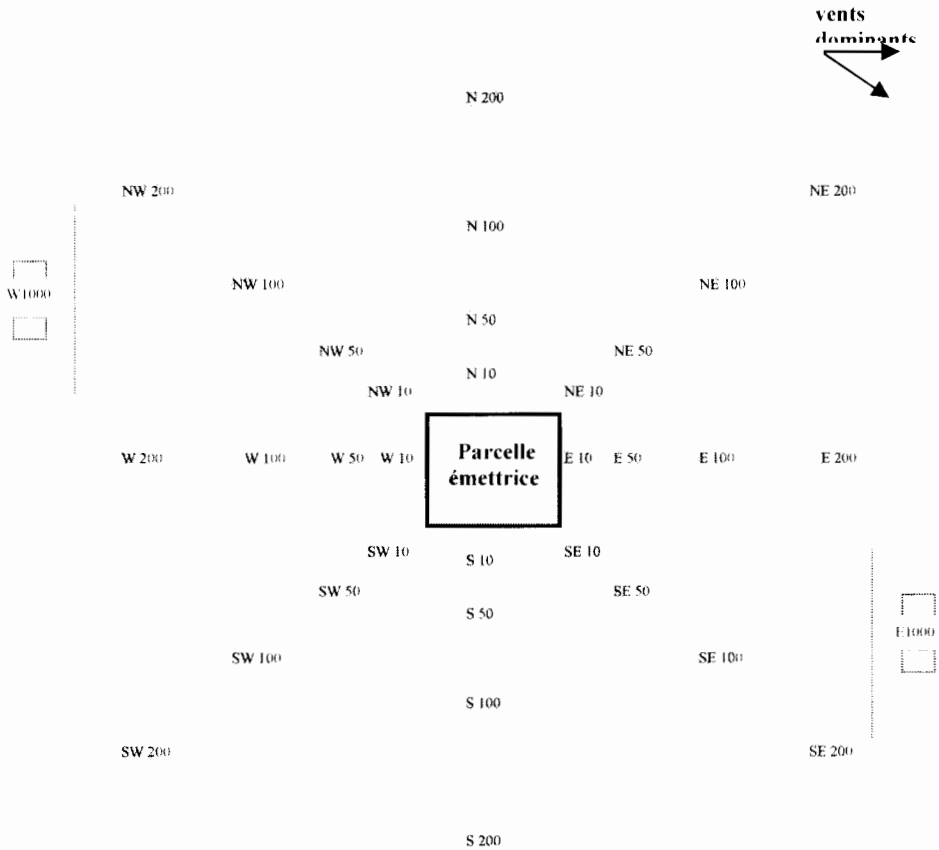
---

**REFERENCES**

1. BOUCHERIE, R & NARDI, L. : Evaluation du risque de flux géniques au sein du genre *Beta* (*Beta vulgaris* et *Beta macrocarpa*) . Rapport FNAMS, Centre Technique des Semences, 25p, 1999.
  2. VAN DIJK, H & DESPLANQUE, B. : Echange de gènes entre betteraves sauvages et cultivées : risques associés à l'utilisation de betteraves transgéniques. Proceedings of the 61st IIRB Congress , 255-269, 1998.
  3. BOUDRY, P., MÖRCHEN, M., SAUMITOU-LAPRADE, P., VERNET, P & VAN DIJK, H. : The origin and evolution of weed beets : consequences for the breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beet. Theor. Appl. Genet, 87, 471-478, 1993.
- 

Cette étude a été réalisée sous l'égide du Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants (GNIS) , de la Fédération Nationale des Agriculteurs-Multiplicateurs de Semences (FNAMS), du Syndicat des Producteurs Français de Graines de Betteraves industrielles et fourragères et de chicorées industrielles (SPFGB) et de l'Institut Technique de la Betterave industrielle (ITB) avec le concours financier du Ministère Français de l'Agriculture et de la Pêche et de la Section Betteraves du GNIS. La Station de Condom (32, Gers) de la FNAMS a assuré les travaux aux champs, la récolte et le suivi des parcelles expérimentales et de leur environnement, sous la Direction de M. Louis Nardi .

Figure 1: Dispositif de l'expérience au champ 1999



Légende : La parcelle émettrice de 1 Ha (100m x 100m) comprenait 16 motifs constitués de 2 lignes de pollinisateurs GM et de 4 lignes de MS. Dans chaque motif 4 lots de 6 rudérales d'origines géographiques différentes ont été implantés au hasard dans les lignes de MS.


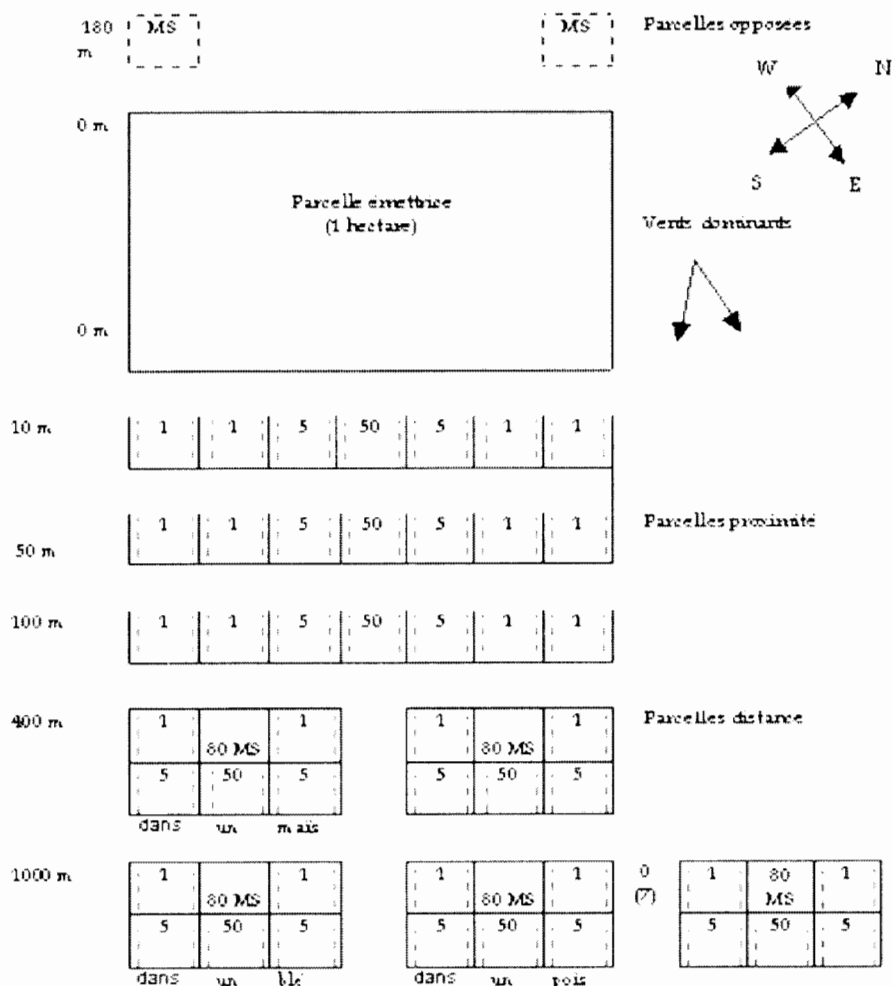
Le symbole  désigne la position des microparcelles de proximité (orientation et distance en mètres) qui contiennent 60 rudérales et 20 MS. Les symboles W1000 et E1000 correspondent aux microparcelles capteurs biologiques contenant 80 MS x 2 et situés à 1000m de la parcelle émettrice.

Figure 2: Etude au champ 1999. Analyse de la descendance des rudérales (Ru) et des MS témoins des microparcelles E, W, N et S par le test de résistance au glyphosate (gly.R)

Lots étudiés	Glomérules semés	plantules	Plantules gly.R	% de plant. gly. R
E 10 Ru	5400	1404	133	9.47
E 50 Ru*	600	2370	44	3.71
E 100 Ru	5400	1942	28	1.39
E 200 Ru*	3600	1525	13	0.84
E 10 MS	2700	1686	182	10.79
E 50 MS	2700	1929	155	8.04
E 100 MS	2700	1050	63	6.00
E 200 MS	2700	1664	35	2.11
W 10 Ru*	3600	1632	21	1.29
W 50 Ru	5400	4613	17	0.37
W 100 Ru	5400	1247	6	0.49
W 200 Ru	5400	1466	5	0.35
W 10 MS	2700	1416	256	18.08
W 50 MS	2700	1992	137	6.88
W 100 MS*	1800	1150	28	2.43
W 200 M*S	1800	1280	8	0.63
N 10 Ru*	3600	2048	36	1.76
N 50 Ru	5400	1622	11	0.67
N 100 Ru	5400	4172	4	0.10
N200 Ru	5400	3115	5	0.16
N 10 MS	2700	936	83	8.87
N 50 MS*	1800	1694	22	1.30
N 100 MS*	1800	1373	11	0.80
N 200 MS	2700	1803	4	0.22
S 10 Ru*	3600	2454	25	1.02
S 50 Ru	5400	2325	14	0.59
S 100 Ru*	3600	2048	3	0.14
S 200 Ru*	5400	2158	9	0.41
S 10 MS	2700	1581	139	8.79
S 50 MS	2700	1413	23	1.63
S 100 MS	2700	1252	1	0.08
S 200 MS	2700	2025	0	0.00

(\*) lots limités à 2/3 répétitions en liaison avec une attaque de Phoma

Figure 3 : Dispositif de l'expérimentation au champ 2000



Légende

- 1, 5, 50 plantes rudérales/microparcelle
- MS 80 plantes MS/microparcelle
- rang de 10 MS (2 rangs/microparcelle)
- isolement par du chanvre et des filets
- coupe-vent
- 0 distance et nb de rudérales isolées en pots

Figure 4 : Etude au champ 2000 – Représentation graphique des % d'embryons hybrides transgéniques (test GUS +) présents dans la descendance des rudérales (RU) et des MS en fonction de la distance par rapport à la source GM et de la densité des rudérales dans les microparcelles réceptrices

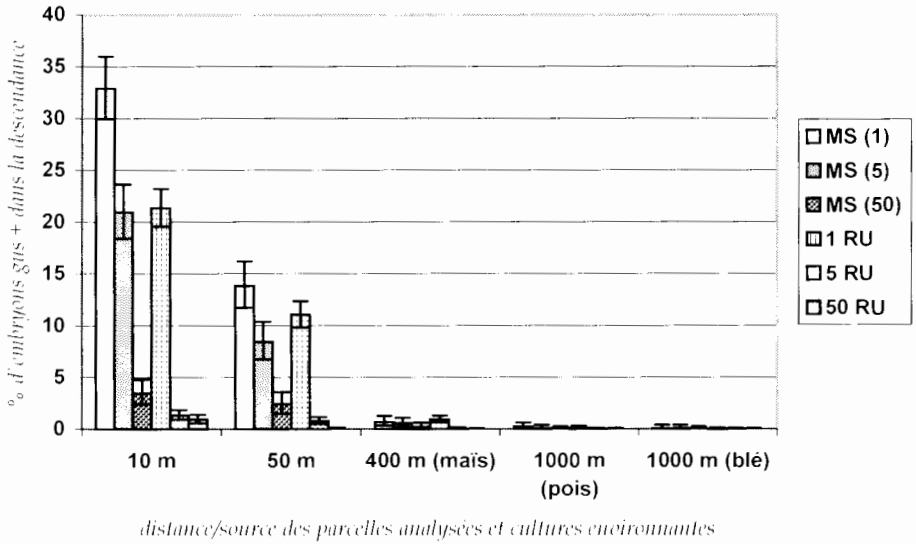
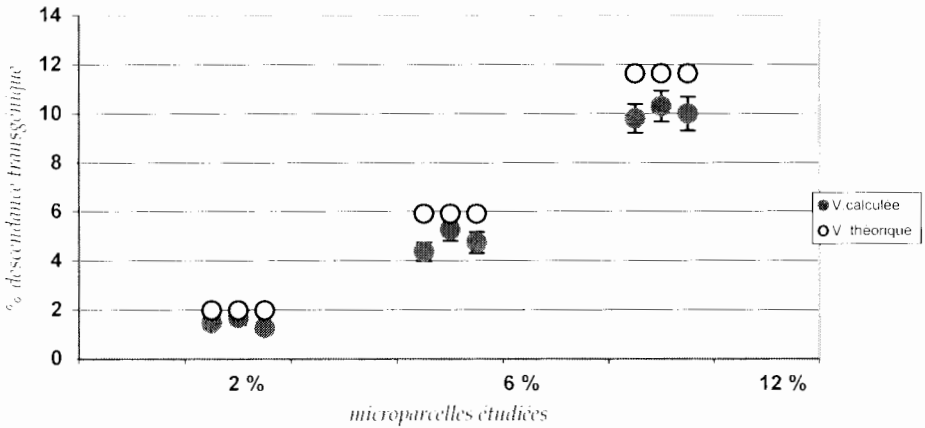


Figure 5: Etude 2001- Transfert de transgène dans une population de rudérales.



Légende: représentation graphique des % théoriques et des pourcentages calculés assortis de leur intervalle de confiance pour les 3 répétitions. Pourcentages globaux d'embryons transgéniques (GUS+) par microparcelle.

## TITLES AND LEGENDS OF THE FIGURES

*Figure 1 : Plan of the 1999 field experiment.*

*Legend: The 1Ha emitting plot was comprised of 16 motives, each one bearing 2 rows of GM pollinators and 4 MSrows. Within each motive, 4 plots of wild species from various geographical origins were planted randomly within the MS rows. □*

*The symbol ○ indicates the position of the nearness microplots (orientation and distance in m) which contain 60 ruderals and 20MS. The symbols W1000 and E1000 correspond to the microplots used as biological captors and containing 80MS which were planted at 1000m from the emitting plot.*

*Figure 2 : Field trials in 1999. Progeny analysis of ruderals (Ru) and control MS of E,W,N and S microplots by using resistance to glyphosate (gly.R) test.*

*(\*) plots limited to 2/3 repeats because of *Phoma* infection.*

*Figure 3 : Plan of the 2000 field experiment*

*Legend: 1,5,50: ruderals/microplots*

*≡ MS: 80 MS plants/ microplots*

*: row of 10MS ( 2 lines/ microplots)*

*| : Isolation of microplots by hemp and wind breakers*


*Figure 4 : Field trial in 2000. Graphic representation of the % of hybrid transgenic embryos (GUS+) present in the progeny of the ruderals (RU) and MS with respect to the distance from the GM source and the density of the ruderals in the recipient microplots*


*Figure 5 : Study 2001. Transgene transfer in a population of ruderals.*

*Legend: Graphic representation of the theoretical % and of the calculated % including the mean deviation for the three repetitions. Global percentages of transgenic embryos (GUS+) per microplot.*

## ÜBERSCHRIFTEN UND LEGENDEN DER ABBILDUNGEN

*Abbildung 1: Versuchsanlage im Jahr 1999*


*Legende: Die Parzelle der Pollenquelle der Größe von 1 ha (100m x 100m) umfasste 16 Mikroparzellen, die jeweils 2 Reihen des transgenen Pollenspenders und 4 Reihen einer MS-Komponente enthielten. In jeder Mikroparzelle wurden 4 Abstammungen verwilderten Rüben, die aus 6 geografisch verschiedenen Ursprüngen entstammen, zufallsgemäß in die Reihen der MS-Komponenten gepflanzt. *


*Das Symbol  kennzeichnet die Position der Mikroparzellen in der nächsten Umgebung (Ausrichtung und Entfernung in Meter), die 60 verwilderte Rüben und 20 MS-Pflanzen beinhalteten. Die Symbole W 1000 und E 1000 bezeichnen Mikroparzellen, die mit 80 MS-Pflanzen pro Parzelle als biologische Pollenfallen dienten und 1000 m von der Pollenquelle angelegt wurden.*


*Abbildung 2: Feldversuch im Jahr 1999. Analyse der Nachkommen der verwilderten Rüben (Ru) und der MS-Vergleichspflanzen in den Mikroparzellen E, W, N und S mittels einer Überprüfung der Resistenz auf Glyphosate (gly.R)*


*(\*) Posten begrenzt auf 2/3 Wiederholungen in Zusammenhang mit einem Befall durch Phoma*

*Abbildung 3: Versuchsanlage im Jahr 2000*

* Legende: 1, 5, 50: verwilderte Rüben pro Mikroparzelle*

* MS: 80 MS-Pflanzen pro Mikroparzelle*

* : Reihe der 10 MS-Pflanzen (2 Reihen pro Mikroparzelle)*

* : Isolierung der Mikroparzellen durch Hanf und Flies*

*Abbildung 4: Feldversuch im Jahr 2000. Graphische Darstellung des prozentualen Anteils der transgenen Embryonen (GUS+) an den gesamten Nachkommen der verwilderten Rüben (RU) und MS in Abhängigkeit der Entfernung von der transgenen Pollenquelle und der Bestandesdichte der verwilderten Rüben innerhalb der Mikroparzellen*

*Abbildung 5: Studie im Jahr 2001. Transfer der Transgenen in einer Population von verwilderten Rüben*

*Legende: Graphische Darstellung der theoretischen und berechneten prozentualen Anteile inklusive deren Vertrauensintervalle für 3 Wiederholungen. Gesamter prozentualer Anteil der transgenen Embryonen (GUS+) pro Mikroparzelle\**