

BURKINA FASO

-----  
UNITE-PROGRES-JUSTICE  
-----

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
-----

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE  
DE BOBO- DIULASSO  
(U.P.B)

-----  
INSTITUT DU DEVELOPPEMENT  
RURAL  
(I.D.R)

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE  
(C.N.R.S.T)

-----  
INSTITUT DE L'ENVIRONNEMENT ET DE  
RECHERCHES AGRICOLES  
(I.N.E.R.A)

-----  
STATION DE FAROKO BA  
-----

PROGRAMME COTON

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté en vue de l'obtention du

DIPLOME D'INGENIEUR DU DEVELOPPEMENT RURAL

OPTION : AGRONOMIE

**Caractérisation du cotonnier transgénique Bollgard II et  
évaluation du flux du transgène à la station de Farako-Bâ**



**Directeur de mémoire : Dr SOMDA Irénée**

**Codirecteur de mémoire : M. DAO Bégué**

**Maître de stage : M. SANFO Denys**

## DEDICACE

- ◆ A mon père BOURGOU Thiomba dit Komi qui m'a toujours soutenu et encouragé dans mes études et qui a déjà beaucoup œuvré pour le développement du monde rural ;
- ◆ A ma mère TAMPAGUI Dayéri pour toute cette affection à mon égard et pour le modèle parfait de mère et de femme en général qu'elle représente pour moi ;
- ◆ A LANKOANDE Djingri la coépouse de ma mère ;
- ◆ A toute la grande Famille BOURGOU, mes frères et sœurs qui tous se soucient de mes études ;
- ◆ A la mémoire de mon cousin KIANKIADOU et de ma sœur YENOUMASSI décédés tous très tôt ;
- A toutes ces personnes pour qui je veux réussir,

*je dédie ce présent mémoire.*

## REMERCIEMENTS

La présente étude a été menée au Programme coton de l'IN.E.R.A. J'ai bénéficié, au cours de ce stage et durant toute ma formation scolaire, du soutien d'innombrables personnes à qui je ne peux manquer d'exprimer ma sincère reconnaissance. Je remercie particulièrement :

Le Dr DABIRE Rémi, Chef du CRREA/Ouest pour m'avoir accepté comme stagiaire au sein de la station de recherche de l'IN.E.R.A.-Farako Bâ ;

Le Dr TRAORE Ouola, Chef du Programme coton pour tout le soutien matériel et financier dont j'ai bénéficié au sein de son Programme ;

M. SANFO Denys, Sélectionneur, Chercheur au Programme coton pour avoir accepté d'être mon maître de stage. Malgré ses multiples occupations de recherche, il m'a suivi et m'a guidé tout au long de mon stage. Je lui témoigne toute ma reconnaissance ;

M. COULIBALY Bazoumana, Chercheur au Programme coton pour toute sa disponibilité. Il a été pour moi un deuxième maître de stage et je lui suis très reconnaissant ;

Le Dr SOMDA Irénée mon Directeur de mémoire pour son encadrement ;

M. DAO Bégué, qui a participé à mon encadrement comme Codirecteur de mémoire ;

M. BOURGOU Moussa, Directeur Général de l'Enseignement de Base et sa famille pour leur soutien tout au long de ma formation. C'est l'occasion pour moi de leur témoigner toute ma reconnaissance ;

Le Pr. ZONGO Jean Didier pour sa collaboration et ses suggestions qui ont été d'une grande utilité ;

Les Docteurs SANOU Jacob, OUEDRAOGO Léonard, GNANKINE Olivier pour leurs appuis dans l'amélioration de mon document ;

M. TIEMTORE Claude, Chercheur au Programme coton qui a été à l'origine de mon stage dans ledit programme. Il a beaucoup participé à l'élaboration de mon document ;

Tous les autres Chercheurs du Programme coton, j'ai cité : M. SOME Hugues, M. VOGNAN Gaspard, M. HEMA Omer, M. OUATTARA Marc ;

Tous les techniciens du Programme coton qui m'ont très bien « intégré ». Je vous suis particulièrement reconnaissant ;

La secrétaire du Programme coton Mme SANOU et ses collègues ;

M. LOMPO Désiré Jean-Pascal pour tous ses conseils et suggestions, ses encouragements ;

M. BOURGOU L. Vivien Casimir qui m'a toujours donné des conseils et fait des suggestions ;

Mes cousins LANKOANDE D. David, NAMOUNTOUGOU Kalori qui ont été et continuent d'être un soutien inestimable pour moi ;

La famille GUIBOU, particulièrement Mme GUIBOU Cécile pour tout le soutien morale et familiale qu'elle m'offre ;

Les familles KONE, particulièrement Mme KONE Sita ; les familles BOURGOU, TINDANO qui m'ont toujours aidé à supporter ici à Bobo l'éloignement de la mienne ;

Mes amis BIKIENGA Hamado, TINDANO Ousmane, SANOU D. Urbain, KABORE Jacques ;

Tous mes camarades de classe.

## TABLE DES MATIERS

DEDICACE.....	<i>i</i>
REMERCIEMENTS .....	<i>ii</i>
LISTE DES ABREVIATIONS.....	<i>vi</i>
LISTE DES TABLEAUX.....	<i>vii</i>
LISTE DES FIGURES ET DES PHOTOS.....	<i>viii</i>
RESUME.....	<i>ix</i>
ABSTRACT .....	<i>x</i>
INTRODUCTION.....	<i>1</i>
PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : Généralités sur le cotonnier.....	<b>3</b>
I.1. Botanique.....	3
I.2. Morphologie du cotonnier.....	3
I.3. Physiologie du cotonnier.....	5
I.3.1. Mise en place des branches fructifères .....	5
I.3.2. Floraison .....	5
I.3.3. Arrêt de la croissance.....	6
I.3.4. Rendement et composantes du rendement.....	6
I.4. Organes reproducteurs et mode de reproduction chez le cotonnier.....	7
I.4.1. Organes reproducteurs du cotonnier .....	7
I.4.2. Mode de reproduction du cotonnier.....	8
CHAPITRE II. Le cotonnier transgénique.....	<b>9</b>
II.1. Problématique du cotonnier Bollgard.....	9
II.2. Importance et adoption des cultures transgéniques dans le monde .....	9
II.3. Bénéfices liés au coton Bt. ....	10
II.4. Plantes Génétiquement Modifiées (PGM) et risques de contaminations.....	11
II.4.1. Flux de gènes.....	11
II.4.2. Conditions de réalisation du flux de pollen .....	13
II.4.3. Inconvénients du flux de pollen.....	14
II.4.4. Contrôle du flux de pollen .....	16
DEUXIEME PARTIE: EXPERIMENTATION	
CHAPITRE I : Caractérisation de DP50-BGII .....	<b>18</b>
I.1. matériel et méthode.....	18
I.1.1. Site de l'étude .....	18
I.1.1.1. Localisation.....	18
I.1.1.2. Climat.....	18
I.1.1.3. Végétation.....	19
I.1.2. Matériel d'étude.....	19

I.1.3. Méthodes.....	19
I.1.3.1. Dispositif expérimental.....	19
I.1.3.2. Paramètres étudiés.....	20
I.1.3.2.1. Paramètres de la floraison.....	20
I.1.3.2.2. Paramètres architecturaux :.....	20
I.1.3.2.3. Paramètres de la production.....	21
I.1.3.4. Analyse statistique des données.....	21
I.2. Résultats.....	21
I.2.1. Comparaison des paramètres de la floraison.....	21
I.2.2. Comparaison des paramètres architecturaux.....	22
I.2.3. Comparaison des paramètres de production.....	23
I.2.3.1. Points fructifères émis et production de capsules récoltables.....	23
I.2.3.2. Taux de production de capsules récoltables.....	24
I.2.3.3. Distribution des capsules récoltables sur les branches fructifères.....	25
I.2.3.4. Production de coton graine.....	25
I.2.3.5. Rendement de coton graine.....	26
I.3. Discussion.....	26
<b>CHAPITRE II : Etude du flux de pollen.....</b>	<b>30</b>
II.1. Matériel et méthodes.....	30
II.1.1. Site de l'étude.....	30
II.1.2. Matériel d'étude.....	30
II.1.3. Méthodes.....	30
II.1.3.1. Dispositif expérimental.....	30
II.1.3.2. Test de flux du pollen.....	31
II.1.3.2.1. Échantillonnage.....	31
II.1.3.2.2. Préparation des échantillons pour analyse.....	31
II.1.3.2.3. Test de révélation des protéines de DP50-BGII.....	31
II.1.4. Analyse statistique des données.....	33
II.2. Résultats.....	33
II.2.1. Evolution du taux d'allogamie en fonction de la distance.....	33
II.2.2. Evolution du flux selon la direction (orientation) et la distance.....	34
II.3. Discussion.....	35
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>40</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>44</b>

**LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>A.C.I.A.</b>	:	Agence Canadienne d'Inspection des Aliments
<b>B.B.V.</b>	:	Bureau de la Bio-sécurité Végétale
<b>B.F.</b>	:	Branche Fructifère
<b>BGII</b>	:	Transgène du Bollgard II
<b>Bt</b>	:	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<b>B.V.</b>	:	Branche Végétative
<b>C.R.R.E.A.</b>	:	Centre Régional de Recherches Environnementales et Agricoles
<b>ELISA</b>	:	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
<b>I.F.O.A.M.</b>	:	International Federation of Organic Agriculture Movements
<b>I.D.R.</b>	:	Institut du Développement Rural
<b>IN.E.R.A.</b>	:	Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles
<b>J.A.S.</b>	:	Jour Après Semis
<b>O.G.M.</b>	:	Organisme Génétiquement Modifié
<b>P.G.M.</b>	:	Plante Génétiquement Modifiée
<b>U.E.</b>	:	Union Européenne
<b>U.P.B.</b>	:	Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Réduction des pesticides et augmentations des rendements et du revenu monétaire dus au cotonnier Bt par rapport au cotonnier non transformé.....	10
Tableau II : Epanouissement de la première fleur et arrêt de la floraison.....	22
Tableau III : Durée de la floraison .....	22
Tableau IV : Analyse des paramètres architecturaux.....	22
Tableau V : Points fructifères émis et capsules récoltables. ....	23
Tableau VI : Organes tombés et capsules attaquées.....	24
Tableau VII : Taux de production de capsules récoltables des branches fructifères par rapport à la production potentielle.....	24
Tableau VIII : Nombre de capsules par position sur les branches fructifères.....	25
Tableau IX : Capsules récoltées, production de coton graine (g) et poids moyen capsulaire .....	25
Tableau X : Rendement de coton graine à l'hectare (kg/ha).....	26
Tableau XI : Flux de pollen en fonction de la distance.....	33
Tableau XII : Variations du flux de pollen selon la distance à la source et la direction (orientation géographique).....	34

**LISTE DES FIGURES ET DES PHOTOS**

Figure 1 : Diagramme représentant la structure simplifiée d'un cotonnier pendant la période de fructification (Source : SANFO, 2003). .....	3
Figure 2 : Coupe transversale d'une fleur de cotonnier. ....	7
Figure 3 : Taux d'adoption globale (%) des principales cultures transgéniques (Millions d'hectares) en 2003. (Source : JAMES, 2003).....	10
Figure 4 : Précipitations mensuelles enregistrées en 2005 sur le site de Farako-Bâ.....	18
Figure 5 : Dispositif de l'étude de l'efficacité biologique du gène Bt avec la randomisation des objets de l'étude de caractérisation. ....	19
Figure 6 : Dispositif de l'essai de flux de pollen.....	30
Photo 1 : Lecture des résultats : A = languette non utilisée ; B = test négatif; C = Test positif.....	32
Figure 7:Variation du flux de pollen en fonction de la distance à la source d'allopollen..	34

## RESUME

Des études sur le cotonnier transgénique ont été réalisées dans plusieurs pays et ont relevé des avantages significatifs. Cependant, l'évaluation des cultures transgéniques doit se faire au cas par cas. C'est ainsi que la présente étude a été initiée au Burkina Faso avec pour objectifs de caractériser le cotonnier transgénique DP50-BGII et d'évaluer le flux du transgène. L'étude a été réalisée à Farako-Bâ sur sols rouges, faiblement ferrallitiques, à faible teneur en argile et en matière organique.

Le matériel végétal de l'étude de caractérisation est constitué des variétés de coton DP50-BGII, DP50 et FK37. Le dispositif était celui d'un bloc Fisher randomisé avec 4 répétitions. Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les variétés pour la précocité ainsi que pour la plupart des paramètres architecturaux et de production. Cependant DP50-BGII a présenté une meilleure protection des capsules contre les ravageurs, plus de capsules en premières positions des branches fructifères et un rendement en coton graine supérieur comparativement aux autres variétés. Par ailleurs, FK37 porte significativement plus de branches fructifères que DP50-BGII et DP50.

Le flux du transgène (pollen) a été évalué dans une ceinture de coton conventionnel FK37 (non traité) autour d'une parcelle de 320 m<sup>2</sup> de DP50-BGII. Le pollen transgénique s'est transféré à la variété FK37 à des taux qui décroissent avec l'éloignement de la source (courbe exponentielle négative). Le flux de pollen s'est effectué indépendamment de l'orientation géographique. Il a été plus important à proximité de la source (5,48 % à 2 m) mais s'affaiblit à 1,84 % à 5 m et moins de 1 % à 10 m. A 15 m, le flux de pollen est de 0,42 %.

Mots clés : Caractérisation, Cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.), Bollgard II, Flux de pollen, Farako-Bâ.

## ABSTRACT

Studies on transgenic cotton were conducted in several countries and carried out significant advantages. However, evaluation of transgenic crops must be done case by case. Therefore, this study has been initiated in Burkina Faso in order to characterize DP50-BGII transgenic cotton variety and to evaluate the transgene outflow. The study has been conducted on Farako-Bâ on red soils, slightly ferralitic with a low level of clay and organic matter.

The vegetable materials of characterization study are DP50-BGII, DP50 and FK37 cotton varieties. The experimental layout was a randomised Fisher bloc with 4 repetitions. The results show that there is not significant difference between varieties for precocity, as well as for the majority of architectural and production parameters. However, DP50-BGII presented a better protection of bolls against pests, more bolls in the first positions of fruiting branches and a cotton yield production higher compared to the other varieties. In addition, FK37 significantly carried more fruiting branches than DP50-BGII and DP50.

Transgene outflow was assessed in an untreated conventional cotton FK37 surrounding a 320 m<sup>2</sup> plot of DP50-BGII. Transgenic pollen was transferred to FK37 variety with some rates which decrease with the distance to the source (see negative exponential curve). The pollen outflow was independent from the geographical orientation. It was more significant near the source (5,48 % to 2 m) but drops quickly to 1,84 % at 5 m then below 1 % at 10 m. At 15 m from the source, the rate of pollen outflow is 0,42 %.

Key words: Characterization, Cotton plant (*Gossypium hirsutum* L.), Bollgard II, pollen outflow, Farako-Bâ.

## INTRODUCTION

Les cotonniers cultivés aujourd'hui résultent de plus de 4 siècles d'amélioration par l'homme (LAGIERE, 1966). Ce processus de sélection a permis d'adapter ces plantes, jadis pérennes, à la culture annuelle et industrielle, aux différents climats et usages, d'accroître leur résistance et d'optimiser leur productivité (PARRY, 1982 ; MUNRO, 1987 ; PERCIVAL *et al.*, 1999).

Au Burkina Faso, la culture du coton est devenue un défi national après les indépendances (IN.E.R.A., 1989). Au delà des revenus substantiels générés aux cotonculteurs, la culture du coton représente 50 à 60 % des recettes d'exportation totales pour l'Etat (VOGNAN *et al.*, 2002).

Cependant, cette culture est confrontée à de faibles rendements consécutifs à la dégradation des sols et surtout à la pression des insectes nuisibles (HEMA, 2004 ; YARA, 1999). Les ravageurs, notamment les Lépidoptères, sont capables de développer de la résistance aux pesticides nécessitant de ce fait la mise au point en continu de nouveaux moyens de protection du cotonnier (WILSON, 1989 et GEORGHIOU, 1990 cités par YARA, 1999 ; HEMA, 2004).

La lutte génétique à travers le cotonnier génétiquement modifié (coton Bt) constitue une nouvelle alternative (GORE *et al.*, 2001 cités par JAMES, 2002). La modification génétique confère au cotonnier la possibilité de synthétiser lui même des toxines insecticides, dans toutes ses parties constituantes, afin de résister à une gamme d'insectes nuisibles appartenant à la famille des Lépidoptères (PERLAK *et al.*, 2001 ; JAMES, 2002 ; GRAIN, 2004).

Selon JAMES (2002), BATTACHARYA (2003) et HOUEBINE (2006), les cultures transgéniques apparaissent comme un espoir presque incontournable dans la politique générale de lutte contre la faim dans le monde et pour l'agriculture actuelle des pays en développement. Cependant, l'impact de ces cultures n'est pas encore maîtrisé et le fort potentiel agronomique et économique coexiste avec la persistance d'incertitudes liées à l'influence des transgènes sur le comportement des plantes modifiées, aux effets de leur dissémination dans l'environnement (CASSE et BREITLER, 2001 ; SUMAN, 2004).

Le cotonnier transgénique est en expérimentation au Burkina Faso depuis 2003 (HOUEBINE, 2006). Tout comme les études effectuées dans d'autres pays sur le cotonnier et sur d'autres cultures transgéniques, cette expérimentation répond à la

nécessité d'évaluer les risques au cas par cas dans l'optique d'une adoption de cette culture (CHEVRE *et al.*, 1997 ; PESSEL *et al.*, 1997 ; CHARRIER et SANOU, 1997). Dans les conditions du Burkina, nos préoccupations reposent d'une part sur l'impact du gène sur le fonctionnement de la plante et d'autre part sur le risque de dissémination du gène dans les variétés cultivées.

C'est pour répondre à ces aspects non encore élucidés dans notre pays que la présente étude a été initiée sous le thème « *Caractérisation du cotonnier transgénique Bollgard II et évaluation du flux du transgène à la station de Farako-Bâ* ».

L'objectif est de caractériser la variété transgénique Bollgard II (DP50-BGII) en étudiant son développement et sa croissance. Pour cela nous allons comparer sur la station de Farako-Bâ DP50-BGII à son isogénique DP50 (sans transgène) et à la variété locale FK37 (sans transgène). Nous nous servirons d'un dispositif expérimental adopté par le Programme coton pour l'étude de l'efficacité du gène Bt. En outre, nous utiliserons le pollen marqué de la variété transgénique DP50-BGII pour évaluer l'importance du flux du transgène. Cela nous permettra de définir des distances d'isolement qui réduiront les risques de contamination.

Ce présent travail va s'articuler autour de deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique sur les connaissances actuelles de la morphologie et la physiologie du cotonnier, le cotonnier transgénique et les risques de pollution génétique.
- La deuxième partie est constituée des expérimentations sur l'étude de caractérisation et les tests de révélation des protéines du transgène.

## **PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE COTONNIER

### I.1. BOTANIQUE

Le cotonnier est une plante appartenant à l'Ordre des Malvales, à la Famille des Malvacées, au Genre *Gossypium*. Cette même Famille renferme le gombo (*Abelmoschus esculentus*) et l'arbuste à fleurs *Hibiscus* (JAMES, 2002).

Plusieurs études taxonomiques ont mis en exergue deux groupes de cotonniers : les cotonniers sauvages avec  $X = 13$  chromosomes qui sont diploïdes et des espèces cultivées qui sont, soit diploïdes (*Gossypium herbaceum* et *Gossypium arboreum*) soit tétraploïdes avec  $2X = 26$  chromosomes (*Gossypium hirsutum* et *Gossypium barbadense*). Au Burkina Faso, l'espèce cultivée est *G. hirsutum* (PARRY, 1982).

### I.2. MORPHOLOGIE DU COTONNIER

La morphologie du cotonnier indique l'architecture de la plante (Figure 1). Elle traite des racines, des tiges, des branches, des feuilles, des fleurs et des fruits.

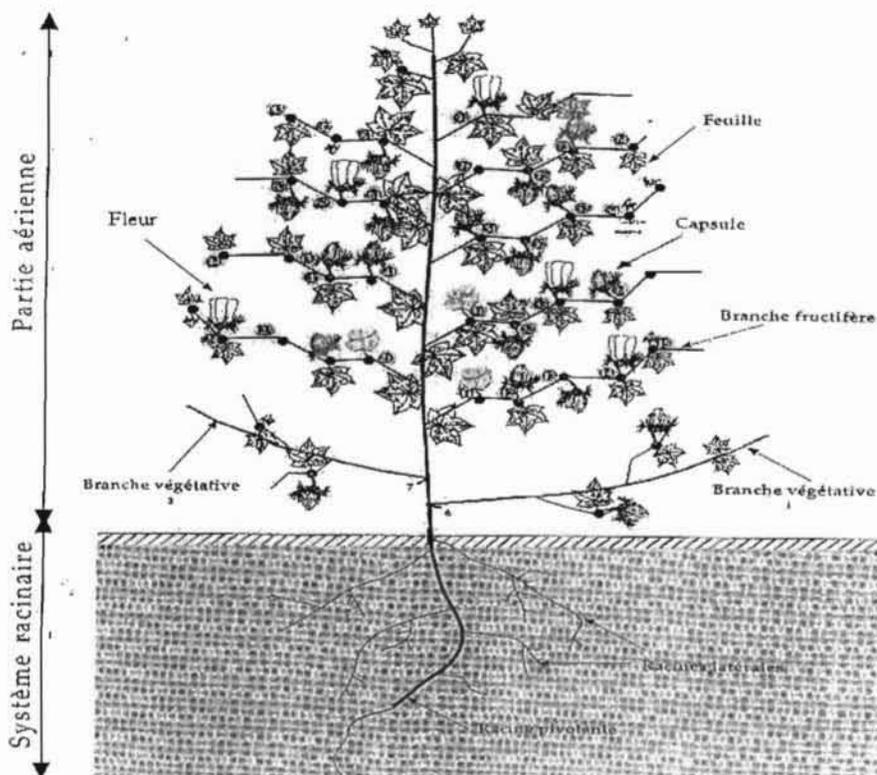


Figure 1 : Diagramme représentant la structure simplifiée d'un cotonnier pendant la période de fructification (Source : SANFO, 2003).

Le système racinaire est composé d'une racine pivotante avec des ramifications latérales qui explorent le sol. Les racines jouent un rôle physique de soutien et un rôle nutritif pour la plante.

Chez le cotonnier, la partie aérienne est le support de la récolte. On distingue une tige principale à croissance monopodiale sur laquelle apparaissent les branches végétatives (B.V.) monopodiales et les branches fructifères (B.F.) qui sont sympodiales.

Les B.V. se développent sur les nœuds de la base de la tige principale et au-dessus des nœuds cotylédonaire. Elles ont une croissance continue et leur nombre varie suivant les variétés et les conditions de culture. HAU et GOEBEL (1986) ont trouvé que ce nombre diminuait avec l'augmentation de la densité et il peut même être nul. Les B.V. peuvent porter une faible partie de la production de la plante.

Les B.F. se développent à partir des nœuds de la tige principale au dessus d'un certain niveau, en général à partir du 6<sup>e</sup> nœud. LEAKE (1910) cité par HAU et GOEBEL (1986) et SANFO (2003) ont rapporté que le niveau d'insertion de la première B.F. sur la tige principale semble corrélé avec la précocité ; les B.F. les plus basses indiquant les plantes les plus précoces. Elles ont un développement en zigzag. Comme leur nom l'indique, elles porteront, principalement, les fleurs et les fruits ; bien que l'on puisse souvent rencontrer des fruits sur les B.V. (HAU et GOEBEL, 1987).

L'inclinaison que prennent les B.F. et les B.V. par rapport à la tige principale et le développement de ces branches les unes par rapport aux autres définissent ensemble le port de la plante : port en gobelet, port pyramidal, port cluster, port filiforme (LAGIERE, 1966).

Quant aux feuilles du cotonnier, elles sont les premiers organes formés sur la tige principale et jouent le rôle de réserve, d'assimilation, de respiration et de transpiration (LAGIERE, 1966).

Les fleurs apparaissent sur les nœuds des B.F. d'abord sous forme de petites structures vertes pyramidales appelées boutons floraux ou « squares ». Ces « squares » se développent et évoluent en fleurs qui s'ouvrent au bout de 3 semaines environ (SANFO, 2003).

La fécondation des ovules donne les graines et le développement de l'ovaire donne la capsule. Les graines peuvent être utilisées en alimentation humaine et animale à condition de les traiter pour éliminer le gossypol toxique (PARRY, 1982).

### **I.3. PHYSIOLOGIE DU COTONNIER**

La physiologie du cotonnier répond à celle de la plupart des dicotylédones. La particularité du cotonnier réside dans sa floraison continue (PARRY, 1982). Les phases physiologiques décrites ici permettent de comprendre la manière dont le cotonnier met en place sa production.

#### **I.3.1. MISE EN PLACE DES BRANCHES FRUCTIFERES**

L'apparition du premier bouton floral correspond à celle de la première branche fructifère. Le niveau d'insertion de cette branche sur la tige principale et sa date d'apparition sont variables selon les variétés et les conditions de culture (SANFO et CLOUVEL, 1999). Ce niveau est un indicateur de précocité variétale. Plus le niveau d'insertion de la première B.F. est bas, plus la variété est précoce (HAU et GOEBEL, 1986).

La vitesse d'émission des B.F., et de ce fait des boutons floraux, dépend également de la variété et des conditions de culture. Pour un cultivar donné, les rythmes d'apparition et de développement des sites fructifères dépendent en grande partie de la température (MUNRO, 1987). Dans certaines conditions de culture on peut observer un ralentissement du rythme d'apparition des boutons floraux, au niveau des derniers nœuds fructifères, qui dépend de la disponibilité des ressources pour la production de boutons floraux et pour la croissance de la plante (CROZAT, 1995 cité par SANFO, 2003).

#### **I.3.2. FLORAISON**

La date de début de la floraison ou date d'épanouissement de la première fleur pour une variété correspond à la date, en nombre de jours après semis, où 50 % des plantes de la variété ont porté au moins une fleur épanouie. Cette date de début de floraison est sous la dépendance de facteurs génétiques, mais l'environnement aussi l'influence fortement (HAU et GOEBEL, 1986).

Le rythme d'apparition des fleurs est sous la dépendance également de la variété et des conditions environnementales dont le climat (MUNRO, 1987 et SANFO et CLOUVEL, 1999). La vitesse de la floraison verticale (en première position) diminue avec la densité des plantes (HAU et GOEBEL, 1987).

La durée de la floraison est aussi fonction de la variété mais peut être affectée par les conditions de culture. Les facteurs génétiques, environnementaux et les conditions de culture qui limitent le développement des derniers nœuds, contribuent à l'arrêt de la floraison (BOURLAND *et al.*, 1992). L'alimentation minérale influence la durée de la

floraison ; une déficience en azote contraint la plante au « shedding » physiologique (chute des boutons floraux) ce qui peut réduire cette durée (PARRY, 1982).

### I.3.3. ARRET DE LA CROISSANCE

Le cotonnier est une plante pérenne. Après avoir bouclé un premier cycle, il peut redémarrer un second dans les conditions favorables. L'arrêt de la floraison ou « cut-out », marque la fin d'un cycle de fructification. Le « cut-out » sur cotonnier est déterminé par l'observation du NAWF (Nodes Above Withe Flower) qui indique le nombre de nœuds au-dessus de la dernière fleur blanche en première position le long de la tige principale. On détermine suivant les conditions de culture une date pour le « cut-out » et toute fleur apparaissant postérieurement à cette date ne participe pas à la production (LACAPE, 1998 cité par SANFO et CLOUVEL, 1999).

Les causes réelles de l'arrêt de la croissance (arrêt de la floraison) sont mal connues. Un stress hydrique sévère ou la présence de fruits en croissance proche du sommet de la tige peut entraîner l'arrêt de la croissance (ROCHE *et al.*, 1998 cités par SANFO, 2003). Chez le cotonnier l'arrêt de fructification se manifeste quand la dernière fleur est proche du sommet de la tige (LAGIERE, 1966). CADOU (1982) explique que l'abscission physiologique, lorsqu'elle intervient tardivement peut être la cause de l'arrêt de la croissance du cotonnier.

### I.3.4. RENDEMENT ET COMPOSANTES DU RENDEMENT

L'évaluation du rendement du cotonnier se fait par la mesure du poids de coton graine à l'hectare (ha). Le rendement chez le cotonnier est donné par la formule suivante :

$$\text{Rendement/ha} = \text{NPH} \times \text{NBP} \times \text{NCB} \times \text{PMC}$$

**NPH** = nombre de plantes à l'ha

**NBP** = nombre de branches par plante

**NCB** = nombre de capsules par branche (B.F. et B.V.)

**PMC** = poids moyen capsulaire

Le rendement est donc fonction des facteurs qui influencent ses différentes composantes. La densité des plantes est influencée par les écartements au semis, la levée (elle même influencée par les conditions du milieu) et le démariage. Les autres composantes relèvent de la variété mais sont aussi fortement influencées par l'environnement et la pression parasitaire (HAU et GOEBEL, 1987 ; SEKLOKA *et al.*, 1999).

Au niveau des plantes à croissance continue, on observe à la fois tous les stades de développement. Le rendement s'élabore entre la date d'épanouissement de la 1<sup>ère</sup> fleur et le stade limite d'avortement du dernier organe fructifère ; les composantes du rendement ne sont pas indépendantes les unes des autres (SANFO et CLOUVEL, 1999).

#### I.4. ORGANES REPRODUCTEURS ET MODE DE REPRODUCTION CHEZ LE COTONNIER.

##### I.4.1. ORGANES REPRODUCTEURS DU COTONNIER

Le cotonnier est une plante monoïque hermaphrodite c'est-à-dire que l'on retrouve sur la même fleur de la plante à la fois l'appareil reproducteur mâle (l'androcée) et femelle (le gynécée). A l'épanouissement la fleur est constituée de (Figure 2) :

- l'involucre (3 bractées dentées et vertes) ;
- le calice gamosépale (5 sépales soudés) ;
- la corolle à 5 pétales de différentes couleurs ;
- l'androcée qui comporte l'anthere contenant les grains de pollen dans les sacs polliniques ;
- le gynécée avec un ovaire à 2-6 carpelles et dont une partie constituante, les nectaires secrètent le nectar qui attire les insectes.

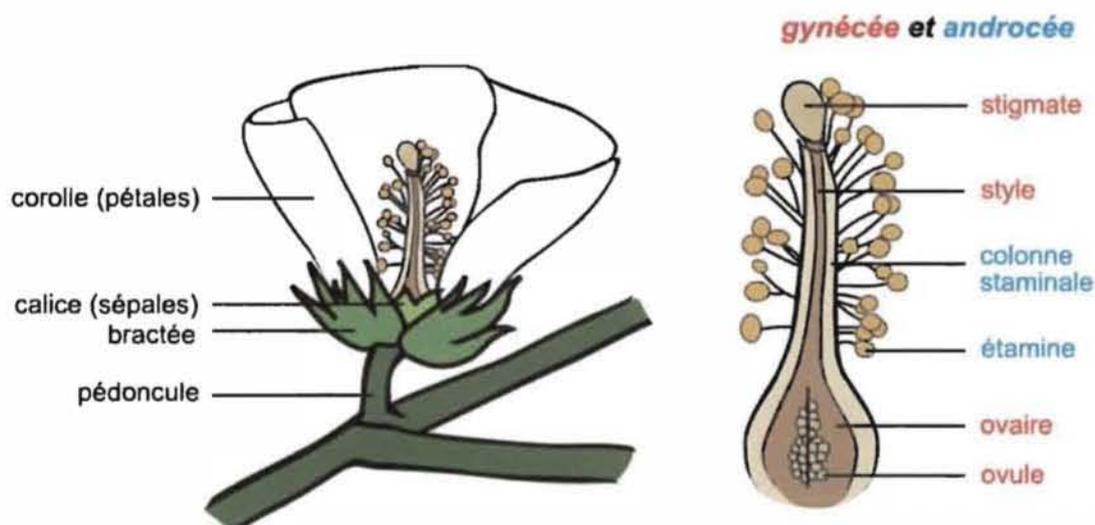


Figure 2 : Coupe transversale d'une fleur de cotonnier.

Source : <http://www.fytr.ucl.ac.be/aristode/cotonfleur2.htm> consulté le 15/03/2006.

Les premières ébauches de fleurs apparaissent sur les branches fructifères du cotonnier 50 jours après la levée puis la floraison se poursuit dans le temps (quotidiennement et jusqu'au « cut out ») (LAGIERE, 1966).

Pendant la période de floraison la fleur s'ouvre normalement le matin peu après la levée du soleil puis vers 9 heures ou 10 heures les anthères s'ouvrent pour libérer les grains de pollen. A ce moment les stigmates sont réceptifs et la fécondation peut avoir lieu (PARRY, 1982). La connaissance précise de ces phénomènes de floraison du cotonnier a permis de tout temps à l'homme d'intervenir pour l'amélioration de ce dernier (LAGIERE, 1966).

#### **1.4.2. MODE DE REPRODUCTION DU COTONNIER**

Chez le cotonnier la fécondation a lieu seulement le jour de l'ouverture de la fleur et dès le lendemain l'ovaire fécondé devient un jeune fruit (PARRY, 1982). Cette fécondation est autogame (LAGIERE, 1966 ; ROUX, 1979) voire largement autogame dans la mesure où le taux d'allopollinisation reste très faible (AFZAL et KAHN, 1950 ; MCGREGOR, 1976). Selon MCGREGOR (1976) ce sont la structure et la forme particulière « en clochette renversée » de la fleur du cotonnier, la forme en sphère hérissée et le diamètre important du pollen (199  $\mu\text{m}$  pour *G. hirsutum*) qui rendent la pollinisation croisée difficile.

Les agents responsables de la pollinisation croisée naturelle chez le cotonnier sont principalement les abeilles et les bourdons (AFZAL et KAHN, 1950 et MCGREGOR, 1976). Cependant VINSON et VAISSIERE (1994) indiquent que les abeilles peuvent avoir des préférences de collecte du pollen pour d'autres cultures mais leur influence sur la pollinisation croisée augmente en cas de présence de ruches dans le champ de coton (ALLEN *et al.*, 2005). Bien que VINSON et VAISSIERE (1994) aient montré que le vent peut faire du pollen un vecteur important du flux de gènes dans les cultures à pollinisation ouverte comme le maïs, son rôle reste négligeable dans le cas du cotonnier (MCGREGOR, 1976).

Beaucoup d'études ont été faites sur le cotonnier qui permettent à l'homme d'intervenir pour l'améliorer. Cependant les cotonniers transgéniques sont des variétés très récentes et des études sont nécessaires pour les caractériser selon les conditions agroclimatiques.

## CHAPITRE II. LE COTONNIER TRANSGENIQUE

### II.1. PROBLEMATIQUE DU COTONNIER BOLLGARD

L'une des principales contraintes de la production du coton est le contrôle des nombreux ravageurs de la culture. De fortes quantités de produits chimiques sont utilisées pour protéger les cultures. Cependant, dès les années 1947, POIRIE et PASTEUR (1991) cités par YARA (1999) ont découvert les phénomènes de résistance aux insecticides de synthèse. Les échecs de traitements répétés au champ couplés à un souci de réduire l'utilisation des produits chimiques ont conduit à la mise au point du cotonnier génétiquement modifié ou coton Bt résistant aux Lépidoptères (PERLAK *et al.*, 2001).

La première génération de coton Bt (Bollgard I) intègre un seul gène de Bt (*Bacillus thuringiensis*) codant pour la protéine Cry1Ac, une toxine efficace contre les Lépidoptères. Bollgard II, la deuxième génération intègre deux gènes qui codent pour Cry1Ac et Cry2Ab (PERLAK *et al.*, 2001). Cry2Ab permet un contrôle plus large d'insectes nuisibles (JAMES, 2002).

### II.2. IMPORTANCE ET ADOPTION DES CULTURES TRANSGENIQUES DANS LE MONDE

Le coton fait partie des plantes génétiquement modifiées qui ont été autorisées officiellement, en culture commerciale, pour la première fois en 1996 aux USA. Après les USA., d'autres pays ont adopté le coton transgénique parmi lesquels des pays en voie de développement : la Chine en 1997, l'Afrique du Sud en 1998 et l'Inde en 2002 (JAMES, 2002).

On observe une croissance de l'adoption des cultures transgéniques aussi bien pour le nombre de pays (6 pays en 1996 contre 18 en 2002 dont 11 Pays en Voie de Développement), que pour les superficies (6,8 millions d'ha en 2001 contre 7,2 millions en 2002) et pour le nombre de producteurs (6 millions de producteurs en 2001 contre 7 millions en 2002) (JAMES, 2002 et HOUDEBINE, 2006).

Selon JAMES (2002), le coton transgénique occupe le deuxième rang après le soja au classement par superficie (7,2 millions d'hectares contre 41,4 millions) et aussi en terme de taux d'adoption global des cultures transgéniques (21 % contre 55 %) (Figure 3).

Le cotonnier transgénique est cultivé dans beaucoup de pays où il a été adopté. Après l'Afrique du Sud, les pays producteurs de coton Bt pourraient augmenter en Afrique avec le Burkina Faso où il est en expérimentation depuis 2003 (HOUDEBINE, 2006).

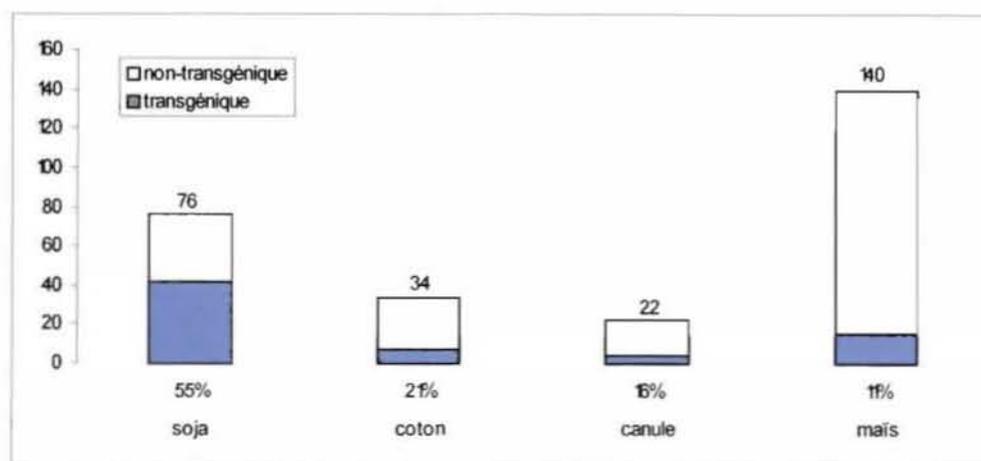


Figure 3 : Taux d'adoption globale (%) des principales cultures transgéniques (Millions d'hectares) en 2002. (Source : JAMES, 2002)

### II.3. BENEFCES LIES AU COTON BT.

Dix ans après l'autorisation officielle des cultures transgéniques à l'échelle commerciale, plusieurs études d'impacts ont été menées (JAMES, 2002). La plupart de ces études montre des avantages liés à l'utilisation du coton Bt. Ces avantages se traduisent par une réduction de l'usage des pesticides, une augmentation des rendements et des revenus monétaires (Tableau I).

Tableau I : Réduction des pesticides et augmentations des rendements et du revenu monétaire dues au cotonnier Bt par rapport au cotonnier non transformé

Avantages	Pays				
	USA	Mexique	Chine	Afrique du Sud	Inde
Réduction du nombre de pulvérisations pesticides	2 sur 4	2 sur 5	14 sur 28	7 sur 11	5 sur 7
Augmentation des rendements	+ de 10%	11%	5 à 10 %	24%	38%
Augmentation des revenus nets	50 - \$80/ha	\$626/ha	\$550/ha	jusqu'à \$50/ha	75 - \$200/ha

Source : Données de JAMES, 2002.

La réduction de l'usage des pesticides (tableau I) et celle de l'exposition à l'empoisonnement ont été les premiers intérêts évoqués par les producteurs de coton Bt en Chine, au Mexique, en Afrique du Sud (HUANG *et al.*, 2002 ; TRAXLER et GODOY-AVILA, 2004 ; ISMAEL *et al.*, 2002). Le cotonnier transgénique se protège contre certains ravageurs sans avoir recours aux pesticides chimiques (PERLAK *et al.*, 2001). En Inde, en Chine, en Afrique du Sud et au Mexique une réduction de l'usage des pesticides liée à l'utilisation du coton Bt a été rapportée (HUANG *et al.*, 2002 ; ISMAEL *et al.*, 2002 ; TRAXLER et GODOY-AVILA, 2004 ; MORSE *et al.*, 2005).

Selon JAMES (2002), les augmentations de rendements traduisent une meilleure récolte de coton graine dans les champs de coton Bt. Comme le montre le tableau I, les augmentations de rendements varient d'une zone agroclimatique à une autre et à l'intérieur de la même année suivant la pression des insectes (HUANG *et al.*, 2002).

Les augmentations de rendement entraînent des revenus monétaires additionnels pour les producteurs de coton Bt (JAMES, 2002). Ils résultent de la différence entre les coûts (achat de semences et frais de technologie) et les gains (économie en pesticides et augmentation des rendements). Dans tous les pays producteurs de coton Bt, les revenus sont souvent affectés par les coûts de semences et les honoraires de technologie (PURCELL et PERLAK, 2004). Selon BURKHARDT (2002), les firmes semencières doivent négocier leurs brevets suivant des royalties qui avantagent les producteurs locaux ; c'est peut être le prix à payer pour prouver l'intérêt des cultures transgéniques.

Les cultures transgéniques présentent des avantages en général mais l'un des problèmes posés pour leur adoption est surtout les pollutions génétiques (CHEVRE *et al.*, 1997 ; LAINE *et al.*, 1997 ; SQUIRE *et al.*, 1999).

## **II.4. PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES (PGM) ET RISQUES DE CONTAMINATIONS**

### **II.4.1. FLUX DE GENES**

Dans son sens large le flux de gènes désigne les échanges de matériel génétique qui ont lieu entre les organismes, quelle que soit la façon dont ils se produisent (fécondation, transmission par un micro-organisme ou un virus) (LAINE *et al.*, 1997). Autrement dit le flux de gènes correspond au transfert de gènes d'un individu (ou une culture) vers un autre de la même espèce (flux ou croisement intraspécifique) ou d'espèce apparentée ou voisine (flux ou croisement interspécifique).

Selon SQUIRE *et al.* (1999), pour confirmer un flux de gènes il est essentiel d'observer un transfert de matériel génétique d'un individu ou d'un groupe à la descendance d'un autre.

C'est un phénomène d'abord naturel, un des fondements de l'évolution (ROUX, 1979 ; WANG *et al.*, 1997 ; RENNO *et al.*, 1997 ; GRAIN, 2004) dont l'avènement des plantes transgéniques a cependant donné beaucoup de crédit au regard de la recherche et même du pouvoir public (SQUIRE *et al.*, 1999 ; CASSE et BRETLEIR, 2001).

La culture des plantes transgéniques constitue une situation nouvelle non pas du point de vue « flux génique » mais parce qu'on a eu recours dans ce cas à de nouveaux gènes d'origine bactérienne, virale ou artificielle (CHARRIER et SANOU, 1997).

MESSEAN *et al.* (2006) ont distingué 9 cas importants de possibilité de flux de gènes auxquels on peut ajouter le transfert potentiel de gènes vers la rhizosphère. On peut les classer en 3 catégories :

le risque de flux de gènes qui pourrait s'avérer le plus important est lié aux manipulations accidentelles et inconscientes de l'homme (mélange de semences à la récolte, au transport, à l'entreposage ; restes de coton graine au champ et aux bords des routes ; les repousses ; les semences impures et les mélanges au semis) (IFOAM, 2003 ; MESSEAN *et al.*, 2006). Selon SUMAN (2004), les producteurs ne disposeraient pas des moyens matériels nécessaires pour empêcher les mélanges de produits pendant les récoltes, le transport et la conservation des produits ; alors se pose le problème de semences contaminées. En outre, HUANG *et al.* (2002) et SUMAN et RAHMAN (2003) ont rapporté, aussi bien pour la Chine que pour l'Inde, des pollutions génétiques occasionnées par les échanges de semences entre producteurs ;

le transfert potentiel du transgène aux organismes du sol (bactéries, virus) ou transfert horizontal se pose à cause de la présence d'antibiotiques dans les plantes transgéniques (LAINE *et al.*, 1997 ; CHARRIER et SANOU, 1997). Certains auteurs comme HOFFMANN *et al.* (1994) cités par LAINE *et al.* (1997) pensent que l'ADN libéré par les résidus de plantes transgéniques en décomposition pourrait être incorporé dans le génome des microorganismes de la rhizosphère. Ce risque demeure de nos jours théorique (CASSE et BRETLEIR, 2001) ;

la dernière catégorie comprend le flux de pollen (transfert vertical) à travers la pollinisation croisée. Actuellement, et en ce qui concerne les cultures transgéniques, c'est le transfert de pollen qui est beaucoup plus considéré (MIKKELSEN *et al.*, 1996 ; CHEVRE *et al.*, 1997 ; SQUIRE *et al.*, 1999 ; MESSEAN *et al.*, 2006). Le pollen renferme le matériel génétique qu'il peut transmettre à la descendance à travers la fécondation. C'est pourquoi la mise en culture des plantes transgéniques entraîne la possibilité de diffusion des transgènes aux variétés non modifiées de la même espèce ou aux espèces apparentées quand les variétés considérées présentent une compatibilité sexuelle et à la condition qu'elles vivent en sympatrie (SQUIRE *et al.*, 1999).

Le flux de pollen est un phénomène intrinsèque aux plantes dont les cultures transgéniques ne pourraient faire exception. C'est pourquoi son évaluation suivant les conditions de

culture constitue une étape primordiale dans le processus d'adoption de ces cultures afin de les permettre de coexister avec les cultures conventionnelles.

#### II.4.2. CONDITIONS DE REALISATION DU FLUX DE POLLEN

Selon CHARRIER et SANOU (1997), les fondements conceptuels des flux de gènes reposent sur la notion d'espèce biologique d'une part, sur les pools génétiques de HARLAN et WEI et les complexes d'espèces de PERNES d'autre part. Ainsi, nombre d'espèces végétales cultivées sont capables de se croiser avec des espèces spontanées ancêtres ou apparentées et donner naissance à des plantes adventices (MIKKELSEN *et al.*, 1996 ; SQUIRE *et al.*, 1999).

Chez les cultures à pollinisation ouverte comme les graminées, le flux de pollen est favorisé par le mode de reproduction allogame accompli aussi bien par le vent que par les insectes (VINSON et VAISSIERE, 1994). Pour le maïs Bt, CHARRIER et SANOU (1997) indiquent qu'en Afrique la diversité des cultivars et la taille réduite des champs favoriseraient les possibilités de croisement et la diffusion du transgène serait rapide.

La pollinisation croisée chez le cotonnier est attribuable surtout aux abeilles (*Apis mellifica*) et aux bourdons (*Bombus* sp.) (Mc GREGOR, 1976). ALLEN *et al.* (2005) ont rapporté un rôle important des abeilles sur la pollinisation en cas d'installation de ruches dans le champ.

Selon CHEVRE *et al.* (1997) ; ANDOW et ZWAHLEN (2006), pour que le flux de transgènes d'une plante transgénique vers les autres plantes soit effectif, plusieurs conditions doivent toutes exister ou avoir lieu entre le donneur et le receveur :

- la proximité physique des cultures ;
- la floraison simultanée ;
- la présence d'agents qui transfèrent le pollen (insectes pollinisateurs) ;
- la compatibilité sexuelle ;
- le mouvement de graines viables de fertilisations croisées ;
- la fertilité et la vigueur dans les plantes hybrides.

Au regard de ces conditions, les plantes transgéniques ont été classées suivant le niveau de risque, en 4 catégories (HOUDEBINE, 2006) : risque très faible (soja, millet, arachide, pomme de terre), risque faible (riz, coton), risque modéré (alfalfa, betterave, blé, colza, tournesol) et risque élevé (sorgho et le maïs).

En outre, la diffusion géographique de ces cultures doit prendre en compte la facilitation des flux de pollen par les conditions locales et leur impact possible (HOUDEBINE, 2006). Ainsi le maïs transgénique n'est pas autorisé en culture commerciale au Mexique où il pourrait échanger du pollen avec l'espèce sauvage apparentée, la téosinte (*Zea mexicana* (Schard.) Kuntze) et affecter la variabilité (CHAPELA et QUIST, 2001). ACIA et BBV (2003) indiquent que les plantes sauvages apparentées au cotonnier transgénique commercialisé (*Gossypium hirsutum*) ont leurs centres de diversité dans les régions tropicales et subtropicales.

Au Burkina.Faso l'inquiétude par rapport au flux de pollen est liée au fait que les variétés locales sont aussi de l'espèce *Gossypium hirsutum*.

#### II.4.3. INCONVENIENTS DU FLUX DE POLLEN

Les plantes transgéniques, avec des avantages incontestables, présentent quelques inquiétudes comme toute nouvelle technologie (CASSE et BREITLER, 2001 ; GRAIN, 2004).

Les craintes à l'égard des O.G.M. par une partie du monde scientifique et des pouvoirs publics sont légitimes dans la mesure où l'objectif est de contribuer à éviter les dégâts comme ceux résultés de mauvaises applications d'innovations dans le passé (IFOAM, 2003 et SUMAN, 2004). Selon ces auteurs, tout comme les autres cultures génétiquement modifiées, le coton Bt s'il est adopté, est amené à cohabiter avec les cultures conventionnelles et les cultures biologiques.

L'une des craintes de la cohabitation résulte dans la possibilité de pollution génétique des cultures non modifiées par le transgène (via le pollen) quand on sait que l'agriculture biologique, par exemple, ne tolère aucune forme de pollution (PELSEL *et al.*, 1997). Avant 1996, plusieurs rapports aux USA ont estimé les risques associés aux plantes transgéniques négligeables (ANDOW et ZWAHLEN, 2006). Le flux de transgène n'a pas pu être prouvé sur la tomate (VINCENZA et MARINA, 2001). Cependant, les travaux de CHARRIER et SANOU (1997), JAROSZ (2003) ont mis en évidence le flux de gènes sur le maïs (respectivement marqueur et transgénique, au Burkina Faso et en France). Les études de KÁRIEVA *et al.* (1994), LLEWELLYN et FITT (1996) ont montré que le cotonnier Bt pouvait transférer son transgène aux cotonniers non modifiés. Ces résultats ont été confirmés par les travaux de BERKEY et SAVOY (2002), ALLEN *et al.* (2005).

Le flux de pollen peut amener aussi le transgène en direction des plantes sauvages apparentées, leur conférant le caractère de résistance à des insecticides ou à des herbicides.

Les mauvaises herbes ne seront plus neutralisées par les herbicides totaux et celles qui résistent aux insectes pourront quitter leur niche écologique et devenir envahissantes (LAINÉ *et al.*, 1997). Aucun résultat de ce type concernant le cotonnier n'a pu être trouvé. JAMES (2002) indique qu'en dehors des espèces de coton, aucune autre espèce sauvage apparentée ne peut se croiser avec les variétés de coton cultivées. CHAPELA et QUIST (2001) ont détecté de l'ADN transgénique dans le maïs sauvage. MIKKELSEN *et al.* (1996) ont indiqué que le colza transgénique est capable de polliniser, dans un rayon important, *Brassica campestris* et lui transférer la tolérance au glufosinate. CHEVRE *et al.* (1998) confirment que ce résultat peut être obtenu par des hybridations provoquées entre le colza transgénique et ses parents sauvages, seulement le taux de réussite est faible.

Ces menaces de pollutions géniques grandiront si les plantes transgéniques sont développées à grande échelle (SQUIRE *et al.*, 1999) et les pays en développement ne disposent pas de moyens aussi bien matériels, humains, législatifs qu'économiques pour faire face à cette situation (IFOAM, 2003 et SUMAN, 2004). Le flux de transgène pourrait donc mettre en péril l'agriculture biologique qui ne tolère aucune forme de contamination de ses produits ainsi qu'il va accentuer la vulnérabilité de la diversité biologique déjà décriée avec l'agriculture intensive dans les centres de diversité biologique (IFOAM, 2003).

Les efforts dans le sens de maîtriser les flux et leurs inconvénients affectent sensiblement les pratiques agricoles préexistantes (ANGEVIN *et al.*, 2002). Ces pratiques devront être modifiées ou améliorées pour permettre la coexistence et éviter les contaminations, mais cela engendrerait des coûts additionnels de production dans la plupart des cultures transgéniques (SUMAN, 2004). Dans le cas de l'Afrique, avec une multitude de petits cultivateurs voisins, cela suppose aussi une concertation avec tous les acteurs concernés (ANGEVIN *et al.*, 2002).

Les coûts engendrés par ces changements sont tels qu'ils doivent être évalués avant toute adoption de culture génétiquement modifiée (IFOAM, 2003 ; SUMAN, 2004 ; MESSEAN *et al.*, 2006).

#### II.4.4. CONTROLE DU FLUX DE POLLEN

La logique voudrait que l'on puisse considérer avec KAHN (1996) cité par LAINE *et al.* (1997) l'idée selon laquelle le transfert d'un gène (via le pollen) d'une espèce à une autre, en particulier, crée une nouvelle diversité biologique et ne la réduit pas. Cependant les études ont montré que le transfert de transgène, outre l'appauvrissement variétal confère des caractères qui ne sont pas souhaitables dans les mauvaises herbes et des solutions à cette préoccupation s'imposent (LAINE *et al.*, 1997 ; MIKKELSEN *et al.*, 1996). Ces solutions, pour être efficaces, sont envisagées dans un concept de coexistence. Ce sont :

- l'isolement géographique des cultures par une distance minimale appelée « distance minimale d'isolement ». Cette distance doit être définie par des études pour chaque type de culture. Chez le cotonnier, cette solution paraît la plus simple et la mieux adaptée au regard de tout ce que l'on sait de la pollinisation croisée chez le cotonnier ;

- l'utilisation de barrières physiques de toutes sortes est aussi envisagée à condition que la barrière joue efficacement son rôle de piège à pollen. A cet effet, on peut utiliser des cultures d'espèces différentes génétiquement incompatibles ou de la même espèce non modifiée (peut jouer aussi le rôle de piège à pollen), des arbres ligneux, la production sous serre, la pose de sachets et des filets sur les plantes (échelle expérimentale) ;

- l'isolement reproductif comporte un ensemble de stratégies qui visent à stopper les flux de pollen en agissant sur les systèmes reproducteurs. L'accent est mis sur la stérilité mâle, la disjonction dans la maturation du système reproducteur des plantes transgéniques par rapport à celui des plantes non transformées, l'apomixie, la cléistogamie. Ces techniques ne sont pas utiles pour le cotonnier qui est surtout autogame et à durée de pollinisation très courte ;

- cependant, les solutions ne sont pas souvent adoptées par les producteurs. Les dernières mesures prises afin de rendre effective la volonté de réduire les contaminations des produits sont la traçabilité des OGM de même que leur étiquetage. Un règlement a fixé des seuils de contaminations accidentelles acceptables à moins de 0,9 % pour les aliments, moins de 0,5 % pour les semences (maïs, coton) et moins de 0,7 % pour le soja (Journal Officiel de l'Union Européenne, 2003). Le même règlement oblige à la traçabilité des produits mis sur le marché de l'Union Européenne.

Cette synthèse bibliographique permet de retenir que le cotonnier présente des particularités aussi bien sur le plan morphologique que sur le plan physiologique. Cependant les nombreuses études sur le cotonnier conventionnel ne peuvent pas être généralisées au cotonnier transgénique. Les phénomènes observés étaient beaucoup expliqués par des causes environnementales (HAU et GOEBEL, 1987), mais l'influence génétique n'est plus à exclure et doit être évaluée surtout avec l'introduction des transgènes pour permettre la caractérisation des nouveaux cotonniers.

En outre, bien que largement autogame le cotonnier possède une part de pollinisation croisée naturelle qui fait du flux de pollen une préoccupation. Cette préoccupation est liée au fait que les variétés locales sont de la même espèce que les variétés transgéniques, que les agents de pollinisation et les conditions agroclimatiques influencent beaucoup le flux de pollen. Par conséquent les solutions possibles de maîtrise du flux de pollen doivent être adaptées aux conditions du Burkina Faso.

La présente étude s'inscrit dans ce cadre, le but étant de mettre en évidence l'effet du transgène sur le comportement de la plante et d'évaluer le taux d'allopollinisation du cotonnier.

## **DEUXIEME PARTIE : EXPERIMENTATION**

## CHAPITRE I : CARACTERISATION DE DP50-BGII

### I.1.MATERIEL ET METHODE

#### I.1.1. SITE DE L'ETUDE

##### I.1.1.1. LOCALISATION

L'étude s'est déroulée à la station de recherche agricole de Farako-Bâ située à 10 km de Bobo-Dioulasso sur l'axe Bobo-Banfara. Les coordonnées de Farako-Bâ sont définies comme suit : altitude 405 m ; longitude 4°20' ; latitude 11°06'.

##### I.1.1.2. CLIMAT

Selon GUINKO (1984), Farako-Bâ fait partie du climat sud-soudanien-ouest avec deux saisons. Le climat est, par excellence, propice à la culture du coton. C'est au cours de la saison pluvieuse qui s'étend du mois de Mai au mois d'Octobre que les essais ont été implantés.

La pluviométrie varie entre 1000 mm et 1200 mm d'une année à l'autre. Avec une pluviométrie de 872,1 mm enregistrée en 2005, la zone de Farako-Bâ connaît une baisse de sa pluviométrie annuelle.

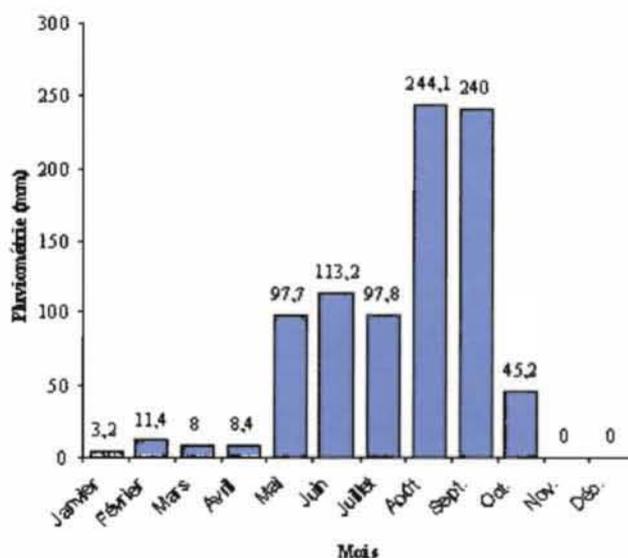


Figure 4 : Précipitations mensuelles enregistrées en 2005 sur le site de Farako-Bâ

### I.1.1.3. VEGETATION

La végétation de Farako-Bâ est de type savane arbustive et arborée (GUINKO, 1984).

La strate ligneuse, bien présente, se compose essentiellement d'espèces mellifères (*Parkia biglobosa*, *Bombax costatum*, *Vitellaria paradoxa*, *Anacardium occidentale*,...) et pollinifères (*Acacia seyal*, *Acacia nilotica*, ...). Elle justifie la relative abondance d'insectes pollinisateurs dans la zone comme les abeilles, les bourdons, les papillons.

### I.1.2. MATERIEL D'ETUDE

Le matériel végétal est constitué de 3 variétés qui sont DP50, Bollgard II et FK37.

DP50 est une variété conventionnelle américaine créée par Delta and Pine Land. Elle est connue être de taille plus courte et à maturation plus précoce que les variétés africaines.

Bollgard II est une variété transgénique. Il sera noté DP50-BGII dans tout le reste du texte. C'est la variété DP50 où a été inséré le transgène BGII. Le transgène BGII est composé de 2 gènes produisant les toxines Cry1Ac et Cry2Ab.

FK37 est une variété conventionnelle burkinabé avec un cycle de 150 jours et recommandée pour les zones Ouest et Sud-Ouest où les pluviométries excèdent 800 mm par an. Pour FK37 l'ouverture de la première fleur intervient 65 jours après la levée.

### I.1.3. METHODES

#### I.1.3.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le dispositif utilisé a été conçu dans le cadre de l'étude de l'efficacité biologique du transgène BGII. C'est un bloc Fisher randomisé à 3 objets avec 4 répétitions. Les objets correspondent aux variétés DP50-BGII, DP50 et FK37 (Figure 5). Ces trois objets n'ont pas été traités avec des pesticides chimiques.



Figure 5 : Dispositif de l'étude de l'efficacité biologique du gène Bt avec la randomisation des objets de l'étude de caractérisation.

Chaque objet est constitué de 10 lignes de cotonniers de 15 m (parcelle élémentaire) par répétition. Les semis ont été réalisés le 23 juin 2005 avec les écartements de 0,8 m entre les lignes et de 0,4 m sur la ligne. Les entretiens culturaux (annexe 1) ont été effectués, manuellement.

### **I.1.3.2. PARAMETRES ETUDIES**

Pour la caractérisation de la variété DP50-BGII nous avons utilisé la méthode du « plant mapping ». Cette méthode est couramment utilisée pour suivre la croissance et le développement du cotonnier c'est à dire qu'elle permet de décrire l'architecture de la plante à tout stade de sa croissance afin d'évaluer les paramètres de la production.

#### **I.1.3.2.1. PARAMETRES DE LA FLORAISON**

*Date d'épanouissement de la première fleur (en JAS) :* c'est le jour où 50 % des plantes ont porté au moins une fleur épanouie. Le comptage a été réalisé sur l'ensemble des plantes des 2 lignes centrales par parcelle élémentaire et par répétition.

*Date d'arrêt de la floraison (en JAS) :* c'est le jour où pour 50 % des plantes, la floraison est arrêtée le long de la tige principale (en première position sur les branches fructifères). Elle correspond aussi à la date d'arrêt de la croissance car il n'y a plus d'émission de nouveaux phytomères au niveau du méristème apical. Le comptage s'est fait sur 5 plantes choisies au hasard sur une ligne centrale de chaque parcelle élémentaire par répétition.

La connaissance de ces dates permet d'apprécier la précocité de la floraison et la durée de celle-ci.

*Durée de la floraison :* Elle est calculée, pour chaque variété considérée, par la différence entre la date d'arrêt de la floraison et celle d'épanouissement de la première fleur. Elle s'exprime en nombre de jours (j).

#### **I.1.3.2.2. PARAMETRES ARCHITECTURAUX :**

En fin de cycle, des paramètres architecturaux ont été décrits. Les observations et les mensurations ont été réalisées sur 5 plantes choisies au hasard sur la ligne centrale de chaque parcelle élémentaire. Les résultats ont été reportés sur des fiches de « plant mapping » (annexe 2) et les paramètres concernés sont :

- le niveau d'insertion de la première branche fructifère : c'est le nombre de nœuds entre le nœud cotylédonaire et celui de la première branche fructifère ;
- le nombre de branches fructifères par plante ;

- le nombre de branches végétatives par plante ;
- la taillé (en cm) des cotonniers à 120 jours après semis.

### **I.1.3.2.3. PARAMETRES DE LA PRODUCTION**

Les évaluations de ces paramètres ont été effectuées principalement sur les branches fructifères étant donné que la contribution à la production des branches végétatives est faible (HAU et GOEBEL, 1987). Les paramètres observés sont :

- le nombre de capsules et la distribution de ces capsules par position sur les branches fructifères. On distinguera la production potentielle d'organes fructifères qui correspond à l'ensemble des points fructifères émis par la plante. Elle comprend des points de fructification vides (non valorisés), des organes tombés, des capsules attaquées (non récoltables), les capsules récoltables (capsules ouvertes et capsules vertes à la récolte) ;
- le poids de coton graine (g) par branche fructifère et par plante. Seules les capsules ouvertes au moment de la récolte seront comptabilisées dans la production de coton graine ;
- le poids moyen capsulaire (pmc en g/capsule). Il sera calculé à partir des capsules ouvertes, récoltées sur l'ensemble des plantes des 4 lignes centrales de chaque parcelle élémentaire ;
- le rendement sera évalué à partir de la récolte des 4 lignes centrales de chaque parcelle élémentaire (kg/ha).

### **I.1.3.4. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES**

Les analyses de variance (ANOVA) ont été réalisées avec le Logiciel XLSTAT 6.1.9. Les moyennes ont été comparées par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de signification de 5 %.

## **I.2. RESULTATS**

### **I.2.1. COMPARAISON DES PARAMETRES DE LA FLORAISON**

Le suivi de la floraison a permis de déterminer le jour d'épanouissement de la première fleur ainsi que celui de l'arrêt de la floraison pour les trois variétés. Ces deux paramètres s'expriment en nombre de jours après semis (jas). L'analyse de variance a donné les résultats présentés dans le tableau II.

**Tableau II : Epanouissement de la première fleur et arrêt de la floraison**

variétés	Epan. 1 <sup>ère</sup> fleur (jas)	Arrêt floraison (jas)
DP50-BGII	65,0	98,7
DP50	63,5	95,2
FK37	65,2	102,0
Moyenne	64,6 ± 2,3	98,7 ± 6
Probabilité (p)	0,558 (NS)	0,296 (NS)

Epan. 1<sup>ère</sup> fleur = épanouissement de la première fleur ; NS = non significatif.

Ces résultats montrent que l'épanouissement de la première fleur intervient en moyenne 64,6 ± 2,3 jours après semis (jas). L'analyse de variance ne révèle pas de différence significative ( $p = 0,558$ ) entre les 3 variétés.

En ce qui concerne l'arrêt de la floraison, les variétés DP50-BGII, DP50 et FK37 ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,296$ ). L'ensemble des variétés arrête la floraison à 98,7 ± 6 jas.

La durée de la floraison (en jours) a été calculée et les résultats sont consignés dans le tableau III.

**Tableau III : Durée de la floraison**

Variétés	Durée floraison (j)
DP50-BGII	33,7
DP50	31,7
FK37	36,7
Moyenne	34,1 ± 7
Probabilité (p)	0,638 (NS)

NS = non significatif

Les 3 variétés ne diffèrent pas significativement pour la durée de la floraison ( $p = 0,638$ ).

La durée moyenne de floraison pour l'ensemble de ces variétés est 34,1 ± 7 j.

### I.2.2. COMPARAISON DES PARAMETRES ARCHITECTURAUX

Le tableau IV donne les résultats de l'analyse de variance des paramètres de l'architecture de la plante. Le niveau d'insertion de la première branche fructifère (1<sup>ère</sup> BF) s'exprime en nombre de nœuds tandis que la hauteur est donnée en centimètre (cm).

**Tableau IV : Analyse des paramètres architecturaux**

Variétés	Paramètres architecturaux			
	1 <sup>ère</sup> BF	Hauteur (cm)	Nbre B.F.	Nbre B.V.
DP50-BGII	5,6	124,4	15,4 b	3,2
DP50	5,6	132,1	15,9 b	2,8
FK37	5,8	142,6	18,0 a	2,8
Moyenne	5,7 ± 0,9	133,0 ± 14,2	16,4 ± 2,8	3,0 ± 0,3
Probabilité (p)	0,887 (NS)	0,202 (NS)	0,005 (S)	0,103 (NS)

1<sup>ère</sup> BF = première branche fructifère ; Nbre BF = nombre de branches fructifères ; Nbre BV = nombre de branches végétatives ; NS = non significatif, S = significatif.

Les résultats du tableau IV ne révèlent pas d'écarts significatifs entre les variétés pour le niveau d'insertion de la première branche fructifère ( $p = 0,887$ ), la hauteur des plantes ( $p = 0,202$ ) et le nombre de branches végétatives ( $p = 0,103$ ).

Cependant les variétés diffèrent très significativement par le nombre de branches fructifères ( $p = 0,005$ ). La variété locale FK37 porte un plus grand nombre de branches fructifères (18 branches) par rapport à la variété DP50B-GII (15,4) et la variété DP50 (15,9).

DP50-BGII et DP50 ne présentent pas de différence significative pour ces paramètres architecturaux.

### I.2.3. COMPARAISON DES PARAMETRES DE PRODUCTION

#### I.2.3.1. POINTS FRUCTIFERES EMIS ET PRODUCTION DE CAPSULES

##### RECOLTABLES

Le tableau V donne l'analyse de variance du nombre total de points fructifères des branches fructifères et du nombre de capsules récoltables qui ont été produites par branche fructifère et par plante.

**Tableau V : Points fructifères émis et capsules récoltables.**

Variété	Capsules récoltables par plante	Branche fructifère	
		Capsules	Points fructifères émis
DP50-BGII	13,3	10,2	35
DP50	10,5	8,5	37,5
FK37	9,9	8,3	40,6
Moyenne	11,2 ± 2,3	9,0 ± 1,6	37,7 ± 9
Probabilité (p)	0,062 (NS)	0,167 (NS)	0,717 (NS)

NS = non significatif; S = significatif

Le nombre total de points fructifères émis par les cotonniers sur leurs branches fructifères n'est pas significativement différent pour les 3 variétés ( $p = 0,717$ ). L'analyse de variance indique que les variétés américaines et celle locale se comportent de la même manière pour ce paramètre.

Le nombre de capsules produites à partir des points fructifères (capsules récoltables) n'a pas montré de différences entre DP50-BGII, DP50 et FK37. Sur les branches fructifères on a dénombré environ 10,2 capsules récoltables pour DP50-BGII contre 8,5 et 8,3 respectivement pour DP50 et FK37. Sur l'ensemble de la plante DP50-BGII a fourni 13,3 capsules récoltables contre 10,5 et 9,9 capsules récoltables pour DP50 et pour FK37.

En plus des capsules récoltables, une partie des points fructifères a donné des organes fructifères qui n'ont pas participé à la récolte. Ces organes sont tombés prématurément ou sont rendus non récoltables par les attaques de ravageurs. Les résultats concernant ces paramètres, sur les branches fructifères, sont consignés dans le tableau VI.

**Tableau VI : Organes tombés et capsules attaquées**

Variétés	Organes tombés	Capsules non récoltables
DP50-BGII	25,2	0,5 b
DP50	31,7	1,45 a
FK37	28,9	0,6 b
Moyenne	28,6 ± 9,1	0,8 ± 0,5
Probabilité (p)	0,652 (NS)	0,040 (S)

NS = Non Significatif ; S = significatif

Le nombre moyen d'organes tombés pour l'ensemble des branches fructifères de la plante est  $28,6 \pm 9,1$ . Il n'y a pas, statistiquement, de différence significative d'une variété à une autre pour ce paramètre ( $p = 0,652$ ).

Par contre, pour le paramètre « capsules non récoltables » les résultats indiquent une différence significative entre DP50-BGII et DP50 ( $p = 0,040$ ). DP50 a enregistré environ 3 fois plus de capsules détruites par rapport à DP50-BGII et à FK37. Les deux dernières variétés ne présentent pas de différences significatives entre elles.

### 1.2.3.2. TAUX DE PRODUCTION DE CAPSULES RECOLTABLES

L'analyse de variance du taux de production (ou de rétention) de capsules récoltables des branches fructifères par rapport au nombre total de points fructifères émis a donné les résultats consignés dans le tableau VII.

**Tableau VII : Taux de production de capsules récoltables**

Variétés	Taux de rétention (%)
DP50-BGII	29,6
DP50	22,7
FK37	23,1
Moyenne	25,1 ± 7,3
Probabilité (p)	0,364 (NS)

NS = non significatif

Le taux de production (rétention) des capsules n'a pas varié significativement entre les variétés comparées ( $p = 0,364$ ). DP50, statistiquement, a le même taux de rétention que DP50-BGII et FK37. Le taux moyen de production est de  $25,1 \pm 7,3$  %. Ce taux est faible ; il indique qu'une (1) capsule sur 4 seulement de la production potentielle de capsules est valorisée.

### I.2.3.3. DISTRIBUTION DES CAPSULES RECOLTABLES SUR LES BRANCHES FRUCTIFERES

Une analyse de variance de la distribution des capsules récoltables, par position le long des branches fructifères, a donné les résultats présentés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII<sup>1</sup> : Nombre de capsules par position sur les branches fructifères**

Variétés	Cap P1	Cap P2	Cap P3	Cap P4	Cap P5
DP50-BGII	5,8 a	3,3	1,0	0,1	0,0
DP50	4,7 b	2,7	0,9	0,1	0,0
FK37	4,6 b	2,8	0,9	0,0	0,0
Moyenne	5,0 ± 0,8	2,9 ± 0,7	0,9 ± 0,5	0,1 ± 0,1	-
Probabilité (p)	0,037 (S)	0,385 (NS)	0,962 (NS)	0,144 (NS)	-

Cap P1, Cap P2, Cap P3, Cap P4 et Cap P5 = capsules en position 1,2,3,4 et 5 de la branche fructifère; S = significatif; NS = non significatif ; tirets(-) = pas d'analyse statistique pour P5.

Le nombre de capsules récoltables placées en premières positions des branches fructifères a présenté une différence significative entre DP50-BGII, DP50 et FK37 ( $p = 0,037$ ). C'est DP50-BGII qui a porté plus de capsules que les deux autres variétés (5,8 capsules contre 4,7 pour DP50 et 4,6 pour FK37). FK37 et DP50 ne diffèrent pas significativement entre elles pour ce paramètre.

Aux autres positions, une différence significative n'apparaît plus entre les 3 variétés. A partir de la cinquième position de fructification on n'observe plus de capsules récoltables sur les branches fructifères, quelle que soit la variété.

### I.2.3.4. PRODUCTION DE COTON GRAINE

Le nombre de capsules récoltées et la production en coton graine (en gramme) de ces capsules sont consignés dans le tableau IX. Le tableau présente aussi le poids moyen capsulaire (pmc en gramme par capsule).

**Tableau IX : Capsules récoltées, production de coton graine et pmc**

Variété	pmc	Branche fructifère		Plante entière	
		Capsules récoltées	Coton graine (g)	Capsules récoltées	Coton graine (g)
DP50-BGII	4,5	9,2	47,0	11,6	55,3
DP50	4,1	8,1	37,2	8,8	46,1
FK37	3,9	7,5	41,2	9,8	49,2
Moyenne	4,2 ± 0,6	8,3 ± 1,8	42,0 ± 7,8	10,0 ± 2,3	50,2 ± 9,1
Probabilité (p)	0,472 (NS)	0,427 (NS)	0,275 (NS)	0,231 (NS)	0,392 (NS)

NS = non significatif

L'analyse de variance ne révèle pas de différences significatives entre DP50-BGII, DP50 et FK37 en ce qui concerne le nombre de capsules récoltées sur les branches fructifères ( $p = 0,427$ ) et pour l'ensemble de la plante ( $p = 0,231$ ). On observe pour DP50-BGII environ

9,2 capsules ouvertes sur les branches fructifères et 11,6 pour l'ensemble de la plante contre respectivement 8,1 et 8,8 pour DP50, 7,5 et 9,8 pour FK37.

La production de coton graine par plante n'a pas été significativement différente lorsqu'on compare la variété transgénique à son isogénique conventionnel ou à la variété conventionnelle locale. Chaque branche fructifère produit en moyenne  $8,3 \pm 1,8$  g de coton graine tandis qu'on observe une moyenne de  $10 \pm 2,3$  g par plante.

Le poids moyen capsulaire est statistiquement le même entre DP50-BGII et DP50 et entre DP50 et la variété locale FK37 ( $p = 0,472$ ). Une capsule pèse en moyenne  $4,2 \pm 0,6$  g.

### I.2.3.5. RENDEMENT DE COTON GRAINE

Les résultats de l'analyse de variance du rendement à l'hectare sont représentés dans le tableau X. Le rendement est exprimé en kilogrammes par hectare (kg/ha).

**Tableau X : Rendement de coton graine à l'hectare (kg/ha)**

Variétés	rendement
DP50-BGII	1973,6 a
DP50	1448,6 b
FK37	1227,1 c
Moyenne	$1549,8 \pm 334,6$
Probabilité (p)	0,0001 (HS)

HS = hautement significatif.

Les 3 variétés, se distinguent significativement ( $p = 0,0001$ ) pour la productivité (kg/ha). La plus productive est DP50-BGII suivie de DP50. FK37 est la moins productive. Le rendement moyen est de  $1549,8 \pm 334,6$  kg/ha. DP50-GII fournit un surplus de production de 525 kg par rapport à DP50 et 746,5 kg par rapport à FK37.

## I.3. DISCUSSION

Cette étude menée à Farako-Bâ permet de comparer le fonctionnement de DP50-BGII à celui de DP50 et de mettre en évidence des différences qui pourraient être attribuées à l'influence du transgène. Elle permet aussi de comparer la variété locale aux variétés américaines en vue d'apprécier les avantages qui pourraient résulter d'une introduction du transgène dans cette variété.

La bibliographie concernant la croissance et le développement du cotonnier transgénique est relativement pauvre. La plupart des études sont surtout orientées sur l'efficacité biologique du gène et la rentabilité économique de ce type de cotonnier.

En ce qui concerne la précocité de la floraison et la durée de celle-ci, nos résultats n'ont pas révélé une différence significative entre DP50-BGII et DP50. Ceci suggère que le transgène ne modifie pas les paramètres de la floraison. Ce résultat est en accord avec celui de MALONE et PHAM-DELEGUE (2001). Si l'on compare la variété locale à DP50, l'on constate qu'il n'y a pas de différences significatives pour les paramètres de la floraison. Pourtant, les variétés américaines sont reconnues être plus précoces que les variétés africaines (SANFO, 1994).

Sur le plan architectural, DP50-BGII ne s'est pas montré significativement différent de DP50 et de FK37 pour le niveau d'insertion de la première branche fructifère, la hauteur des plantes, le nombre de branches végétatives. Ce résultat pourrait signifier que le transgène n'a pas influencé les paramètres architecturaux. Les études de HOF'S *et al.* (2006b) ont montré un résultat similaire entre le cotonnier transgénique et son isogénique non modifié à Makhatini Flats (Afrique du Sud) en ce qui concerne la taille des plantes. Par contre, dans les systèmes de culture sous irrigation à Marble Hall et à Pongola (en Afrique du Sud), les cotonniers transgéniques ont été significativement plus courts (HOF'S *et al.*, 2006a). En Inde les cotonniers transgéniques ont été plus courts que ceux locaux (QAYAM et SAKKHARI, 2003) tandis que SANFO (1994) avait indiqué que les variétés américaines étaient plus courtes que celles africaines, dans les conditions du Cameroun. La variété locale FK37 a porté significativement plus de branches fructifères que DP50-BGII et DP50. Ce résultat est en accord avec celui de SUMAN et RAHMAN (2003). HAU et GOEBEL (1986) ont indiqué que ce paramètre est un caractère variétal mais selon CADOU (1982) et CONSTABLE (1991), une production importante de branches fructifères justifie, chez le cotonnier, un besoin de compensation de la perte des premiers organes fructifères.

Pour ce qui concerne le nombre de points de fructification émis (production potentielle de capsules) et la production de capsules récoltables, les différences ne sont pas significatives entre DP50-BGII, DP50 et FK37. Par ailleurs, la production de capsules récoltables est faible par rapport à la production potentielle pour les 3 variétés (29,6 % pour DP50-BG, 23,1 % pour FK37 et 22,7 % pour DP50). Les résultats de cette étude sont conformes avec ceux de HOF'S *et al.*, (2006a et 2006b) en ce qui concerne le nombre total de points fructifères émis par la plante. Cependant, dans des conditions de culture sous irrigation ces auteurs ont dénombré plus de capsules récoltables sur les branches fructifères et sur l'ensemble de la plante des cotonniers transgéniques. En outre ils ont trouvé, comme HAU et GOEBEL (1986), que ce sont les branches fructifères les plus basses qui portent le

maximum de capsules de la plante transgénique. En Inde QAYAM et SAKKHARI (2003) ont trouvé plus de capsules sur les variétés transgéniques que sur les variétés locales tandis que SUMAN et RAHMAN (2003) ont indiqué le contraire.

Les résultats de cette étude ont montré qu'il y a moins de capsules attaquées (capsules non récoltables) sur DP50-BGII que sur DP50. Cela pourrait être une conséquence de la meilleure protection conférée par le transgène contre les insectes cibles (WIER *et al.*, 1998; PERLAK *et al.*, 2001). Il n'y a pas eu de différence entre DP50-BGII et FK37 pour ce paramètre mais une connaissance du degré d'attaques des nuisibles au cours de la saison est nécessaire pour discuter ce résultat (HUANG *et al.*, 2002 ; TRAXLER et GODOY-AVILA, 2004).

La distribution des capsules est une composante essentielle qui explique la récolte (CONSTABLE, 1991). La présente étude a évalué la distribution des capsules récoltables le long des branches fructifères qui sont le support de la production (HAU et GOEBEL, 1987). Seulement en position 1, DP50-BGII a présenté plus de capsules que DP50 et FK37. HOFES *et al.* (2006a) ont montré que les cotonniers transgéniques portaient plus de capsules en position 1 et 2 des branches fructifères que les isogéniques conventionnels. Cependant, HOFES *et al.* (2006b) n'ont pas trouvé de différence significative quelle que soit la position pour des cotonniers sous culture pluviale en Afrique du Sud.

Pour ce qui concerne la production de coton graine par plante, on a constaté que les variétés n'ont pas présenté de différences significatives. Le nombre de capsules récoltées est statistiquement le même sur les branches fructifères et pour l'ensemble de la plante. Cette tendance est logique avec la production de capsules récoltables par branche fructifère et par plante. Ce résultat n'est pas en accord avec QAYAM et SAKKHARI (2003) et SUMAN et RAHMAN (2003) qui ont comparé des variétés locales indiennes à des variétés transgéniques.

Par ailleurs, le poids moyen capsulaire (p<sub>mc</sub>) ne diffère pas significativement entre les variétés comparées. Un résultat similaire a été rapporté par HOFES *et al.* (2006a) tandis que QAYAM et SAKKHARI (2003) ont trouvé un poids moyen capsulaire plus élevé pour les variétés locales.

Cependant le rendement à l'hectare est significativement différent ( $p = 0,0001$ ) entre la variété transgénique et celles non transgéniques. DP50-BGII a permis d'obtenir une augmentation de 525 kg et de 746,5 kg/ha de coton graine, respectivement, par rapport à DP50 et à FK37. Cette augmentation pourrait être liée à la variété et à la meilleure protection des capsules (CADOU, 1982 ; TRAXLER et GODOY-AVILA, 2004). HOFES

*et al.* (2006b) n'ont pas trouvé de différence significative de rendement entre la variété transgénique et celle conventionnelle en culture pluviale en Afrique du Sud. Cependant des augmentations de rendement ont été signalées pour des champs de coton transgéniques aux USA (PERLAK *et al.*, 2001), en Chine (HUANG *et al.*, 2002), en Afrique du Sud (ISMAEL *et al.*, 2002 ; PURCELL et PERLAK, 2004 ; HOFSTETTER *et al.*, 2006a), au Mexique (TRAXLER et GODOY-AVILA, 2004). En Inde (MORSE *et al.*, 2005) ont rapporté des augmentations significatives de rendements pour le coton contrairement à SUMAN et RAHMAN (2003).

Beaucoup de différences observées entre la variété transgénique et celle conventionnelle isogénique n'ont pas été significatives. Il reste donc difficile de tirer des conclusions claires de l'influence du transgène sur le fonctionnement du cotonnier génétiquement modifié. La meilleure rétention des capsules et le rendement sont des paramètres agronomiques qui ont dû être améliorés par l'introduction du transgène. On peut retenir aussi que la variété locale FK37 n'a pas présenté de grandes différences avec les variétés américaines. Elle pourrait servir à un besoin éventuel de transformation de variétés locales pour réduire les coûts économiques à condition que les risques environnementaux du cotonnier transgénique soient maîtrisés.

## CHAPITRE II : ETUDE DU FLUX DE POLLEN

### II.1. MATERIEL ET METHODES

#### II.1.1. SITE DE L'ÉTUDE

La description du site de l'étude a été faite dans l'étude de caractérisation. L'étude du flux de pollen a été conduite sur le même site à Farako-Bâ.

#### II.1.2. MATERIEL D'ETUDE

Le matériel végétal se compose des variétés DP50-BGII et FK37 précédemment décrites dans l'étude de caractérisation.

Le matériel de laboratoire est composé, essentiellement d'une solution tampon (à préparer) et de kits de révélation des protéines Cry1Ac et Cry2Ab (QuickStix Combo). Les kits sont formés de bandes en « languette » à usage individuel et unique.

#### II.1.3. MÉTHODES

##### II.1.3.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le coton transgénique DP50-BGII (source d'allopollen) a été semé sur 20 lignes de 20 m et a été entouré par une ceinture de 15 m de coton conventionnel (FK37) non traité, sauf pour le côté nord. Une allée de 2 m sépare les parcelles (Figure 6).

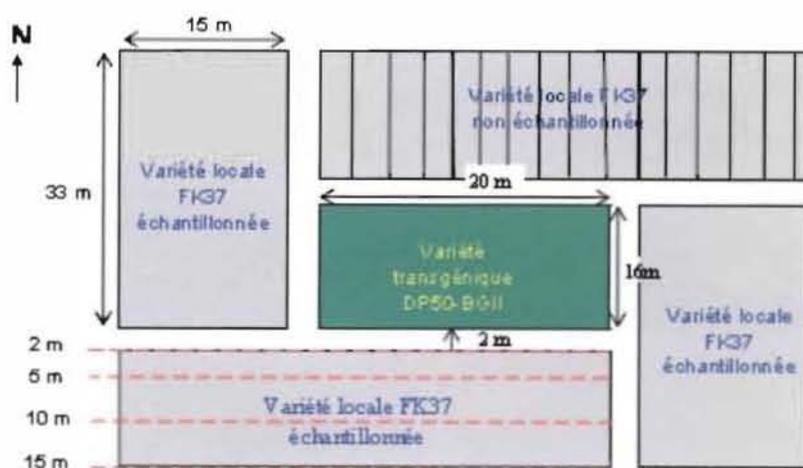


Figure 6 : Dispositif de l'essai de flux de pollen

Tout comme pour le premier essai, les semis ont été réalisés le 25 juin 2005 avec des écartements de 0,8 m x 0,4 m et les entretiens culturaux (annexe 1) ont été effectués, manuellement, à la demande. La ceinture de coton conventionnel va fournir les échantillons des tests de flux de pollen ou tests d'allogamie.

### **II.1.3.2. TEST DE FLUX DU POLLEN**

#### **II.1.3.2.1. ÉCHANTILLONNAGE**

Du coton graine a été récolté sur la variété conventionnelle (FK37) à des distances de 2 m (début la ceinture), 5 m, 10 m et 15 m de la parcelle de coton DP50-BGII. Pour une même distance, le coton a été récolté en 3 répétitions et sur 5 m par répétition. Pour chaque répétition, 3 capsules ont été récoltées sur chaque plante : une capsule basale, une capsule médiane et une capsule sommitale.

#### **II.1.3.2.2. PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR ANALYSE**

Le coton graine de chaque répétition a été égrené sur une égreneuse à rouleau et les graines ont été délignées manuellement à l'acide sulfurique. Après un séchage de 4 jours au soleil, 460 graines par répétition ont été prélevées au hasard pour les tests.

#### **II.1.3.2.3. TEST DE REVELATION DES PROTEINES DE DP50-BGII**

Le transgène introduit dans le cotonnier fournit un moyen simple et efficace pour étudier la pollution génétique (LLEWELLYN et FITT, 1996 ; ALLEN *et al.*, 2005).

16560 graines (soit 460 graines x 3 répétitions x 4 distances x 3 directions) ont été testées individuellement avec la solution tampon QuickStix pour détecter la présence des protéines Cry1Ac et Cry2Ab. Le résultat du test est qualitatif (présence ou absence). Ce genre de tests a été déjà décrit et utilisé par VINCENZA et MARINA (2001), BERKEY et SAVOY (2002) et ALLEN *et al.*, (2005). Les tests ont été effectués suivant les recommandations du fabricant (EnviroLogix Inc.).

L'efficacité du test exige que les protéines recherchées s'expriment en quantité suffisante et qu'elles soient intactes (MALONE et PHAM-DELEGUE, 2001 ; MESSEAN *et al.*, 2006). Une étude commune de ACIA et BBV (2003) indique que le niveau d'expression des protéines, aussi bien dans les graines (43,2 µg/g de poids frais pour une graine) que dans les autres parties de la plante, est suffisant pour être dosé.

Le test de révélation des protéines comporte plusieurs étapes (annexe 3) à savoir la préparation de la solution tampon, le test d'allogamie « proprement dit » et la lecture des résultats.

La préparation de la solution tampon consiste à mélanger dans 1 litre d'eau distillée de la poudre (Extraction Buffer Salts fournie par EnviroLogix Inc.) avec 2,5 ml de « Surfactant

Buffer » (solution fournie par EnviroLogix Inc.). Un test est réalisé avec une graine transgénique pour s'assurer de la qualité de cette solution.

Le test d'allogamie commence par le concassage de la graine, dans un morceau de papier, à l'aide d'une pince puis nettoyée de sa coque. La farine de l'amande est ensuite renversée dans un tube Eppendorf (portant les références de la graine et de l'échantillon) et broyée finement à l'aide de pilons appropriés. 1 millilitre de la solution tampon est versée dans le tube et l'ensemble est agité pendant 2 minutes pour extraire les protéines. Après un repos de 5 minutes une « languette » est plongée dans le tube Eppendorf contenant la préparation.

Après l'introduction de la « languette » (photo 1A) on peut constater que la préparation monte le long de celle-ci et la lecture du résultat intervient au bout de 5 à 10 minutes.

Si la préparation ne contient pas les protéines recherchées, la « languette » montre seulement le trait de contrôle (photo 1B).

Si la préparation contient les protéines Cry2Ab ou Cry1Ac, la « languette » présente deux traits. L'ordre d'apparition des traits et le guide d'interprétation des résultats (EnviroLogix Inc.) permettent de les distinguer.

Si la préparation contient à la fois les protéines Cry1Ac et Cry2Ab (photo 1C), trois traits apparaissent. Le premier trait (en bas) indique la présence de Cry1Ac, le trait médian indique Cry2Ab et le troisième trait est celui de contrôle de la bonne qualité de la « languette ».

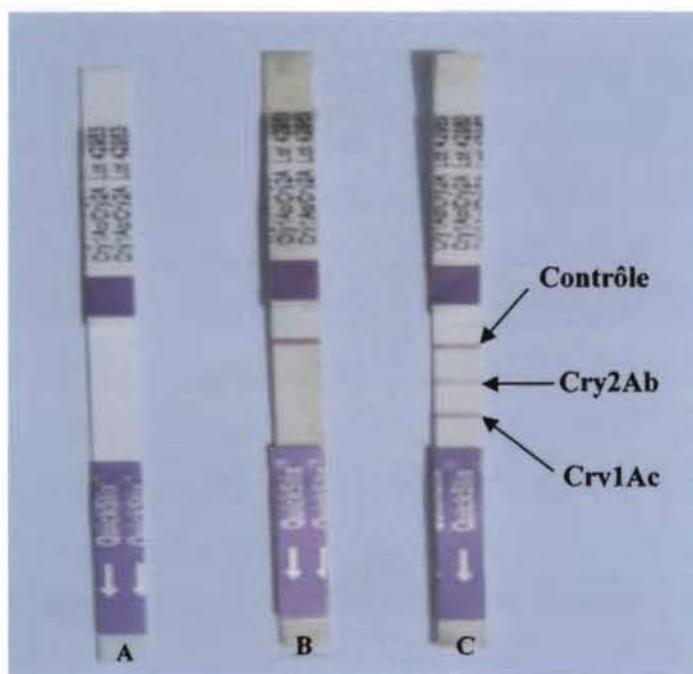


Photo 1 : Lecture des résultats : A = languette non utilisée ; B = test négatif; C = Test positif

N.B. : Les résultats avec 3 traits et 2 traits sont les tests positifs pour la présence des protéines du transgène BGII. Un test positif signifie que la graine concernée est issue d'une fécondation avec du pollen provenant de la parcelle transgénique de DP50-BGII.

La même procédure a été suivie pour chaque graine prise individuellement avec toutes les précautions nécessaires pour éviter les contaminations. Pour cela, les tests ont commencé avec les graines de la distance de 15 m et aussi un bon nettoyage du matériel, entre 2 tests, a été observé. Le taux d'allogamie a été calculé comme suit :

$$\text{Taux d'allogamie (\%)} = \frac{\text{Nombre de graines testées positives}}{\text{Nombre total de graines testées}} \times 100$$

#### II.1.4. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES

Les analyses de variance (ANOVA) ont été réalisées avec le Logiciel XLSTAT 6.1.9. Les moyennes ont été comparées par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de signification de 5 %.

Ces analyses statistiques ont été réalisés avec des variables transformées selon la formule  $X = (x + 0,5)^{1/2}$  où  $x$  = taux d'allogamie brut et  $X$  = taux transformé.

## II.2. RESULTATS

### II.2.1. EVOLUTION DU TAUX D'ALLOGAMIE EN FONCTION DE LA DISTANCE

L'analyse de variance du flux de pollen en fonction de la distance a été réalisée après une transformation ( $X = (x + 0,5)^{1/2}$ ) des valeurs brutes de taux d'allogamie (portées en annexe 3). Les résultats de cette analyse sont contenus dans le tableau XI. Les valeurs sont exprimées en pourcentages.

**Tableau XI : Flux de pollen en fonction de la distance.**

Distances	Taux d'allogamie	
	Valeurs transformées (%)	Valeurs brutes (%)
2m	2,2 a	5,48
5m	1,3 b	1,84
10m	0,8 c	0,82
15m	0,6c	0,42
Moyenne	1,2 ± 0,8	-
Probabilité (p)	0,0001 (HS)	-

HS = hautement significatif. Les tirets (-) se justifient par le fait que les valeurs brutes n'ont pas subi l'analyse de variance.

Le taux d'allogamie ou flux de pollen varie de façon significative en fonction de la distance à la source d'allopollen (tableau XI). Si l'on considère les valeurs réelles, le taux

le plus élevé est de 5,48 % à 2 m et le plus faible à 15 m (0,42 %). C'est à partir de 10 m de la source d'allopollen que le taux d'allogamie est inférieur à 1 %.

La variation du taux d'allogamie en fonction de la distance a été illustrée par une courbe de dispersion (figure 7) tracée en utilisant les valeurs brutes.

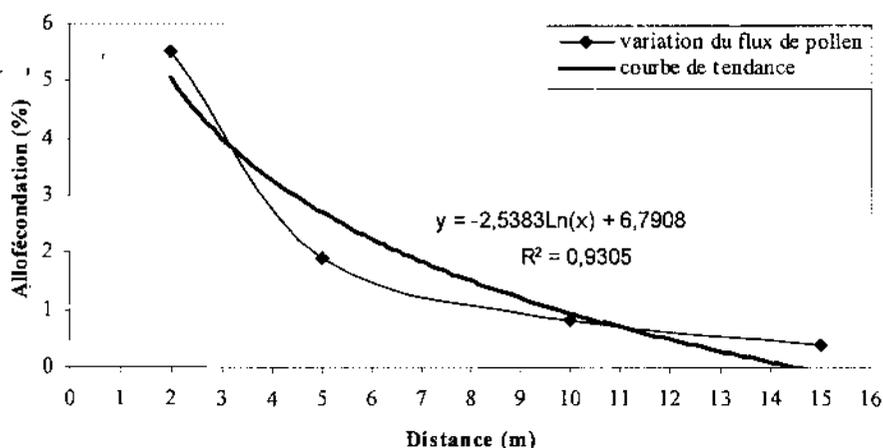


Figure 7 : variation du flux de pollen en fonction de la distance à la source d'allopollen

La courbe de dispersion, tout comme le tableau XI, permet de constater la décroissance du flux de pollen en fonction de la distance à la source d'allopollen. Elle représente un meilleur ajustement visuel entre le flux d'allopollen et la source d'émission.

## II.2.2. EVOLUTION DU FLUX SELON LA DIRECTION (ORIENTATION) ET LA DISTANCE

Les données brutes ont été transformées avant l'analyse de variance. Le tableau XII présente, respectivement, le flux de pollen pour une même distance suivant les différentes directions (orientations géographiques).

Tableau XII : Variations du flux de pollen selon la distance à la source et la direction (orientation géographique)

Directions	Distances			
	2m	5m	10m	15m
Est	1,6 b	0,7	0,7	0,6
Sud	2,6 a	1,6	0,8	0,6
Ouest	2,8 a	1,4	0,9	0,5
Moyenne	2,3 ± 0,6	1,2 ± 0,6	0,8 ± 0,5	0,6 ± 0,3
Probabilité (p)	0,01 (S)	0,104 (NS)	0,839 (NS)	0,790 (NS)

S = significatif ; NS = non significatif.

Le taux d'allogamie diffère significativement, selon l'orientation géographique, à 2 m seulement ( $p = 0,010$ ). A cette distance il est plus faible à l'Est.

Sur les autres distances (5 m, 10 m et 15 m) la direction n'influence pas significativement le flux de pollen.

### II.3. DISCUSSION

Dans notre étude le flux de pollen ou taux d'allogamie décroît de 5,5 % à 2 m à 1,82 % à 5 m et reste en dessous de 1 % à partir de 10 m. A 15 m, le taux de flux de pollen a baissé à 0,42 %.

Une différence hautement significative ( $p = 0,0001$ ) a été enregistrée pour le facteur « distance » traduisant un taux d'allogamie beaucoup plus élevé au voisinage de la source de pollen (2 m et 5 m) par rapport aux distances les plus éloignées (10 m et 15 m).

En ce qui concerne la régression du flux de pollen selon l'éloignement de la source du pollen, les résultats de cette étude concordent avec ceux des études antérieures. Sur le site de Farako-Bâ en 2004, le flux de pollen a varié de 8,3 % à 2 m, 4,2 % à 5 m, 5 % à 10 m pour être nul à 15 m (Programme coton, 2005). En Australie, LLEWELLYN et FITT (1996) ont mesuré 0,4 % d'allogamie à 1 m puis 0,03 % à 16 m. Au Mississippi (USA), BERKEY et SAVOY (2002) ont trouvé un taux de 1,89 % à un 1 m, 0,13 % à 16 m pour devenir presque indétectable à 24 m. En Californie (USA), ALLEN *et al.* (2005) ont obtenu 7,65 % à 0,3 m, 0,67 % à 9 m et 0,32 % à 30 m (en présence de ruches dans le champ).

L'on remarque de grandes variations entre les valeurs d'un pays à un autre et à l'intérieur d'un même pays. Ces variations pourraient s'expliquer par des niveaux de présence différents pour les pollinisateurs naturels, aussi bien en nombre qu'en diversité d'une localité à une autre (KARIEVA *et al.*, 1994).

Les valeurs de flux de pollen dans cette étude sont mieux comparables à celles de ALLEN *et al.* (2005) seulement que dans leurs études il y avait des ruches dans les champs. KARIEVA *et al.* (1994) ont aussi mesuré un taux d'allogamie inférieur à 1 % à partir de 10 m dans beaucoup de pays dont l'Afrique du Sud, le Mexique.

Comparativement aux valeurs présentées par les études de LLEWELLYN et FITT (1996) et BERKEY et SAVOY (2002), les taux d'allogamie de cette étude sont relativement élevés. Ce qui pourrait s'expliquer par l'omission de tout traitement insecticide dans les parcelles échantillonnées contrairement aux autres études. Comme l'ont indiqué VINCENZA et MARINA (2001) et HAMILTON *et al.* (2002), les champs traités aux

insecticides chimiques hébergent moins d'insectes que ceux non traités. Une abondance de pollinisateurs dans notre essai a été rapportée par les piégeages d'insectes (SOME, 2006). En outre de grandes superficies de la source de pollen peuvent entraîner des taux d'allogamie plus élevés (WANG *et al.*, 1997 ; JEMMISON et VAYDA, 2001 ; JAROSZ, 2003).

Les valeurs des résultats enregistrés sur le même site en 2004 ont été plus élevées que celles 2005. En 2004, l'étude a porté sur des échantillons beaucoup plus petits mais aussi les conditions environnementales ont pu être différentes de celles de 2005. D'autre part, en 2004 le flux de pollen a été nul à 15 m alors qu'il est de 0,42 % à cette distance dans la présente étude. Les valeurs de flux de pollen, bien que sporadiques et très faibles à partir d'un certain écartement de la source de pollen, se maintiennent et il n'y a pas de discontinuité en la matière (CHEVRE *et al.*, 1997, CHARRIER et SANOU, 1997 ; JAROSZ, 2003 ; WATRUD *et al.*, 2004 ; ALLEN *et al.*, 2005).

L'influence de la direction (orientation géographique) sur le flux de pollen est significative seulement à 2 m de la source d'allopollen ( $p = 0,010$ ). L'on peut suggérer que la direction a influencé le flux de pollen par l'intermédiaire du vent (JAROSZ, 2003 ; WATRUD *et al.*, 2004). Cela pourrait justifier les valeurs de flux de pollen plus élevées à 2 m. A cette distance interviennent, probablement à la fois, l'effet du vent (direction) et des insectes pollinisateurs. Mais de façon générale les directions n'ont pas influencé le flux de pollen dans les conditions d'expérimentations de cette étude. De façon générale, le vent qui influence l'effet de la direction n'a joué ni de rôle direct ni de rôle indirect sur le flux de pollen. Cependant, les données relatives à la direction du vent et à sa vitesse ont été disponibles seulement en fin de campagne et n'ont pas été prises en compte pour vérifier ces hypothèses. Les études de ALLEN *et al.* (2005) en Californie ont rapporté que le flux de pollen chez le cotonnier est indépendant de la direction. D'autre part, MCGREGOR (1976), WANG *et al.* (1997), VINCENZA et MARINA (2001) ont trouvé que chez les plantes autogames comme le millet, le cotonnier et la tomate, la part de pollinisation anémophile est négligeable. Chez ces plantes, l'autopollinisation est primordiale et l'autocompatibilité entraîne la compétition pollinique à l'avantage de l'autopollen (ROBERT *et al.*, 1991).

Par contre, chez les cultures à pollinisation ouverte comme le maïs, le sorgho, le colza et le gazon des pelouses transgéniques, le vent et sa direction constituent des facteurs importants du flux de pollen (VINSON et VAISSIERE, 1994 ; CHEVRE *et al.*, 1997 ; JAROSZ, 2003 ; WATRUD *et al.*, 2004).

Le flux de gènes est une préoccupation première dans l'évaluation des cultures transgéniques pour une éventuelle adoption à cause des inconvénients qui lui sont associés. Cette étude montre que le flux du transgène, via le pollen, pourrait se produire si le cotonnier transgénique est cultivé. On peut penser à la définition et l'adoption d'une distance minimale d'isolement pour réduire les contaminations de champ à champ qui pourraient subvenir. Une connaissance des taux d'allogamie du cotonnier sur de plus grandes parcelles et de plus longues distances, en présence et en absence de traitements insecticides, semble avoir toute son importance.

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le cotonnier transgénique est une variété nouvelle de par l'introduction du transgène. Des études sont nécessaires pour bien comprendre le fonctionnement de la plante. En outre le transfert du transgène dans l'environnement est une préoccupation pour des raisons de biosécurité.

La première partie de cette étude a comparé les paramètres de la floraison, les paramètres architecturaux et de production d'une variété transgénique (DP50-BGII) avec son isogénique conventionnel (DP50) et à une variété locale conventionnelle (FK37). L'étude montre qu'il n'y a pas eu de différence significative entre DP50-BGII, DP50 et FK37 ni pour la précocité ni pour la durée de floraison. Les trois variétés sont aussi identiques sur le plan architectural ainsi que pour la production potentielle et réelle des capsules.

Cependant DP50-BGII a présenté une meilleure protection de ses capsules contre les ravageurs et une présence plus importante des capsules sur les premiers points de fructification des branches fructifères. L'étude des paramètres de productions a permis de déceler un surplus de production de 525 kg coton graine avec DP50-BGII par rapport à DP50. Mais les rendements seraient encore plus élevés avec une meilleure valorisation de la production potentielle de capsules.

Quant au flux du transgène à travers le pollen, la deuxième partie de l'étude montre qu'il est inférieur à 1 % à partir de 10 m de la source de pollen dans les conditions de l'expérimentation. De façon générale, le flux de pollen n'a pas été influencé par l'orientation géographique. Cependant, il devrait être considéré en cas d'adoption du coton transgénique. Une adoption du coton transgénique va conduire à une cohabitation avec des variétés conventionnelles et des pollutions génétiques pourraient se produire. Il apparaît nécessaire que des précautions soient prises à travers des pratiques agricoles adéquates pour permettre la coexistence des cultures.

Les résultats obtenus pourraient servir de référence à des études ultérieures sur la caractérisation et le flux de pollen.

En plus des paramètres déjà explorés, les prochaines études devraient prendre en compte l'effet du gène sur le rendement égrenage, les caractéristiques technologiques de la fibre et biochimiques de la graine. Et si le transgène permet d'obtenir un surplus de rendement, il est possible d'envisager son introduction dans les variétés locales à condition que les

risques environnementaux et économiques soient maîtrisés. Ces variétés pourraient mieux répondre aux objectifs d'une étude de caractérisation.

L'effort doit être maintenu pour mieux maîtriser le flux de pollen sur de plus grandes parcelles et de plus grandes distances, dans des conditions de traitement et de non traitement insecticide ; ceci permettra de proposer des distances minimales d'isolement si les variétés transgéniques et conventionnelles doivent cohabiter. Enfin, les espèces apparentées du cotonnier des zones cotonnières (au moins) pourraient être inventoriées et évaluées quant à leur possibilité de croisement avec le cotonnier transgénique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ACIA et BBV, 2003.** –Détermination de l'innocuité du cotonnier Bollgard II<sup>md</sup> (*Gossypium hirsutum* L.) résistant aux insectes de Monsanto. Document de décision DD2003-45 12 p. <http://www.inspection.gc.ca/francais/plaveg/bio/ddf.shtml> consulté le 7/08/2005.
- ANDOW D. A. and ZWAHLEN C., 2006.** –Assessing environmental risks of transgenic plants. *Ecology Letters* 9, 196-214.
- ANGEVIN F., COLBACH N., MEYNARD J.-M., ROTURIER C., SWEET J., PHILP A., MENRAD K., MENRAD M., WORNER S., KILPATRICK J., BONFINI L. and VANDEN EEDE G., 2002.** –Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. Synthesis report, Joint Research Center. European Commission, Seville Mai 2002. 145 p. [http://www.jrc.cec.eu.int/download/GMCrops\\_coexistence.pdf](http://www.jrc.cec.eu.int/download/GMCrops_coexistence.pdf) consulté le 27/02/2006.
- ALLEN V. D., SUNDSTROM F. J. and BRADFORD K. J., 2005.** –Pollen Mediated Gene Flow in California Cotton Depends on Pollinator Activity. *Crop Sci.* 45: 1565-1570 pp.
- AFZAL M., and KAHN H., 1950.** –Natural crossing in cotton in Western Punjab. I. Natural crossing in contiguous plants and rows. *Agron. J.* 42: 14-19.
- BERKEY D. A. and SAVOY V. R., 2002.** –Pollen dissemination from adjacent fields of genetically enhanced cotton in the Mississippi Delta. Beltwide Cotton Conference, Atlanta, GA, 8-12 Jan. 2002. 5 p.
- BHATTACHARYA S., 2003.** –Modified crops' have big benefits for Third World. *NewScientist* n°2382 p 10. <http://www.newscientist.com> consulté le 10-03-2006.
- BOURLAND F. M., OOSTYERHUIS D. M. and TUGWELL N. P., 1992.** –Concept of monitoring the growth and development of cotton plants using main-stem node counts. *J. Prod. Agri.*, 5, 532-538.
- BURKHARDT J., 2002.** –Biotechnology's future benefits : prediction or promise ?. *AgBioForum*, 5 (1), 20-24. Available on the World Wide Web: <http://www.agbioforum.org>.
- CADOU J., 1982.** –Niveau de protection phytosanitaire et rendement en culture cotonnière pluviale au Mali. *Cot. Fib. trop.*, 37, 4, 317-325.
- CASSE F. et BREITLER J.-C., 2001.** –OGM : Description- Méthodes d'obtention- Domaines d'application. Ed. France Agricole (France), 166 p.
- CHAPELA I. H. and QUIST D., 2001.** –Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 29, 541-543.
- CHARRIER A. et SANOU J., 1997.** –Incidence écologique de la diffusion des plantes transgéniques. *In* : Biotechnologies, Amélioration des plantes et Sécurité Alimentaire. Actes des 6<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques du Réseau AUPELF. UREF « Biotechnologies Végétales : Génie Génétique des plantes » Université de Paris Sud XI, Centre Universitaire d'Orsay (France) du 30 juin au 3 juillet 1997. 249-252 pp.

- CHEVRE A. M., EBER F., VALLEE P., PIERRE J. et RENARD M., 1997.** –Impact de la transformation écologique du colza. *In* : Biotechnologies, Amélioration des plantes et Sécurité Alimentaire. Actes des 6<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques du Réseau AUPELF. UREF « Biotechnologies Végétales : Génie Génétique des plantes » Université de Paris Sud XI, Centre Universitaire d'Orsay (France) du 30 juin au 3 juillet 1997.189-197 pp.
- CONSTABLE G. A., 1991.** –Mapping of the production and survival of fruit on field grown cotton. *Agron. J.* 83, 374-378.
- GRAIN, 2004:** Le coton Bt à la porte de l'Afrique de l'Ouest. Il faut agir !. *Grain Briefing* juin 2004, Afrique et Moyen Orient. 26 p. [www.grain.org](http://www.grain.org)
- GUINKO S., 1984.** Végétation de la Haute- Volta. Thèse de Doctorat d'état, Université de Bordeaux III (France), Tome I, 318 p
- HAMILTON, K. A., GOODMAN R. E. and FUCHS R. L., 2002.** –Safety assessment of insect-protected cotton. In Thomas, J. A. and R. L. Fuchs (eds). *Biotechnology and Safety Assessment. Academic Press, London, UK.*
- HAU B. et GOEBEL, S., 1986.** –Etude des caractéristiques morphologiques du cotonnier en fonction de la productivité. I. Evolution de l'architecture de neuf variétés à trois écartements. *Cot. Fib. trop.*, 41, 3, 165-176.
- HAU B. et GOEBEL S., 1987.** –Modification du comportement du cotonnier en fonction de l'environnement. II. Evolution des paramètres de productivité de neuf variétés semées à trois écartements. *Cot. Fib. trop.*, 42, 2, 117-122.
- HEMA S. A. O., 2004.** –Contribution à la caractérisation biochimique de la résistance de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera, Noctuidae) au Burkina Faso. Mémoire de D.E.A., Ecole Doctorale Régionale de Biotechnologie, Université de Ouagadougou (Burkina Faso). 37 p.
- HOFS J. L., HAU B. and MARAIS D., 2006 a.** –Boll distribution patterns in Bt and non-Bt cotton cultivars. I. Study on commercial irrigated farming systems in South Africa. *Field Crops Research* 98, 203-209.
- HOFS J. L., HAU B., MARAIS D. and FOK M., 2006 b.** –Boll distribution patterns in Bt and non-Bt cotton cultivars. II. Study on small-scale farming systems in South Africa. *Field Crops Research* 98, 210-215.
- HOUEBINE L.-M., 2006.** –Plantes génétiquement modifiées (PGM) et pays en développement. *Cahiers Agricultures*, vol. 15, n° 2, Mars-Avril 2006, 227-231.
- HUANG J., HU R., FAN C., PRAY C. E. and ROZELLE S., 2002.** –Bt cotton benefits, costs and impacts in China. *AgBioForum*, 5 (4), 153-166. Available on the World Wide Web: <http://www.agbioforum.org>.
- IFOAM, 2003.** –“Co-existence between GM and non-GM crops: Necessary anti-contamination and liability measures”. Position Paper approved by the IFOAM EU Group, October 2003. [http://www.ifoam.org/pospap/ge\\_position\\_0205.html](http://www.ifoam.org/pospap/ge_position_0205.html) consulté le 10
- IN.R.A., 1989.** –Rapport d'activité 1988-1989. 67 p.

**ISMAEL Y., BENNETT R. and MORSE S., 2002.** –Benefits from Bt cotton use by smallholder farmers in South Africa. *AgBioForum*, 5 (1), 1-5. Available on the World Wide Web: <http://www.agbioforum.org>.

**JAMES C., 2002.** –Global Review of Commercialized Transgenic Crops : 2001 Feature: Bt cotton. *ISAAA Briefs* No. 26. ISAAA: Ithaca, NY. 40 p.

**JAROSZ N., 2003.** –Etude de la dispersion atmosphérique du pollen de maïs : contribution à la maîtrise des risques de pollinisation croisée. Thèse de doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole doctorale ABIES (France). 125 p.

**JEMISON J. M. and VAYDA M. E., 2001.** –Cross pollination from genetically engineered corn : wind transport and seed source. *AgBioForum*, 4 (2), 87-92. Available on the World Wide Web: <http://www.agbioforum.org>.

**JOURNAL OFFICIEL de L'U.E., 2003.** –Reglement (CE) N° 1830/2003 du Parlement Européen et du Conseil du 23/09/2003 concernant la traçabilité et l'étiquetage des organismes génétiquement modifiés et la traçabilité des produits destinés à l'alimentation humaine et animale produits à partir des organismes génétiquement modifiés et modifiant la directive 2001/18/CE. J O L 268 du 18 Octobre 2003 ; pages 24 – 28. [http://europa.ue.int/food/food/biotechnology/index\\_fr.html](http://europa.ue.int/food/food/biotechnology/index_fr.html) consulté le 5/09/2005

**KARIEVA P., MORRIS W and JACOBI C. M., 1994.** –Studing and managing the risk of cross-fertilisation between transgenic crops and wild relatives. *Mol. Ecol.* 3, 15-21.

**LAGIERE R., 1966.** –Le cotonnier. Techniques agricoles et productions tropicales. Editions. G.-P. Maisonneuve et Larose, 306 p.

**LAINÉ E., HAICOUR R. et MENIEUX J. J., 1997.** –Les risques liés à la commercialisation des plantes transgéniques. *In*: Biotechnologies, Amélioration des plantes et Sécurité Alimentaire. Actes des 6<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques du Réseau AUFELF. UREF « Biotechnologies Végétales : Génie Génétique des plantes » Université de Paris Sud XI, Centre Universitaire d'Orsay France) du 30 juin au 3 juillet 1997. 189-197 pp

**LLEWELLYN D. and FITT G., 1996.** –Pollen dispersal from two fields trials of transgenic cotton in the Namoi Valley, Australia. *In*: Molecular Breeding: new strategies in plant improvement. International Soc.for plant molecular biology, Dordrecht; Boston: Kluwer Academic Publishers. 157-166 pp.

**MALONE A. L. and PHAM-DELEGUE M.- H., 2001.** –Effects of transgene products on honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus* sp.). *Apidologie* 32, 1-18.

**MESSEAN A., ANGEVIN F., GOMEZ-BARBERO M., MENRAD K. and RODRIGUEZ-CEREZO E., 2006.** –New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture. EU commission Joint Research Centre. Technical Report Series, EUR22102EN. 116p. [http://www.jrc.cec.eu.int/download/GMCrops\\_coexistence.pdf](http://www.jrc.cec.eu.int/download/GMCrops_coexistence.pdf) consulté le 15/08/2005.

**McGREGOR S. E., 1976.** –Insect pollinisation of cultivated crops plants. In USA-ARS Handbook No.496.

**MIKKELSEN T. R., ANDERSON B. and JORGENSEN R. B., 1996.** –The risk of transgen spread. *Nature* 31, p 380.

**MORSE S., BENNETT R. M. and ISMAEL Y., 2005.** –Genetically modified insect resistance in cotton: some farm level economic impacts in India. *Crops Protection* 24, 433-440.

**MUNRO J. M., 1987.** –Cotton 2<sup>nd</sup> ed. Tropical agriculture series. ISBN 0-582-46346-7, 436 p.

**PARRY G., 1982.** –Le cotonnier et ses produits. Techniques agricoles et productions tropicales. Maisonneuve et Larose, Paris, France, 502 p.

**PERCIVAL A. E., WENDEL J. F. and STEWART J. M., 1999.** –Taxonomy and germplasm resources. In Smith, W. C.(ed.). Cotton: Origin, History, Technology and Production. John Wiley and Sons, Inc. 33-63 pp.

**PERLAK F., OPPENHUIZEN M., GUSTAFSON K., VOTH R., SIVASUPRAMANIAN S. and HEERING D., 2001.** –Development and commercial use of Bollgard<sup>R</sup> cotton in USA –early promises versus today's reality. *Plant Journal*, 27, 489-502.

**PESEL F., LECOMTE J., LAVIGNE C., LAREDO C., MESSEAN A. et GOUYON P.H., 1997.** –Estimation des risques associés aux cultures transgéniques : outils et contraintes. In : Biotechnologies, Amélioration des plantes et Sécurité Alimentaire. Actes des 6<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques du Réseau AUPELF. UREF « Biotechnologies Végétales : Génie Génétique des plantes » Université de Paris Sud XI, Centre Universitaire d'Orsay (France) du 30 juin au 3 juillet 1997.189-197 pp.

**PROGRAMME COTON, 2005.** –Rapport annuel campagne 2004 – 2005 ; 58 p.

**PURCELL J. P. and PERLAK F. J., 2004.** –Global impacts of insect-resistant (Bt) cotton. *AgBioForum*, 7 (1 and 2), 27-30. Available on the World Wide Web: <http://www.agbioforum.org>.

**QAYAM A. and SAKKHARI K., 2003.** –The Bt gene fails in India. *GRAIN Seedling*. Juillet 2003. [www.grain.org/seedling/seed-03-07-3-en-cfm](http://www.grain.org/seedling/seed-03-07-3-en-cfm) consulté le 10/01/2006.

**RENNO J. F., WINKEL T., BONNEFOUS F. et BEZANCON G., 1997.** –Flux de gènes entre formes domestiquée et sauvage du mil, *Pennisetum glaucum* (L.) R. BR., en conditions expérimentales au Sahel. In : Actes du Colloque « Gestion des Ressources Génétiques des Plantes en Afrique des Savanes », BAMAKO (Mali) 24-28 Fev. 1997, 203-209 pp.

**ROBERT T., LESPINASSE R., PERNES J. and SARR A., 1991.** –Gametophytic competition as influencing gene flow between wild and cultivated forms of pearl millet (*pennisetum typhoides*). *Genome* 34: 195-200.

**ROUX J.-B., 1979.** –Etude de composites de cotonnier. *Cot. Fib. Trop.*, 34, 339-348

**SANFO D., 1994.** –Etude comparative du comportement de deux cultivars de cotonnier : contribution à la validation du modèle GOSSYM dans les conditions de culture tropicales africaines. Mémoire d'Ingénieur d'Agronomie Tropicale, ESAT (France). 56 p.

**SANFO D., 2003.** –Influence des dates de semis sur la précocité de la floraison du cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) à la station de Farako Bâ. Mémoire de DEA, Université de Ouagadougou (Burkina Faso) 40 p.

**SANFO D. et CLOUVEL P., 1999.** –Stratégies variétales de mise de mise en place de la production du cotonnier en condition de culture limitée par les températures. Actes des journées coton du CIRAD, Montpellier (France) 19-23 Juillet 1999. 157-172 pp.

**SEKLOKA E., SINHA M., HOUGNI A., DJABOUTOU M. et LANCON J., 1999.** – Application du « plant mapping » à la caractérisation d'essais variétaux multilocaux. Actes des journées coton du CIRAD, Montpellier (France) 19-23 Juillet 1999. 183-195 pp.

**SOME, 2006.** Communication personnelle. INERA/CRREA OUEST/Programme Coton

**SQUIRE G. R., AUGUSTIN N., BOWN J., CRAWF J. W., DUNOP G., GRAHAM J., HILMAN J. R., MARSHALL B., MARSHALL D. RAMSAY G., ROBINSON D. J., 1999.** –Gene flow in the environment-genetic pollution ?.BCPC Symposium Proceedings No. 72, 45-54. British Crop Protection Council Farnham, Surrey.

**SUMAN S., 2004.** –Can GM and non-GM crops be segregated in India-is coexistence possible ?. Gene Campaign, India, 2004. <http://www.genecampaign.org/btcotton.html> consulté le 10/03/2006.

**SUMAN S. and RAHMAN S., 2003.** –Performance of Bt cotton in India: Data from the first commercial crop. Gene Campaign, India, Aug 2003. <http://www.mindfully.org/GE/2003/Bt-Cotton-India8aug03.htm> consulté le 10/01/2006.

**TRAXLER G. and GODOY-AVILA S., 2004.** –Transgenic cotton in Mexico. *AgBioForum*, 7 (1 and 2), 57-62. Available on the World Wide Web: <http://www.agbioforum.org>.

**VINCENZA I. and MARINA B., 2001.** –Assessment of functional transgene flow in tomato fields. *Molecular Breeding*, vol. 8, num.4, 311-315.

**VINSON S. B. and VAISSIERE B. E., 1994.** –Pollen morphology and its effect on pollen collection by honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) with special referenceto upland cotton, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae). *Grana* 33: 128-138.

**VOGNAN G., OUEDRAOGO M. et OUEDRAOGO S., 2002.** –Description de la filière cotonnière au Burkina Faso. Rapport intermédiaire, IN.E.R.A., 34 p.

**WANG T. Y., CHEN H. B., REBOUD X. and DARMENCY H., 1997.** –Pollen-mediated gene flow in an autogamous crop : Foxtail millet (*Setaria italica*). *Plant Breeding* 116, 579-583.

**WATRUD L. S., HENRYLEE E., ANNE F. B., CONNIE B., JAY R. R., MIKE B., MAJORIE S., GEORGE K. and PETER K. Y. W., 2004.** –Evidence for LandsCape-Level pollen-mediated gene flow from genetically modified Creeping bent grass with CP4EPSPS as a marker. PNAS, vol. 101, n°40, 14533-14538 pp. <http://www.pnas.org/articles> consulté le 15/08/2005.

**WIER A. T., MULTINS J. W. and MILLS J. M., 1998.** –Bollgard cotton-update and economic comparisons including news varieties. In: Dugger, C.P., Richter, D.A. (EDS.), Proc. Belt. Cot. Prod. Conf., San Diego, CA, 5 – 9 January. National Cotton Council, Memphis, TN, pp. 1039 – 1040.

**YARA A., 1999.** –Prévention et gestion de la résistance de *Helicoverpa armigera* (Hübner) aux pyréthrinoïdes. Mémoire d'ingénieur, Institut du Développement Rural/ Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), 52 p.

**ANNEXES**



### Annexe 3 : Procédure du test de révélation des protéines Cry1Ac et Cry2Ab

**1<sup>er</sup> étape** : Concassage de la graine



**2<sup>e</sup> étape** : Nettoyage



**3<sup>e</sup> étape** : Broyage de la farine de l'amande



**4<sup>e</sup> étape** : Dilution de la farine de l'amande avec la solution tampon QuickStix



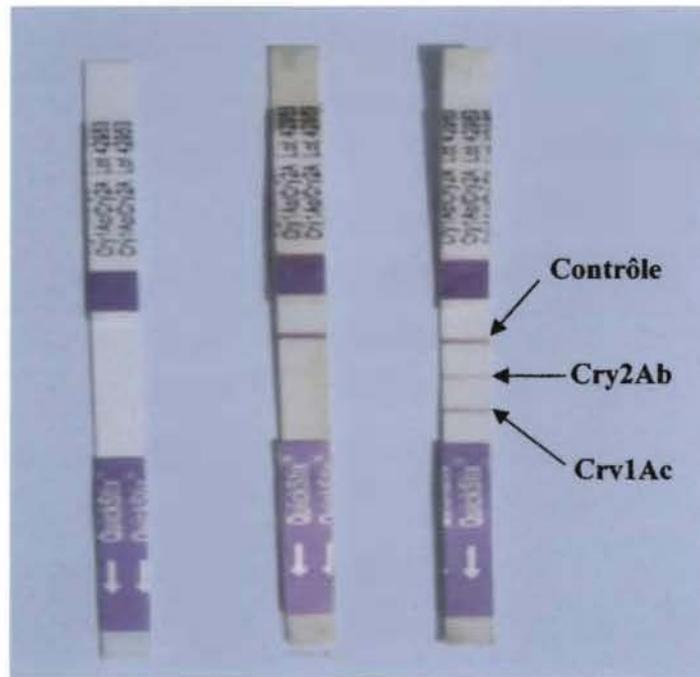
**5<sup>e</sup> étape** : Agitation de la préparation pour extraire les protéines



**6<sup>e</sup> étape** : Introduction de la languette dans la préparation



**7<sup>e</sup> étape** : Lecture des résultats



**8<sup>e</sup> étape** : Enregistrement des résultats



## Annexe 4 : Résumé des ANOVA de l'étude de caractérisation

Tableau I : Etapes de la floraison et de la durée de la floraison

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
<b>1<sup>ère</sup> fleur</b>	2	7,2	3,6	0,6	0,558	2,3	3,60
résidus	9	51,7	5,7				
total	11	58,9					
<b>Arrêt floraison</b>	2	91,2	45,6	9	0,296	5,9	6
résidus	9	293,5	32,6				
total	11	384,7					
<b>durée floraison</b>	2	50,7	25,3	0,5	0,638	6,9	20,4
résidus	9	482,2	53,6				
total	11	532,9					

Tableau II : Paramètres architecturaux.

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
<b>hauteur</b>	2	664,3	332,1	1,9	0,202	14,2	10,70
résidus	9	1556,6	172,9				
total	11	2220,9					
<b>1<sup>ère</sup> BF</b>	2	0,1	0,1	0,1	0,887	0,7	12,20
résidus	9	5,2	0,6				
total	11	5,3					
<b>Nbre BV</b>	2	0,4	0,2	2,9	0,103	0,3	10,50
résidus	9	0,6	0,1				
total	11	1					
<b>Nbre BF</b>	2	79,3	39,6	5,7	0,005	2,8	17,2
résidus	57	393,5	6,9				
total	59	472,8					

1<sup>ère</sup> BF = première branche fructifère ; Nbre BV = nombre de branche végétative ; Nbre BF = nombre de branches fructifères.

Tableau III: Paramètres de production

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
<b>PFE des BF</b>	2	64	32	0,3	0,717	9	24,0
résidus	9	836	92,9				
total	11	900					
<b>Cap BF</b>	2	9,3	4,7	2,2	0,167	1,6	17,90
résidus	9	19,2	2,1				
total	11	28,5					
<b>Cap/plante</b>	2	27,3	13,6	3,9	0,062	2,3	20,60
résidus	9	31,8	3,5				
total	11	59,1					

PFE des BF = points fructifères émis des branches fructifères ; Cap BF = capsules récoltables de branches fructifères ; Cap/plante = capsules récoltables par plante

Tableau IV : Organes tombés et des capsules non récoltables

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
<b>Capsules.tombés</b>	2	83,7	41,8	0,4	0,652	9,1	32,0
résidus	9	839	93,2				
total	11	922,7					
<b>Capsules.détruites</b>	2	2,3	1,1	4,7	0,04	0,6	76,5
résidus	9	2,2	0,2				
total	11	4,5					

Tableau V : Distribution des capsules sur branches fructifères

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
<b>Cap P1</b>	2	3,4	1,7	4,9	0,037	0,8	15,3
résidus	9	3,1	0,3				
total	11	6,5					
<b>Cap P2</b>	2	1	0,5	1,1	0,385	0,7	23,6
résidus	9	4,3	0,5				
total	11	5,3					
<b>Cap P3</b>	2	0	0	0	0,962	0,5	51,1
résidus	9	2,5	0,3				
total	11	2,5					
<b>Cap P4</b>	2	0	0	2,4	0,144	0,1	95,3
résidus	9	0,1	0				
total	11	0,1					
<b>Cap P5</b>	2	0	0	1	0,405	0	346,4
résidus	9	0	0				
total	11	0					

Cap P1, Cap P2, Cap P3, Cap P4, Cap P5 = capsules récoltables produites en position 1, 2, 3, 4, et 5 des branches fructifères.

Tableau VI : Nombre de capsules ouvertes et de la production de coton graine

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
<b>Réc. BF</b>	2	6,3	3,2	0,9	0,427	1,8	22
résidus	9	30,3	3,4				
Total	11	36,6					
<b>Réc.tot plte</b>	2	16,6	8,3	1,7	0,231	2,3	23,3
résidus	9	43,2	4,8				
Total	11	59,8					
<b>Cg BF</b>	2	168	84	1,5	0,275	7,8	18,6
résidus	9	506	56,2				
Total	11	674					
<b>Cg plte</b>	2	173,2	86,6	1	0,392	9,1	18,2
résidus	9	749,6	83,3				
Total	11	922,8					
<b>pmc</b>	2	0,6	0,3	0,8	0,472	0,6	14,3
résidus	9	3,4	0,4				
total	11	4					

Réc. BF = capsules ouvertes sur les branches fructifères ; Réc. plte = capsules ouvertes sur toute la plante ; Cg BF et Cg plte = coton graine des branches fructifères et de toute la plante ; pmc = poids moyen capsulaire.

Tableau VII : Rendement en coton graine

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
Rendement	2	1175727,6	587863,8	94,3	0,0001	334,6	21,6
résidus	9	56071,7	3,46230,2				
Total	11	1231799,4					

## Annexe 5 : d'allogamie bruts et résumé des ANOVA

Tableau I : Taux d'allogamie (non transformés et en %)

Distances				
Directions	2 m	5 m	10 m	15 m
Est	7,68*	2,46	0,94	0,22
Sud	2,75	0,51	0,87	0,58
Ouest	6,01	2,54	0,65	0,46
Moyenne	5,48	1,84	0,82	0,42

Tableau II : Effet de la direction sur le taux d'allogamie

Directions	flux de pollen
Sud	1,5
Ouest	1,2
Est	1
Moyenne	1,2 ± 0,8
Probabilité (p)	0,403 (NS)

Tableau III : Taux d'allogamie en fonction de la distance

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
distance	3	13,6	4,5	15,5	0,0001	0,8	65,50
résidus	31	9	0,3				
total	34	22,6	0,6				
2m	2	2,3	1,1	10,4	0,011	0,6	25,70
résidus	6	0,6	0,1				
total	8	2,9					
5m	2	1,4	0,7	3,4	0,104	0,6	45,80
résidus	6	1,2	0,2				
total	8	2,6					
10m	2	0,1	0	0,181	0,839	0,5	59,30
résidus	6	1,7	0,3				
total	8	1,8					
15m	2	0	0	0,2	0,79	0,3	51,50
résidus	6	0,7	0,1				
total	8	0,7					

Tableau IV : Taux d'allogamie en fonction de la distance

	DDL	SC	CM	F de Fisher	Pr > F	Ecart type	CV (%)
direction	2	1,2	0,7	0,9	0,403	0,8	66
résidus	32	21,3					
total	34	22,6					
Est	3	2,2	0,7	2,7	0,118	0,6	69
résidus	8	2,1	0,3				
total	11	4,3					
Sud	3	6,2	2,1	36,3	0,00001	0,8	57,20
résidus	8	0,4	0,1				
total	11	6,6					
Ouest	3	8,8	2,9	14,8	0,001	0,9	69,30
résidus	8	1,6	0,2				
total	11	10,4					