HAL
open science

Modélisation de l'impact des systèmes de culture sur la pollinisation croisée chez le maïs dans le cadre de l'établissement de règles de coexistence

Frédérique Angevin

To cite this version:

Frédérique Angevin. Modélisation de l'impact des systèmes de culture sur la pollinisation croisée chez le maïs dans le cadre de l'établissement de règles de coexistence. Sciences agricoles. AgroParisTech, 2012. Français. NNT : 2012AGPT0062 . pastel-00875332

HAL Id: pastel-00875332

https://pastel.hal.science/pastel-00875332

Submitted on 21 Oct 2013

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

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

Doctorat ParisTech

T H È S E

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

Spécialité : Sciences de l'Environnement

présentée et soutenue publiquement par

Frédérique ANGEVIN

le 6 novembre 2012

Modélisation de l'impact des systèmes de culture sur la pollinisation croisée chez le maïs dans le cadre de l'établissement de règles de coexistence

Encadrement de la thèse : **Antoine MESSÉAN**

Directeur de thèse : **Thierry DORÉ**

Jury

M. Yves Brunet, Directeur de recherche, unité Ephyse, INRA Bordeaux	Rapporteur
M. Joe N. Perry, Professeur, Rothamsted research, Royaume-Uni	Rapporteur
M. Bernard Chevassus-au-Louis, Inspecteur Général de l'Agriculture, CGAAER	Examinateur
M. Thierry Doré, Professeur, UMR Agronomie, AgroParistech	Examinateur
M. Antoine Messéan, Ingénieur de recherche, unité Eco-innov, INRA Grignon	Codirecteur
M. Jean-Pierre Tillon, Directeur scientifique, Union des coopératives InVivo	Examinateur

INRA
Unité Impacts écologiques des innovations en production végétale (Eco-Innov)
Campus AgroParisTech
78850 Thiverval-Grignon

Pour ma mère et ma tante Yvette
qui auraient tellement aimé faire des études

En mémoire de Juliette et d'Anne-Marie

Je n'ai jamais été à l'aise pour parler d'une manière abstraite, théorique, de mon travail ;
même si ce que je produis semble venir
d'un programme depuis longtemps élaboré,
d'un projet de longue date,
je crois plutôt trouver - et prouver - mon mouvement en marchant.

Georges Perec

Remerciements

En vertu du principe de précaution si souvent invoqué lorsqu'il s'agit d'OGM, je tiens à remercier toutes les personnes ayant apporté une contribution directe ou indirecte à ces recherches. J'aurais pu m'en tenir à cette remarque liminaire, mais cela aurait été injuste vis-à-vis de ceux qui ont participé et m'ont soutenue lors de ce travail de longue haleine.

En premier lieu, je remercie Joe Perry et Yves Brunet pour avoir pris le temps de lire et d'évaluer mon travail. Je remercie aussi Bernard Chevassus-au Louis et Jean-Pierre Tillon d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Antoine Messéan, mon directeur de thèse et chef attitré, m'a encouragée tout au long de ce projet, de mes premiers questionnements sur l'opportunité de me lancer dans cette aventure jusqu'à mes dernières interrogations sur le contenu de la discussion. Il fallait qu'il ait bien confiance en moi pour être sûr que mes missions au sein de l'unité Eco-Innov ne pâtiraient pas de ce travail supplémentaire. Il m'a maintes fois poussée dans mes retranchements scientifiques d'agronome peu férue de statistique. Il est aussi connu pour sa diplomatie et pour sa patience sans failles et cela tombe bien, car avec moi, il en faut.

Je suis reconnaissante à Thierry Doré qui fut d'abord relecteur de mon rapport de stage en exploitation (qui était Hment bien) puis de mon mémoire de fin d'études (écrit dans la douleur celui-là) ; le voici qui continue à lire ma prose 22 ans plus tard. Merci pour ses encouragements, ses critiques constructives, son pragmatisme et sa promptitude à répondre à mes questions existentielles lors de la thèse et de la rédaction de ce manuscrit (Il n'y en a pas eu qu'une et… il n'avait pas que ça à faire).

Comment ne pas évoquer Jean-Marc Meynard pour le « il y a un poste intéressant qui s'ouvre à l'INRA, tu devrais te présenter » dit un jour de septembre 1999 à Montpellier dans une réunion annuelle du CIRAD. Je n'y croyais pas mais j'ai quand même préparé sérieusement et passé ce concours si éloigné de ce que je faisais à l'époque ; enfin pas tant que ça sur les aspects spatiaux et sur les thématiques pouvant générer des conflits… Cela a changé beaucoup de choses pour moi par la suite.
J'en profite pour remercier les autres membres de mon comité de pilotage : Etienne Klein, Jane Lecomte, Joe Perry et Peter Stamp.

Bien qu'il ne figure qu'un nom sur la couverture de cette thèse, elle est le fruit d'un travail collectif qui a associé plusieurs personnes lors des différentes étapes de la conception, de l'évaluation et de l'évolution du modèle MAPOD®. Je ne saurais trop remercier Claire Lavigne, Etienne Klein, Cécile Choimet, Arnaud Gauffreteau, Benjamin Balique et Benoît Ricci.
Je n'oublie pas les stagiaires qui m'ont beaucoup aidée pour la collecte, la mise en forme et le traitement des données : Fatima, Aurélien, Lise, Boubaker et Aline.

Ces données ont été acquises grâce à des suivis et des expérimentations menées au GEVES et à l'IRTA. J'ai passé de bons moments dans les champs avec Daniel, Alice, Aloïse, Quima et Enric. Ils ont su me faire profiter de leur expertise sur leur plante fétiche, le maïs. Grâce à eux, dans les équations mathématiques, il n'y a pas que du théorique, il y a aussi du vivant.

Je suis reconnaissante à Yvette Dattée, alors Directeur du GEVES, de m'avoir donné accès aux données issues de la procédure de DHS afin de servir de base à la modélisation de la dynamique de floraison dans MAPOD®. Elle était persuadée que tout le travail réalisé par nos collègues dans les essais mis en place pour les procédures d'inscription pouvait être valorisé dans des programmes de recherche et sur ce point, elle avait totalement raison. Je la remercie pour la confiance qu'elle m'a toujours accordée et son soutien indéfectible depuis que je lui ai annoncé mon projet de devenir docteur.

David Makowski et Sylvain Dupont ont déployé des trésors de patience pour m'initier respectivement aux joies des analyses ROC et des modèles physiques de dispersion du pollen. Alain Bône, le Jim

Phelps de la recherche bibliographique, a toujours été présent et rapide pour me trouver une référence… jusqu'alors introuvable. Je remercie pour leur relecture attentive de ce manuscrit Cécile, Chantal, Claire, Elisabeth et Geneviève.

Pour les encouragements à poursuivre tout au long de ces années de réflexion, merci à : Sylvain Dupont, Marianne Lefort, David Makowski, Claire Lavigne, Florence Le Ber, Aude Alaphilippe (pour m'avoir soulagée de certaines tâches quand j'avais trop à faire, alors qu'elles ne sont pas spécialement inoccupées…), Anne Marie et Bernard, Juliette et Geneviève.

Grand merci à ceux qui m'ont entourée au quotidien pour leurs contributions même si elles n'ont pas toutes eu un caractère scientifique : Elisabeth, Frédéric, Muriel, Aude B., Damien, Cyrille A. et Cyrille B., Joëlle, Véronique, Sophie, Odile, Elodie, Catherine C. B. et Catherine P., Brigitte et toute la joyeuse bande des repas (de couloir ou pas) du SAD-APT.

J'ai aussi partagé les joies et désarrois d'autres thésards. Dr Aurélie (le fait que nous soyons décalées dans nos périodes de marasme nous a quand même permis de nous remonter à tour de rôle le moral et : « *yes we can do it !* » et merci pour les tomates) ; Dr Mourad (quand je pense que j'ai fait des collages de photos de Miss France en bikini rien que pour lui) ; Dr Noémie (pour, entre autres, les bons moments passés lors de la venue d'Aristide). Enfin, je partage avec le Dr Suzette Tanis-Plant l'expérience d'entreprendre une thèse tout en étant en poste. Sans me le dire, je pense qu'elle a toujours craint que je fasse partie des ingénieurs de recherche qui commencent une thèse sans jamais la finir faute de temps. Le travail qu'elle a fourni lors de sa rédaction, l'organisation qu'elle avait établie pour concilier ses *English lessons* et sa thèse restent des exemples pour moi. J'ai grandement bénéficié de son aide pour rédiger mes articles et préparer mes présentations orales en anglais. Je la remercie aussi pour ses encouragements tout au long de ces années.

Auparavant, il y a eu les instituteurs et les professeurs qui m'ont donné le goût d'apprendre et encouragé une curiosité bien utile pour être chercheur. Merci Mlle Virolle, M. Bouchet, Mme Barbier, Mme Henry, Mme Kohl, M. Gaudichon… et plus récemment, tout est relatif, ceux qui m'ont fait aimer l'Agronomie : Thierry Doré, Alain Capillon, Jacques Caneill et, bien sûr, Michel Sebillotte (pour ses très utiles cours d'Épistémologie). J'espère avoir réussi à mobiliser ici, d'une manière ou d'une autre, ce qu'ils m'ont enseigné.

Je rends hommage à Marie Curie : la lecture de sa biographie, il y a bien des années, a déclenché chez moi une admiration non sans conséquences sur le choix de ma carrière.

Ce manuscrit a été écrit en écoutant The Mark Lanegan Band, Mogwai, The National et Unkle. Ceci est une thèse rock'n' roll (et ce n'est rien de le dire) !

Comme il n'y a pas que la science et mon ordinateur dans la vie, je voudrais adresser mes derniers remerciements à ma famille et à mes proches. Vu la taille de ma tribu, cette liste ne peut être exhaustive : merci au O'Brien gang, aux jardiniers et peintres blésois, à Nico, Rose et les M&M's, à mes tontons et tatas fiers de moi (oui, on a parlé de moi dans la République du Centre et l'Éclaireur du Gâtinais !). Merci à mes amis qui ne m'ont pas trop vue ces derniers temps : *I'll be back*.

Enfin, je n'en serais pas là sans le soutien inébranlable de ma mère. Merci pour le réconfort les jours de doute et pour la logistique quand j'ai passé mes vacances à rédiger en tête à tête avec mon ordinateur. J'ai bien vu que je la laissais souvent perplexe, notamment quand j'exprimais une joie non contenue après avoir fini une partie de ce manuscrit. Elle a toujours su que j'y arriverais.

Sommaire

Remerciements 1
Sommaire 3
Liste des abréviations 5
Introduction 7
1 Problématique 13
1.1 Contexte et enjeux de la coexistence chez le maïs 15
1.1.1 État des lieux des surfaces et variétés de maïs OGM cultivées 15
1.1.2 Réglementation de la coexistence 17
1.2 Flux de gènes chez le maïs 29
1.3 Filières ségrégées chez le maïs 33
1.4 Résultats expérimentaux sur la pollinisation croisée chez le maïs 37
1.5 Quelles bases pour modéliser ? 39
1.5.1 Objectifs du modèle 39
1.5.2 Différents types de modélisations des flux de gènes pour différents usages 39
1.5.3 Modèles existants sur maïs 42
1.5.4 Conclusion 44
2 Conception et évolutions du modèle MAPOD® 47
2.1 Introduction 49
2.2 Model input and output variables 51
2.3 Structure of the model 53
2.4 Model evaluation 63
2.4.1 Data sets used for validation 65
2.4.2 Comparison of observed and simulated cross-pollination rates 65
2.5 Examples of outputs 67
2.6 Discussion 69
2.7 Conclusion 75
2.8 Évolutions du modèle 75
3 Évaluation du modèle 81
3.1 Évaluation du module de dispersion 83
3.2 Évaluation du module de floraison 85

3.3 Utilisation de dispositifs champ à champ dans des parcelles agricoles 93
3.4 Conclusions sur les améliorations potentielles de l'algorithme 101
3.5 Confrontation à des données recueillies dans des dispositifs pluriparcellaires 105
3.5.1 Présentation des données 105
3.5.2 Méthodes d'analyse de la qualité des prédictions réalisées avec MAPOD® 109
3.5.3 Résultats 111
3.6 Conclusions sur la qualité prédictive du modèle 115
4 Utilisations du modèle 119
4.1 Utilisation du modèle pour les études de coexistence 121
4.2 Conception d'un outil d'aide à la décision 133
4.3 Couplage avec un modèle de gestion 135
4.4 Utilisation pour l'étude de l'effet des paysages sur les processus de flux 139
4.5 Conclusion sur les différents types d'utilisation 143
5 Discussion 145
Conclusion 161
Bibliographie 167
Liste des annexes 185
Annexe 1 189
Annexe 2 227
Annexe 3 231
Annexe 4 241
Annexe 5 247
Annexe 6 253
Annexe 7 263
Annexe 8 271
Annexe 9 277
Annexe 10 301
Annexe 11 325

Liste des abréviations

AGPM : Association Générale des Producteurs de Maïs

AIP : Action Incitative Programmée (Dispositif de financement de projets de l'INRA)

ANR : Agence Nationale de la Recherche

AUP : Agence Unique de Paiement

BBA : *Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft* ; Centre fédéral de recherche biologique pour l'agriculture et la forêt (Allemagne)

CGB : Commission du Génie Biomoléculaire

CTPS : Comité Technique Permanent de la Sélection

Co-Extra : *GM and non-GM supply chains: their CO-EXistence and TRAceability* (Projet européen financé par le sixième programme cadre ; 2005-2009)

DGAL : Direction générale de l'alimentation (Ministère de l'Agriculture)

DHS : Distinction, Homogénéité et Stabilité

ECoB : *European Coexistence Bureau*

EFSA/ : *European Food Safety Authority* /

AESA Autorité Européenne de Sécurité des Aliments

ETH : *Eidgenössische Technische Hochschule* (Institut Fédéral Suisse de Technologie)

Fdi : Fonction de dispersion individuelle

GCOM2AP : Gérer la COexistence chez le Maïs : Apports d'une Approche Pluridisciplinaire ; projet financé par l'ANR (2007-2010)

GESTER : Gestion territoriale des résistances aux maladies en réponse aux nouvelles contraintes d'utilisation des pesticides en grande culture ; projet financé par l'ANR (2012-2015)

GEVES : Groupe d'Étude et de Contrôle des Variétés et des Semences

GNIS : Groupement National Interprofessionnel des Semences et des plants

HCB : Haut Conseil des Biotechnologies

IRTA : *Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries* (Catalogne)

IPSC : *Institute for the Protection and Security of the Citizen* (Centre commun de recherche de la Commission européenne)

IPTS : *Institute for Prospective Technological Studies* (Centre commun de recherche de la Commission européenne)

MAGRAMA : *Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente* (Espagne)

MAPOD® : *Matricial Approach to POllen Dispersal*

MASCOTE : Modélisation de l'Allocation Spatiale des Cultures OGM dans le TErritoire selon différents scénarios de gouvernance ; projet financé par l'ANR (2008-2011)

NIG :	*Normal Inverse Gaussian*
OCDE :	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
OGM :	Organisme Génétiquement Modifié
ONIC :	Office National Interprofessionnel des Céréales
OS :	Organisme Stockeur
PAC :	Politique Agricole Commune
PCR :	*Polymerase Chain Reaction*
PRICE :	*PRactical Implementation of Coexistence in Europe* (Projet européen financé par le septième programme cadre ; 2011-2014)
RMSE :	*Root Mean Square Error*
RRMSE :	*Relative Root Mean Square Error*
ROC :	*Receiver Operating Characteristic*
SIG :	Système d'Information Géographique
SIGMEA :	*Sustainable Introduction of GM crop into European Agriculture* (Projet européen financé par le sixième programme cadre ; 2004-2007)
UE :	Union Européenne
VAT :	Valeur Agronomique et Technologique

Introduction

Bien que le flux de gènes soit un phénomène bien connu chez les espèces végétales, ses implications dans le cas de la mise en culture d'OGM à visée agronomique (tolérants à des herbicides totaux ou résistants à des insectes foreurs) ont soulevé de nouvelles interrogations. Au-delà des effets indésirables au niveau écologique ou agronomique (i.e., persistance de repousses résistantes à un herbicide chez le colza, impact sur les organismes non-cibles, modification de la biodiversité), la présence d'OGM dans les productions conventionnelles et biologiques[1] peut aussi affecter la compétitivité, voire la pérennité, de certaines productions agricoles. Jusqu'alors limitée à quelques marchés à valeur ajoutée (productions de semences, maïs doux, maïs waxy, colza érucique[2], …), la coexistence entre filières de production agricole fondées sur une même espèce est devenue un problème à traiter en tant que tel lors de la mise en culture de variétés génétiquement modifiées et ce, même lorsqu'il n'y a pas de risque écologique associé à la dissémination de l'OGM.

Le dispositif réglementaire européen aboutissant à la mise en culture de variétés génétiquement modifiées (GM) a pour originalité d'être lié au mode d'obtention de l'innovation, la transgénèse, et non au type de caractère exprimé. Il repose sur une procédure complète qui comprend :

- Une autorisation de mise en culture fondée sur une évaluation *ex ante* renforcée des impacts sanitaires et environnementaux ;
- Une obligation d'étiquetage des produits contenant ou dérivés des OGM à des fins d'information des consommateurs ;
- La mise en place de mesures techniques et administratives visant à assurer la coexistence des cultures GM avec les productions conventionnelles et biologiques.

Concernant ce dernier point, l'Union européenne a édicté des recommandations visant à garantir que chaque agriculteur puisse choisir le mode de production qu'il souhaite, biotechnologique, conventionnel ou biologique (CE, 2003a, 2010a). Ces recommandations stipulent en outre que, compte tenu de la diversité des systèmes de production, des structures d'exploitation et des conditions économiques et physiques de l'agriculture dans l'UE, les mesures adéquates pour la coexistence sont variables au sein de l'Union européenne. En conséquence, des stratégies nationales devaient être établies, tout en étant régies par des lignes directrices définies par la Commission.

En 2009, 15 des 27 États membres avaient mis en place des lois concernant la coexistence (CE, 2009), qui consistaient principalement en mesures individuelles à mettre en œuvre, à l'échelle de la parcelle, par l'agriculteur cultivant des variétés transgéniques. La plus courante est la définition de distances d'isolement permettant de respecter, en sortie de champ, le seuil légal d'étiquetage fixé à 0.9 % (CE, 2003c).

---

[1] Elles seront dénommées, dans la suite du manuscrit, « productions non-OGM ».

[2] Ainsi, les producteurs de semences ont défini des zones protégées afin de garantir le niveau de pureté et de qualité requis par la réglementation. De la même façon, les parcelles de maïs doux, destiné à l'alimentation humaine, sont isolées des autres parcelles de maïs afin d'éviter la présence de grains de maïs conventionnel, peu agréable au goût.

Ces distances peuvent être complétées ou remplacées par des zones tampons[3]. Seuls quelques états, tel le Portugal, ont une législation s'appliquant aux différentes étapes de la ségrégation, du semis au stockage de la récolte (Cruz de Carvalho *et al.*, 2008).

En France, la faisabilité de filières sans OGM a été l'objet de plusieurs programmes de recherche successifs, engagés dès la mise en culture des premières variétés de maïs Bt en 1998 avec le programme « Pertinence et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM » [4] dont les originalités résidaient, d'une part, dans l'association étroite entre les chercheurs, leurs partenaires des filières agroalimentaires, les consommateurs et les pouvoirs publics, et d'autre part, dans son positionnement dans un contexte économique, réglementaire et technique très évolutif.

Il s'agissait notamment de déterminer, à l'échelle parcellaire, quelles pratiques permettraient d'assurer le respect de différents seuils de pureté dans les récoltes. Dans le cas du maïs, le phénomène à prendre en compte -les flux de gènes par pollinisation anémophile- était connu mais avait principalement été étudié dans des conditions de production différentes de celles rencontrées lors de l'introduction d'OGM (i.e. production de semences ; Bateman, 1947 a & b) ou par l'établissement de règles empiriques de production (GNIS, 2003). Les premières recherches menées sur ce sujet en France (Klein, 2000 ; Klein *et al.*, 2003) ont conduit à l'établissement d'une courbe de dispersion du pollen plante à plante, dépendant du contexte climatique, de certaines caractéristiques variétales et permettant la prise en compte de la forme et de la position des champs émetteurs et récepteurs. Cependant, ces résultats, comme ceux obtenus lors d'autres essais de dispersion de pollen, restaient inféodés aux conditions d'expérimentation (en l'occurrence, des floraisons synchrones, un vent faible). De façon à les extrapoler à la diversité des situations agro-climatiques des zones de production de maïs, une approche de modélisation a été adoptée et a abouti à la construction d'une première version du modèle MAPOD® (Angevin *et al.*, 2001).

Ce travail s'effectuant dans le cadre d'une expertise, il fallait répondre à la question posée par les commanditaires, avec les connaissances disponibles, dans une optique d'aide à la décision et de formulation de recommandations techniques opérationnelles, nécessitant de prendre en compte les effets des systèmes de culture sur le phénomène de flux de gènes afin de tester l'efficience de mesures techniques de coexistence.

Par la suite, MAPOD® a été utilisé lors de plusieurs expertises et projets de recherche sur la coexistence (Meynard & Le Bail, 2001 ; Angevin *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2006 ; Messéan *et al.*, 2009). Le modèle a évolué selon un processus dynamique non linéaire qui reflète d'une part, la teneur différente des demandes d'évaluation sur la faisabilité de la coexistence et d'autre part, l'acquisition en parallèle de nouveaux résultats sur les phénomènes biologiques (notamment ceux pour lesquels des lacunes avaient été identifiées lors de l'évaluation du modèle). En ce sens, le processus de conception–évaluation de MAPOD est original car composé de plusieurs cycles, son utilisation lors de certaines

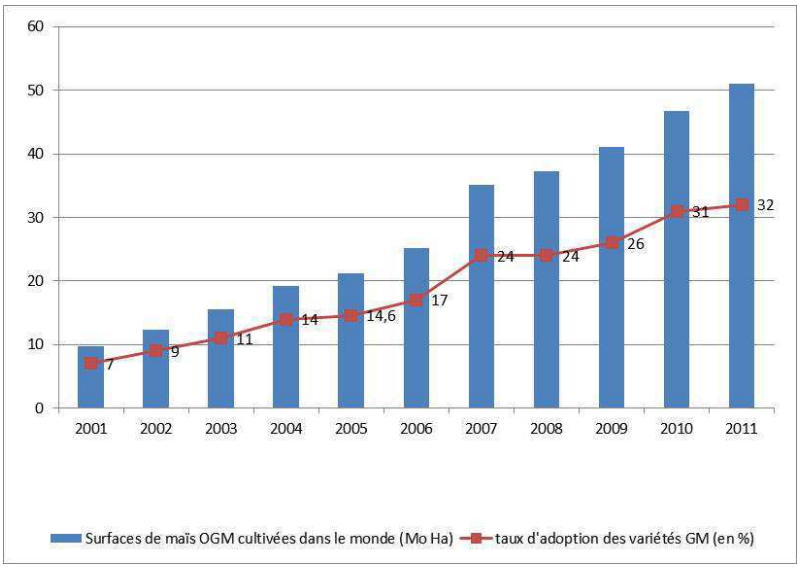
[3] Zone tampon : zone semée avec du maïs conventionnel autour du maïs OGM afin de protéger le maïs non-OGM avoisinant. Elle est censée agir comme une barrière physique mais aussi augmenter la compétition entre pollen OGM et non-OGM si les floraisons sont synchrones (Rühl *et al.*, 2011). Le maïs produit dans ces zones est livré avec la récolte OGM.

[4] http://www.inra.fr/genomique/communique7.html ; Étude commanditée par le Ministère de l'Agriculture, Direction générale de l'alimentation (DGAL).

expertises sur la coexistence ayant amené à la formulation de questions de recherche pour l'étude desquelles soit des jeux de données existants, soit les résultats d'essais spécifiques ont été mobilisés.

Ce travail de thèse s'inscrit donc dans le cadre de la mise au point d'outils de gestion de la coexistence chez le maïs. Il valorise les travaux que j'ai menés sur près d'une décennie sur le modèle MAPOD® au sein d'un collectif composé d'agronomes, d'écologues et de statisticiens. La première partie de ce mémoire est une synthèse du contexte de la coexistence chez cette espèce et des choix possibles pour la modélisation, éléments qui ont orienté la stratégie de modélisation. La conception de MAPOD® ainsi que ses évolutions successives seront présentées en seconde partie. Une troisième partie décrira les résultats de l'évaluation de la qualité prédictive du modèle, mettant en évidence les voies d'amélioration potentielles. Différentes utilisations du modèle dans des études de coexistence à des échelles diverses seront exposées dans le quatrième chapitre. Les résultats obtenus seront discutés ensuite en mettant l'accent sur l'intérêt de la prise en compte du phénomène biologique dans l'établissement de réglementations. En conclusion, la position du modèle dans l'approche globale de la gestion de la coexistence chez le maïs sera expliquée et les perspectives d'évolution seront envisagées.

Problématique



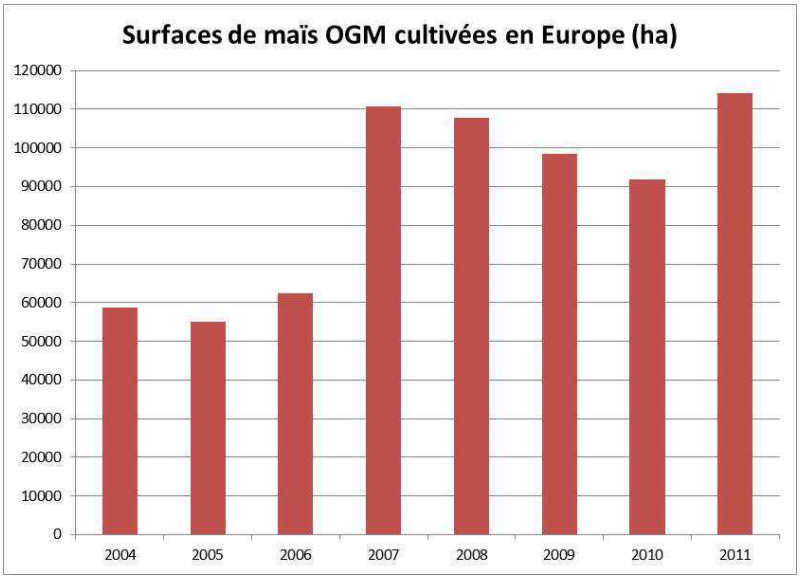


Figure 1 : Évolution des surfaces de culture de maïs transgéniques dans le monde et en Europe

Sources :
http://www.isaaa.org/
http://www.fas.usda.gov/
http://www.ogm.gouv.fr/
http://www.magrama.gob.es
(Czarnak-Klos & Rodriguez-Cerezo, 2010)

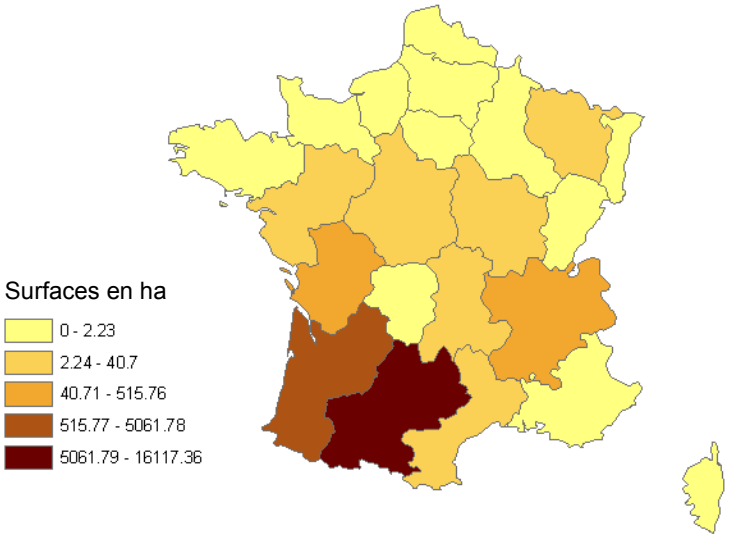


Figure 2 : Répartition des cultures de maïs Bt en 2007

Source :
http://www.ogm.gouv.fr/

1 Problématique

L'objectif premier des travaux de recherche sur la coexistence est de pouvoir proposer pour le maïs des scénarios techniques permettant de respecter, à la récolte, différents seuils préalablement définis (Meynard & Le Bail, 2001).

Dans un premier temps, un état des lieux du développement des variétés transgéniques et le contexte réglementaire et technique des recherches seront présentés. Ensuite, les phénomènes à prendre en compte pour l'établissement des scénarios seront détaillés. Les cahiers des charges de filières fondées sur la séparation de maïs de qualités différentes seront considérés selon la possibilité de respecter les seuils exigés pour les filières non-OGM. Les résultats expérimentaux disponibles seront analysés au regard de la question posée et les différents types de modélisation possibles des mécanismes en jeu seront précisés. Enfin, le cahier des charges du modèle sera défini et les choix méthodologiques qui en ont découlé seront exposés.

1.1 Contexte et enjeux de la coexistence chez le maïs

1.1.1 État des lieux des surfaces et variétés de maïs OGM cultivées

En 2011, au niveau mondial, les cultures de plantes génétiquement modifiées occupaient 148 millions d'hectares parmi lesquels 51 millions étaient semés avec du maïs (James, 2011), soit 32 % des surfaces cultivées avec cette espèce (Cf. Figure 1). Les variétés transgéniques utilisées étaient principalement des variétés Bt, résistantes aux insectes foreurs. Cependant, le nombre d'OGM comportant plusieurs transgènes (gènes empilés) est en constante augmentation ces dernières années et cette tendance semble appelée à perdurer puisque les compagnies semencières concentrent leurs efforts sur le développement de ces cultivars[5] (Taverniers *et al.*, 2008).

En Europe, les variétés de maïs autorisées à la culture portent le gène d'intérêt MON810 rendant le maïs résistant aux attaques de pyrales et de sésamies. Les surfaces cultivées (Figure 1) se trouvent en grande majorité en Espagne dans des zones, comme la Catalogne, où les dégâts de ces ravageurs sont importants et où les taux d'adoption peuvent alors atteindre 60 % (Gomez-Barbero *et al.*, 2008).

En France, les premières variétés de maïs OGM autorisées portaient le transgène Bt 176 de résistance à la pyrale et furent semées sur un peu moins de 2000 ha en 1998 (Cf. Table 1). Avec la montée de la controverse sur les OGM et les destructions d'essais (Bonneuil *et al.*, 2008), les cultures de maïs OGM restèrent anecdotiques jusqu'en 2007 (Cf. Table 1) où les surfaces déclarées atteignirent 22 135 ha, majoritairement cultivées dans le Sud-Ouest (Cf. Figure 2). La mise en culture de ces variétés[6] pouvait sans doute s'expliquer par une pression grandissante des insectes ravageurs du maïs dans ces zones et par la possibilité d'avoir accès à des semences et à un débouché en Espagne.

---

[5] Pour un exemple, voir : maïs Monsanto Yieldgard VT Triple®, résistant aux insectes foreurs (canne et épis), aux ravageurs des racines et tolérant au glyphosate (http://www.yieldgardvttriple.ca/default_fr.asp).

[6] Porteuses du gène d'intérêt MON810

Table 1 : Quelques dates-clés de la culture de maïs OGM en France avec les éléments de contexte Européen (en partie issues de Klein, 2000 et du site www.ogm.gouv.fr)

1983	Première plante transgénique : tabac résistant à la kanamycine
1986	Création de la Commission du Génie Biomoléculaire (CGB)
1990	Directives européennes 90/129 et 90/220 relatives à l'utilisation confinée des micro-organismes génétiquement modifiés et à la dissémination volontaire d'OGM
1997	Règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du Conseil relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires (*Novel food*)
1998	Autorisation de mise en culture en France de variétés de maïs transgéniques résistants à la pyrale : 1965 ha sont cultivés
1999	77 ha de maïs Bt mis en culture en France. De 2000 à 2004, moins de 50 ha par an.
2000	Version révisée de la Directive 90/220/CEE ➔ Le seuil d'étiquetage des produits contenant des OGM est fixé à 1 %
2001	Directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement (abrogeant la Directive 90/220/CEE)
2003	✓ Règlement (CE) 1829/1003 du Parlement européen et du Conseil concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés ✓ Règlement (CE) n°1830/2003 du Parlement européen et du Conseil concernant la traçabilité et l'étiquetage des OGM et la traçabilité des produits destinés à l'alimentation humaine ou animale produits à partir d'OGM ➔ Le seuil d'étiquetage en cas de présence fortuite est fixé à 0.9 % ✓ Recommandation de la Commission (2003/556/EC) établissant des lignes directrices pour l'élaboration de stratégies nationales et de meilleures pratiques visant à assurer la coexistence des cultures génétiquement modifiées, conventionnelles et biologiques
2005	492.8 ha de maïs Bt sont cultivés[7] en France
2006	5028 ha cultivés[4]
2007	22135.25[4] ha de MON810 (voir Figure 2)
2008	Activation de la clause de sauvegarde pour le MON810 (JO du 9/2/2008)
2008	Loi relative aux organismes génétiquement modifiés (Loi n°2008-595 du 25 juin 2008)
2009	Mise en place du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB - Décret du 30 avril)
2009	Avis du HCB relatif à la définition de filières dites « sans OGM » : ➔ définition d'un seuil à 0.1 % en dessous duquel le produit est « sans OGM » (26 octobre)
2010	✓ 38 variétés de maïs transgénique sont inscrites au catalogue officiel (JO du 25/07/2010) ✓ Proposition d'un règlement modifiant la directive 2001/18/CE de façon à permettre aux États membres de restreindre ou d'interdire la culture des OGM sur leur territoire ✓ Nouvelle recommandation sur la coexistence des cultures génétiquement modifiées avec les cultures conventionnelles et/ou biologiques
2011	✓ La Cour européenne de justice invalide la clause de sauvegarde pour le MON810 (8/09/2011) ✓ Le Conseil d'État annule la suspension de culture du maïs MON810 (28/11/2011) ✓ Avis du Comité Scientifique (CS) du HCB sur les conditions techniques de la coexistence rendu à la suite d'une saisine du Ministère de l'Agriculture. (15/12/2011)
2012	✓ Projet d'arrêté relatif aux conditions techniques de mise en culture, de récolte, de stockage et de transport des végétaux génétiquement modifiés (20/01/2012) ✓ Décret 2012-128 du 30 janvier relatif à l'étiquetage des denrées alimentaires issues de filières qualifiées « sans organismes génétiquement modifiés » ✓ Note adressée par le Gouvernement à la Commission européenne pour lui demander de suspendre l'autorisation de mise en culture du maïs MON810 (20/02/2012) ✓ Le Ministre de l'Agriculture décide de prendre une mesure conservatoire visant à interdire temporairement la culture du maïs MON810 sur le territoire national (Arrêté du 16 mars 2012).

[7] déclarés sur une base volontaire

Début 2008, la clause de sauvegarde est activée pour le maïs MON810. Celle-ci permet d'interdire provisoirement la culture ou la vente d'un organisme génétiquement modifié, en invoquant un risque pour la santé et l'environnement. En novembre 2011, le Conseil d'État a annulé cette suspension de culture suivant en cela l'invalidation de la clause de sauvegarde par la Cour européenne de justice (Cf. Table 1). Le 20 février 2012, le Gouvernement a adressé une note à la Commission européenne pour lui demander de suspendre l'autorisation de mise en culture du maïs MON810. En mars 2012, la Commission a saisi l'EFSA[8] et informé les autorités françaises qu'elle n'envisageait pas de mesure d'urgence pour la culture du maïs MON810 avant remise de l'avis de cette instance. Le 16 mars, un arrêté a été promulgué, qui suspend la mise en culture des maïs de lignée MON810 (République Française, 2012a).

1.1.2 Réglementation de la coexistence

Contexte législatif européen

Le concept de coexistence se réfère à la « *capacité des agriculteurs à faire un choix effectif entre cultures génétiquement modifiées, biologiques et conventionnelles, dans le respect des obligations légales en matière d'étiquetage et/ou de normes de pureté* » (CE, 2003a).

Dans l'Union européenne, la mise sur le marché de variétés OGM est encadrée par la Directive 2001/18 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement (CE, 2001a) et par le règlement 1829/2003 (CE, 2003b) concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux. Ces législations ont été mises en place pour protéger la santé humaine et l'environnement, en fournissant un cadre harmonisé d'évaluation des risques potentiels d'une mise sur le marché. Elles assurent aussi une libre circulation des produits au sein de l'Union sans distorsion de concurrence et doivent assurer la liberté de choix des consommateurs entre différents types de produits.

Lorsque l'événement de transformation est autorisé à la culture en Europe, les variétés contenant ce transgène peuvent être commercialisées au sein de l'Union. Elles doivent auparavant être inscrites au catalogue commun européen (CE, 2002) après avoir répondu aux critères de Distinction, Homogénéité et Stabilité (DHS) et de valeur agronomique et technologique (VAT). Ces autorisations d'inscription sont décidées au niveau national puis notifiées au niveau européen.

Le règlement 1830/2003 (CE, 2003c) concernant l'étiquetage et la traçabilité stipule que les OGM et les produits pour l'alimentation humaine et animale qui en sont dérivés doivent être clairement étiquetés de façon à laisser un libre choix au consommateur. Il est prévu cependant des exceptions, liées à des traces d'OGM autorisés dont la présence serait fortuite ou techniquement inévitable. Un seuil de 0.9 % est fixé en dessous duquel – et dans ces conditions spécifiques - l'étiquetage des matières premières n'est pas obligatoire (CE, 2003c). Ce seuil est aussi appliqué aux produits destinés à l'alimentation humaine et animale (CE, 2003b), qu'ils soient issus de l'agriculture conventionnelle ou biologique (CE, 2007b). Il reste valable dans les cinq ans qui suivent le retrait d'autorisation (CE, 2007a).

À la différence de la précédente législation (Directive 90/220/CE révisée en 2000), ce seuil est valable que le transgène ou les protéines produites soient détectables ou non, ce qui aboutit à l'étiquetage de produits raffinés, comme les huiles, et à la mise en place de procédures de traçabilité totale le long des filières de production.

---

[8] EFSA : European Food Safety Authority ; Autorité Européenne de Sécurité des Aliments http://www.efsa.europa.eu/fr/

Alors que le Comité scientifique des plantes[9] a émis un avis sur les seuils de présence fortuite d'OGM dans les semences de différentes espèces (CE, 2001b), il n'y a pas, à l'heure actuelle, de seuils officiels qui soient établis, ce qui se traduit par « une tolérance 0 »[10] dans les lots de semences non-OGM.

Bien que des recommandations quant à l'échantillonnage et la détection des OGM aient été émises (CE, 2004, 2011a), il reste une ambiguïté sur l'unité dans laquelle ce seuil peut être exprimé : pourcentage de grains OGM, résultats de PCR exprimés en pourcentage de masse ou de génome, ce qui génère, en plus des différences de fiabilité entre ces méthodes de mesure (Anklam *et al.*, 2002 ; Heinemann *et al.*, 2004 ; Weber *et al.*, 2007 ; Macarthur *et al.*, 2010 ; Trapmann *et al.*, 2010 ; Njontie *et al.*, 2011), des conséquences dans la définition de mesures de coexistence (Haut Conseil des Biotechnologies, 2011 ; Paul *et al.*, 2012).

Pour l'agriculture biologique et pour certaines filières de l'alimentation humaine (semoule, amidon) des seuils plus stricts peuvent être demandés par les opérateurs. En l'occurrence, c'est souvent le seuil de quantification de la PCR qui est exigé dans les récoltes (0.1 %) voire le seuil de détection dans certains cas, soit 0.01 % (Meynard & Le Bail, 2001 ; Raveneau, 2005). Ces cas spécifiques ne relèvent pas de la législation et sont considérés comme des standards privés. Cette situation a évolué en juillet 2010 (voir ci-dessous).
Enfin, il n'y a pas de seuils officiels de tolérance pour les événements non autorisés dans l'Union européenne. De tels OGM ne peuvent donc être ni vendus ni cultivés dans l'UE.

Les mesures de coexistence ne concernent donc que des OGM autorisés et ne relèvent pas de la gestion des risques vis-à-vis de la santé ou de l'environnement. Il s'agit de limiter les sources potentielles de mélange entre OGM et non-OGM et, de là, les conséquences économiques pour les agriculteurs cultivant des variétés non-OGM (*i.e.*, déclassement des récoltes).

La Commission européenne a édicté des recommandations donnant des lignes directrices pour l'établissement de mesures de coexistence « de la semence au silo » (CE, 2003a). Parmi celles-ci, il convient de noter certains principes généraux pour la définition des stratégies nationales :

- ✓ Fonder ses décisions sur des résultats scientifiques ;
- ✓ S'appuyer sur des pratiques/méthodes de ségrégation existantes ;
- ✓ Respecter un principe de proportionnalité, c'est-à-dire que les mesures doivent être efficaces, avoir un bon rapport coût/efficacité et ne pas dépasser ce qui est techniquement nécessaire pour respecter le seuil légal. Les mesures doivent alors être adaptées au contexte local ou régional ainsi qu'à l'espèce cultivée ;
- ✓ Privilégier les mesures à l'échelle de l'exploitation agricole ou la coordination avec des exploitations limitrophes et limiter les mesures supplémentaires à l'échelle régionale à des cas particuliers (espèce, type de production) ;
- ✓ Avoir des mesures spécifiques en fonction des espèces et variétés mais aussi du contexte régional (climat, topographie, rotations, part d'OGM dans la sole).

---

[9] Un des cinq comités scientifiques conseillant à l'époque la Commission européenne sur les questions de sécurité alimentaire

[10] Ce qui correspond dans les faits au seuil de détection de la PCR (Polymerase Chain Reaction), c'est-à-dire à 0, 01 % (AFNOR, 2000).

Table 2 : Distances d'isolement (en m) proposées dans les différents États membres pour séparer les cultures de maïs OGM et non-OGM, hors production de semences (d'après CE, 2009)

État membre	Maïs conventionnel	Maïs biologique
Allemagne	150	300
Autriche	Non définie	Non définie
Belgique	Non définie	Non définie
Danemark	150	150
Espagne	Non définie	Non définie
Estonie	Non définie	Non définie
Finlande	Non définie	Non définie
France	Non définie	Non définie
Hongrie	400	400
Irlande	50	75
Italie	Non définie	Non définie
Lettonie	200	200
Lituanie	200	200
Luxembourg	600	600
Pays-Bas	25	250
Pologne	Non définie	Non définie
Portugal	200	300
République Tchèque	70	200
Roumanie	200	200
Slovaquie	200	300
Slovénie	Non définie	Non définie
Suède	50	50

Compte tenu de la diversité des systèmes de production, des structures d'exploitation et des conditions économiques et physiques de l'agriculture dans l'UE, il a été décidé que la coexistence serait de la compétence de chaque État membre. En 2009, 15 des 27 États membres avaient mis en place des lois concernant la coexistence (CE, 2009), qui consistaient principalement en mesures individuelles à mettre en œuvre, à l'échelle de la parcelle, par l'agriculteur cultivant des variétés transgéniques. La plus courante est la définition de distances d'isolement permettant de respecter le seuil légal d'étiquetage fixé à 0.9 % (CE, 2003c) en sortie de champ (Voir Table 2). Ces distances peuvent être complétées ou remplacées par des zones tampons de variétés non-OGM autour du champ émetteur.

Par ailleurs, le Conseil de l'Union a confié en 2006 un mandat spécifique à la Commission européenne pour engager des travaux supplémentaires sur la coexistence. Il consiste notamment à identifier, en coopération étroite avec les États membres et les différentes parties prenantes (opérateurs, organisations non-gouvernementales), quelles sont les bonnes pratiques pour la ségrégation OGM/non-OGM et à définir des lignes directrices par espèce. Celles-ci doivent être suffisamment flexibles pour être adaptées au contexte de chaque État membre. Actuellement, un seul groupe de travail a été mis en place par la Commission sous l'égide du « European Coexistence Bureau (ECoB)[11] » ; il concerne les bonnes pratiques de coexistence chez le maïs (Czarnak-Klos & Rodriguez-Cerezo, 2010). Cet appui méthodologique est apparu nécessaire car la gamme des distances proposées par les différents pays de l'Union est importante (Cf. Table 2) et jugée supérieure à la variabilité qui pourrait être expliquée par les différences de contextes agro-climatiques.

Contexte législatif français

La loi du 25 juin 2008 transcrit en Droit français la Directive européenne 2001/18 (République Française, 2008). Elle en reprend les recommandations sur l'autorisation des OGM et met en place des instances spécifiques :

- **Le Haut Conseil des Biotechnologies** (HCB) qui comporte un comité scientifique et un comité économique, éthique et social. Il « *a pour missions d'éclairer le Gouvernement sur toutes questions intéressant les organismes génétiquement modifiés ou toute autre biotechnologie et de formuler des avis en matière d'évaluation des risques pour l'environnement et la santé publique que peuvent présenter l'utilisation confinée ou la dissémination volontaire d'OGM ainsi qu'en matière de surveillance biologique du territoire (...)* ».
- Un **Comité de surveillance biologique du territoire** qui est consulté sur les protocoles et méthodologies d'observation nécessaires à la mise en œuvre de la surveillance biologique du territoire et sur les résultats de cette surveillance. Dans cette optique de transparence, est aussi mis en place un registre national indiquant la nature et la localisation des parcelles d'OGM.

Cette loi définit aussi un cadre réglementaire pour la coexistence entre cultures et reconnaît la liberté de produire et consommer avec et sans OGM. Elle précise que la mise en culture, la récolte et le transport des OGM autorisés sont soumis au respect de conditions techniques relatives notamment **aux distances entre les cultures ou à leur isolement,** afin d'éviter la présence fortuite d'OGM dans d'autres productions.

[11] http://ecob.jrc.ec.europa.eu/

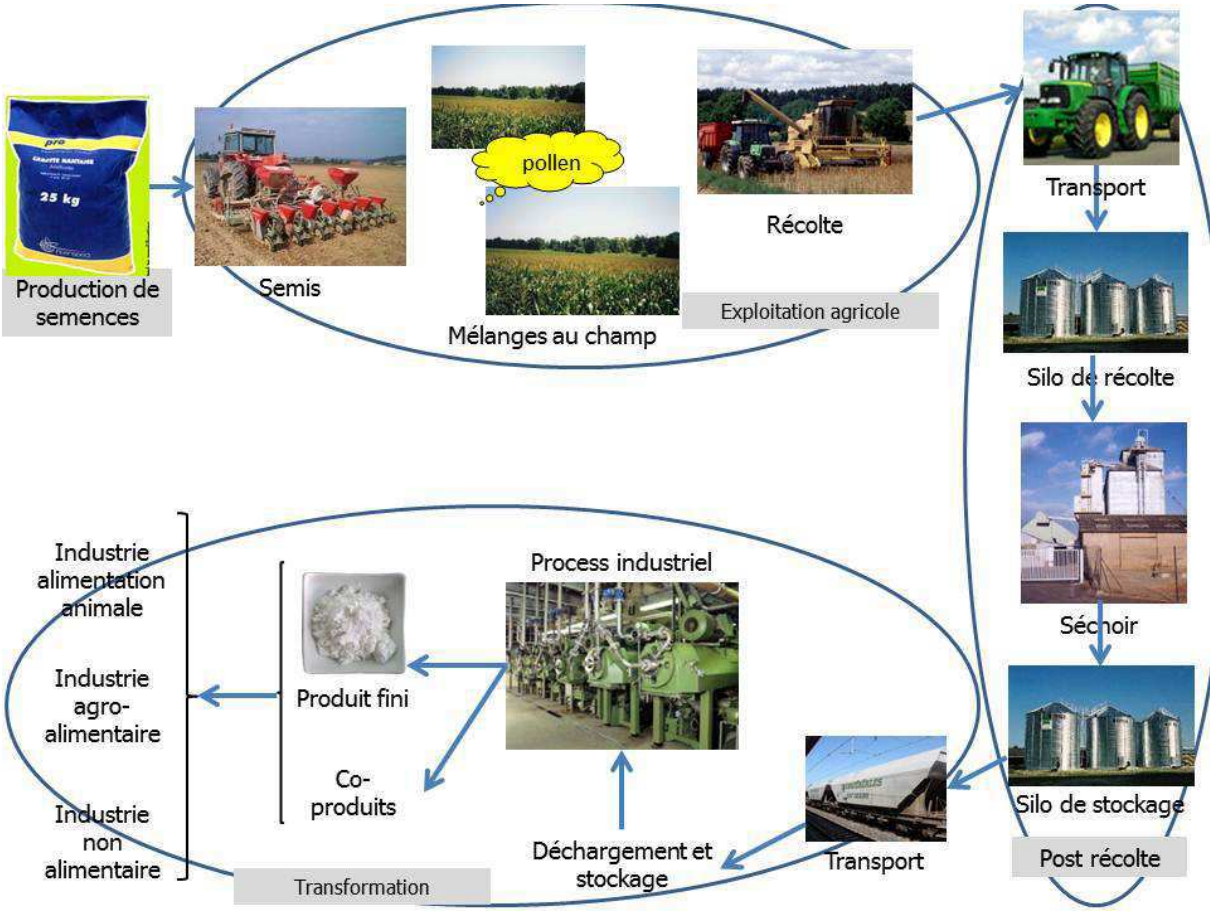


Figure 3 : Différents étapes physiques à envisager lors d'études sur la coexistence au sein d'une filière de production végétale

Photos : Droits réservés

Ces distances doivent permettre que la dissémination entre cultures respecte le seuil réglementaire communautaire. Il est prévu que le HCB soit consulté sur les règles techniques de coexistence. En 2010, le Comité scientifique a fait l'objet d'une saisine sur ce sujet (voir *infra*).

La loi institue, en outre, la **responsabilité individuelle** du producteur d'OGM vis-à-vis du préjudice économique résultant de la présence accidentelle d'OGM dans la récolte d'un autre agriculteur (ceci incluant les apiculteurs) ainsi que l'obligation de souscrire à une garantie financière couvrant cette responsabilité. Elle précise également les sanctions encourues en cas de non-respect du cadre technique : destruction de la culture à la charge du producteur d'OGM et sanctions pénales et financières.

Enfin, dans la loi, la notion de « sans organismes génétiquement modifiés » se réfère à la définition communautaire. Cependant, dans l'attente d'une définition effective au niveau européen, le HCB a été saisi pour émettre un avis qui servirait à fixer le seuil correspondant au niveau réglementaire. Celui-ci, transmis le 26 octobre 2009 aux ministres en charge de l'écologie, de l'agriculture et de la consommation, est composé d'une recommandation du comité économique, éthique et social du HCB. Partant du constat que, compte tenu de la coexistence de filières et du recours à des importations de matières premières agricoles, la présence accidentelle d'OGM est possible voire inévitable, il est nécessaire de remplacer la notion de « sans OGM », intuitivement liée à une absence totale d'ADN transgénique, par une définition fondée sur le respect d'un seuil maximal de présence d'ADN transgénique[12]. L'avis stipule que :

- « Pour les produits végétaux, une mention 'sans OGM' devrait être réservée aux produits contenant moins de 0.1 % d'ADN transgénique » ;
- « Pour les produits animaux, une mention 'nourri sans aliments OGM' ou 'issu d'animaux nourris sans aliments OGM' devrait être réservée aux produits issus d'animaux nourris avec des aliments dans lesquels la présence d'ADN transgénique est inférieure à 0.1 % ».

Ce seuil a été officialisé en janvier 2012 dans un décret portant sur les règles facultatives d'étiquetage pour denrées alimentaires issues de filières qualifiées « sans OGM » (République Française, 2012b). Il y a donc depuis juillet 2012 un seuil d'étiquetage « OGM » pour les produits contenant plus de 0.9 % d'ingrédients issus d'OGM, un seuil maximal de 0.1 % pour les produits « sans OGM » et une « zone grise » entre ces deux limites. Cette structuration de l'étiquetage au niveau du produit fini aura des conséquences en début de filière de production, c'est-à-dire au champ, compte tenu des risques cumulatifs de mélanges existants tout au long d'une filière (Figure 3) et des difficultés techniques afférentes pour respecter des seuils bas. Le HCB a fait l'objet d'une saisine en septembre 2010 concernant la définition des conditions techniques relatives à la mise en culture, à la récolte, au stockage et au transport des végétaux génétiquement modifiés selon deux scénarios de présence fortuite d'OGM : le seuil réglementaire (0.9 %) et le seuil préconisé dans l'avis rendu en octobre 2009 (0.1 %).

[12] Ce seuil étant exprimé en pourcentage d'ADN calculé conformément à la recommandation 2004/787/CE.

Encadré 1 : Principales lignes directrices de la recommandation sur la coexistence (CE, 2010a)

- ✓ Développement des règles nationales de coexistence en collaboration avec les acteurs pertinents des filières et en toute transparence
- ✓ Collaboration entre pays voisins pour assurer l'efficacité de la coexistence dans les zones frontalières
- ✓ Proportionnalité des mesures en fonction de l'objectif (seuil de présence) visé
- ✓ Mesures établies en fonction des connaissances disponibles sur les sources potentielles de présence fortuite et du seuil recherché. Celui-ci devra être établi en fonction du contexte national, voire régional, de production et de besoins locaux particuliers (agriculture biologique, exigences des filières). Dans ce cadre, possibilité de viser des seuils de présence fortuite inférieurs à 0.9 %
- ✓ *A contrario*, si l'étiquetage 'OGM' n'a pas de conséquences économiques, des mesures visant à obtenir des seuils inférieurs à 0.9 % n'auront pas à être définies
- ✓ Possibilité d'exclure la culture sur de grandes surfaces (« zones sans OGM ») en raison de contraintes économiques ou de production (topographie, répartition des champs dans le paysage, systèmes de culture et de production…). L'État membre devra démontrer que d'autres types de mesures ne permettent pas d'atteindre l'objectif visé et que cette mesure d'exclusion reste proportionnée à celui-ci
- ✓ Les questions de compensation financière et de responsabilité en cas de perte économique restent du ressort des États membres
- ✓ La Commission continuera son travail de collecte des données pertinentes sur le thème de la coexistence et fournira une assistance technique aux États membres pour l'établissement des règles nationales de coexistence (poursuite du mandat de l'ECoB)

Les évolutions en cours de discussion

En juillet 2010, la Commission européenne a proposé d'accorder aux États membres la liberté d'autoriser, de restreindre ou d'interdire la culture d'organismes génétiquement modifiés (OGM) sur la totalité ou une partie de leur territoire tout en maintenant le système d'autorisation de l'Union européenne (CE, 2010b). Une nouvelle recommandation sur la coexistence des cultures génétiquement modifiées avec les cultures conventionnelles et/ou biologiques (Cf. Encadré 1) remplace la recommandation 2003/556/CE (CE, 2010a). Elle donne une plus grande marge de manœuvre aux États membres lors de la mise en place de mesures sur la coexistence des cultures en tenant compte de leurs spécificités locales, régionales et nationales mais aussi de besoins particuliers de certaines filières (filières conventionnelles de qualité ou agriculture biologique, par exemple).

La modification de la Directive 2001/18 vise à assurer la sécurité juridique des États membres qui n'autoriseraient pas la culture d'OGM sur leur territoire pour des raisons différentes de celles stipulées pour l'évaluation scientifique lors de la procédure d'évaluation. Une liste indicative de ces raisons, d'intérêt public et compatibles avec les lois sur la libre circulation des denrées, n'a été publiée qu'en février 2011 (CE, 2011b). La modification a été discutée au Parlement européen et la proposition donnant la possibilité à un État membre de restreindre ou d'interdire la culture d'OGM sur tout ou partie de son territoire pour des raisons ayant trait au bien public (impacts environnementaux ou socio-économiques non envisagés par les évaluations sanitaires et environnementales de l'EFSA) a été acceptée le 5 juillet 2011. L'avis du parlement demande aussi une base légale plus ferme pour assurer que « *le pollueur paye pour les effets non-intentionnels et les dommages qui pourraient survenir lors de la dissémination volontaire ou la mise sur le marché d'OGM* ». Cette modification de la Directive est toujours en cours de discussion parmi les gouvernements des États membres.

En France, préalablement à la loi de juin 2008, il n'y avait pas de contraintes techniques d'isolement entre les cultures autres que celles mises en place volontairement par les agriculteurs (DRAF Aquitaine et Midi-Pyrénées, 2007). Un projet de décret sur les mesures techniques de coexistence pour le maïs avait été proposé en décembre 2008 suite à la mise en place de réunions techniques. Une distance d'isolement de 50 m entre parcelles OGM et non-OGM était alors prévue. Ce projet avait été mis en attente depuis lors et un nouveau calendrier avait été décidé. Le projet d'arrêté a été discuté une fois connus les résultats de la saisine en décembre 2011 (Haut Conseil des Biotechnologies, 2011) et rendu public en janvier 2012. Il concerne les conditions techniques s'appliquant à la mise en culture[13], à la récolte, au transport, au stockage ou au séchage du produit issu de la culture de végétaux génétiquement modifiés.

[13] Les conditions d'isolement champ seraient, pour une variété de maïs GM hétérozygote pour un seul transgène :
- 50 m entre chaque bord de la parcelle de maïs génétiquement modifié et tout bord d'une parcelle de culture non génétiquement modifiée interféconde ;
- Ou une bordure d'une largeur minimale de 9 m constituée d'une variété de maïs non-OGM de classe de précocité identique à celle de la variété de maïs génétiquement modifié et semée à la même date. La récolte issue de cette bordure serait traitée de la même manière que celle issue du maïs génétiquement modifié.

Conséquences sur la stratégie de modélisation

Les recommandations faites par la Commission européenne (CE, 2003a, 2010a) mettent donc en exergue la nécessité d'avoir des mesures adaptées au contexte de production, c'est-à-dire aux caractéristiques du paysage agricole, du climat et des systèmes de culture mais qui tiennent aussi compte de la présence de filières avec des exigences de pureté différentes du seuil réglementaire. Par ailleurs, ces mesures doivent être proportionnées à l'objectif visé. Les distances d'isolement proposées par la majorité des États membres ne répondent pas à ces critères. Ce sont des règles rigides établies le plus souvent sur la base de situations à risque (pour le maïs, floraisons synchrones, vent défavorable). Elles peuvent aboutir à limiter la culture de variétés OGM, par un effet domino[14] (Demont *et al.*, 2008 ; Messéan *et al.*, 2009).

Répondre aux recommandations de la Commission requerrait, pour l'établissement des mesures de coexistence dans chaque pays, la mise en place de réseaux d'essais à grande échelle, avant la commercialisation de variétés OGM, qui permettraient d'évaluer les risques de mélanges au champ. Une fois les cultures autorisées, afin de vérifier l'efficacité des règles et éventuellement de les modifier, des suivis dans les champs voisins des cultures OGM seraient nécessaires. À l'heure actuelle, seul le Portugal a mis en place ce type de suivi mais à une échelle limitée, compte tenu des surfaces cultivées mais aussi des coûts d'analyse (Cruz de Carvalho, *Comm. pers.*). Une autre possibilité, qui peut s'avérer complémentaire de la précédente, réside dans l'utilisation de modèles de flux de gènes afin d'estimer *ex ante* la faisabilité de la coexistence. Pour cela, ces modèles doivent prendre en compte les éléments du paysage agricole (parcellaire, assolement), du climat ainsi que des systèmes de culture ayant des conséquences sur le phénomène. Afin de respecter la proportionnalité des mesures qui pourront être proposées grâce à ces outils, ceux-ci doivent permettre de tester des combinaisons de pratiques (Messéan *et al.*, 2006).

Par ailleurs, à des fins d'aide à la décision, c'est le taux d'OGM qui devra être estimé et pas uniquement le processus y conduisant (dispersion du pollen et des graines, par exemple). Enfin, l'évaluation du modèle devra porter sur sa qualité prédictive dans l'absolu mais aussi sur sa capacité à prendre la bonne décision pour le respect d'un seuil donné.

Ce cahier des charges générique a peu changé depuis la conception du premier prototype de MAPOD® (Angevin *et al.*, 2001). L'évolution des réglementations au cours du temps a surtout abouti à changer l'unité de mesure du taux de présence fortuite d'OGM (en % d'ADN et non plus en nombre de grains) et à définir la méthode de détection afférente (la PCR), dont le niveau d'incertitude conditionne la qualité des données utilisées pour l'évaluation des modèles (Macarthur *et al.*, 2010), Enfin, le développement des variétés à gènes empilés conduit à prendre en compte leur structure génétique dans les modèles, celle-ci ayant un impact sur les risques de pollinisation croisée (Paul *et al.*, 2012).

[14] L'effet « domino » est une réaction en chaîne qui découle des décisions induites par la mise en œuvre de larges distances d'isolement par les agriculteurs adoptant des variétés GM. Il s'agit d'un processus itératif de modifications des intentions de semis (variétés conventionnelles à la place de variétés GM) afin de respecter les distances d'isolement, qui aboutit au final à réduire les choix possibles de semis pour les voisins (Demont *et al.*, 2008).

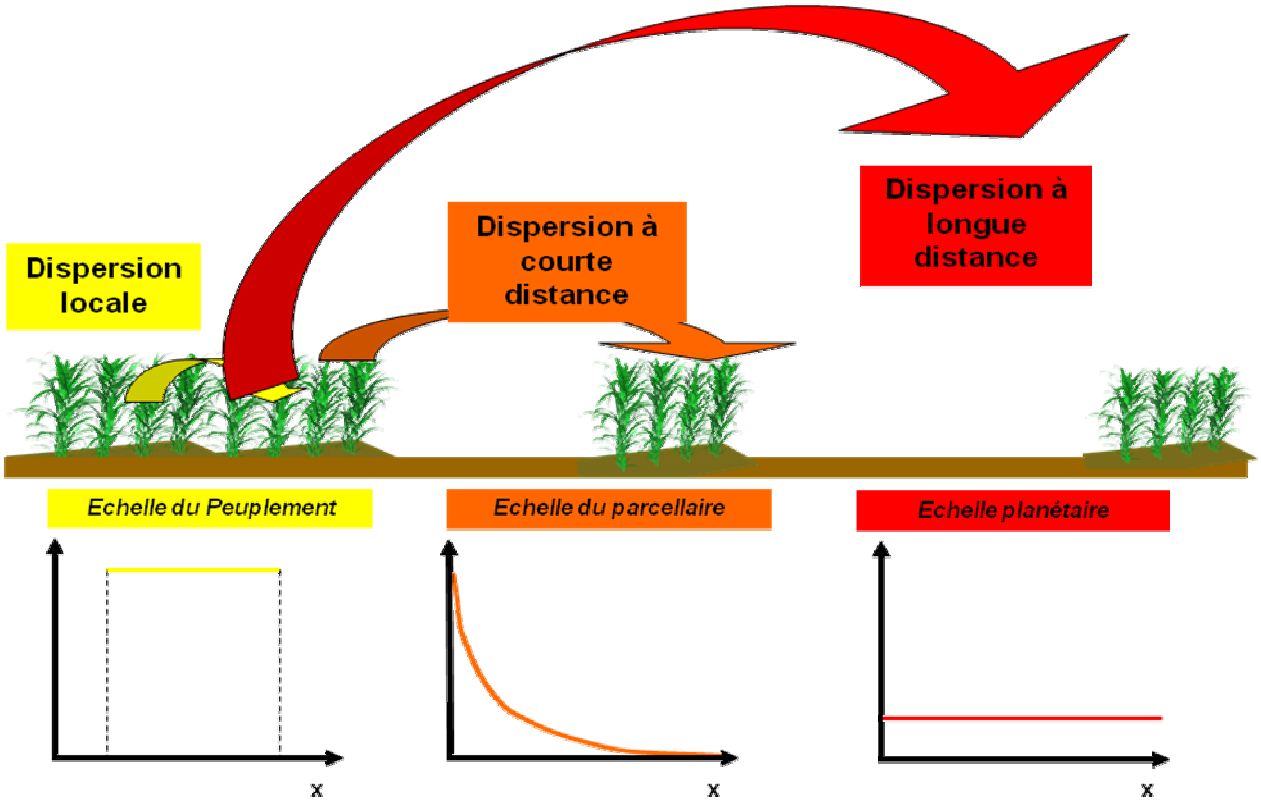


Figure 4 : ***Échelles de dispersion du pollen de maïs (Source : Y. Brunet, INRA)***[15]

NB : pour les graphes, l'abscisse correspond à la distance à la source d'émission ; l'ordonnée au taux de pollinisation croisée (avec des échelles différentes)

[15] Colloque « Biotechnologies & Agriculture durable », 17 janvier 2008 : http://agribiotech.free.fr/brunet.htm

1.2 Flux de gènes chez le maïs

Afin de pouvoir modéliser les impuretés dans les récoltes des grandes cultures, il convient d'identifier les différentes sources dont elles proviennent. Celles-ci sont liées à la dispersion de graines ou du pollen, dans le temps et dans l'espace (Colbach *et al.*, 2001b).

Les **impuretés liées aux graines** procèdent de différentes origines :

- De plantes déjà présentes dans les champs (repousses de cultures précédentes de la même espèce) ;
- De semences OGM déjà présentes dans les lots de semences conventionnelles ;
- Des graines apportées par les équipements agricoles (semoir, matériel de récolte) ;
- De pertes de graines de plantes férales de la même espèce que la culture et présentes dans les zones non-cultivées (bordures de champs, jachères, friches…).

Les **impuretés liées au pollen** proviennent de la fécondation croisée avec :

- Des champs avoisinants portant des cultures de la même espèce ;
- Des repousses de la même espèce (voir plus haut) ;
- De plantes férales.

La pollinisation croisée ne peut avoir lieu que pendant une période limitée où donneurs et récepteurs fleurissent en même temps.

L'importance relative des différentes sources dépend avant tout de la biologie florale de l'espèce considérée, de celle de ses graines (dormance...) mais également des conditions environnementales (climat, parcellaire) et agronomiques (systèmes de culture : rotations culturales, pratiques agricoles comme le choix variétal ou la date de semis).

Le maïs est une plante essentiellement allogame (Purseglove, 1972) dont le pollen est disséminé en grande majorité par le vent (Bateman, 1947a ; Treu & Emberlin, 2000). Même si divers travaux décrivent l'activité de butinage des abeilles dans les champs de maïs (Ibrahim & Selim, 1972 ; Mason & Tracewski, 1982 ; Aly & Hassan, 1999), les fleurs femelles sont très peu attractives et, en tout état de cause, la contribution potentielle des insectes auxiliaires à la pollinisation tiendrait à un transfert indirect lié à la mise en suspension aérienne du pollen, comme cela a pu être montré sur d'autres espèces (Pierre *et al.*, 2002).

Les fleurs mâles (panicules) et femelles (soies) sont séparées sur la plante et la plupart des variétés expriment de la protandrie (fleur mâle démarrant sa floraison avant la fleur femelle) ce qui favorise l'allogamie (Bateman, 1947b ; Struik & Makonnen, 1992 ; Emberlin *et al.*, 1999). Le pollen est relativement lourd et la dispersion décroît rapidement avec la distance (Bateman, 1947a, b ; Raynor *et al.*, 1972). Toutefois, la dispersion à longue distance peut également intervenir (Jones & Brooks, 1950 ; Byrne & Fromherz, 2003 ; Bannert & Stamp, 2007). Une partie du pollen de maïs est emportée par les mouvements convectifs en altitude et la déposition peut se faire à très longue distance et donner lieu à une pollinisation efficace, le pollen étant encore vivant (Brunet *et al.*, 2009). La Figure 4 illustre les trois échelles de dispersion spatiale.

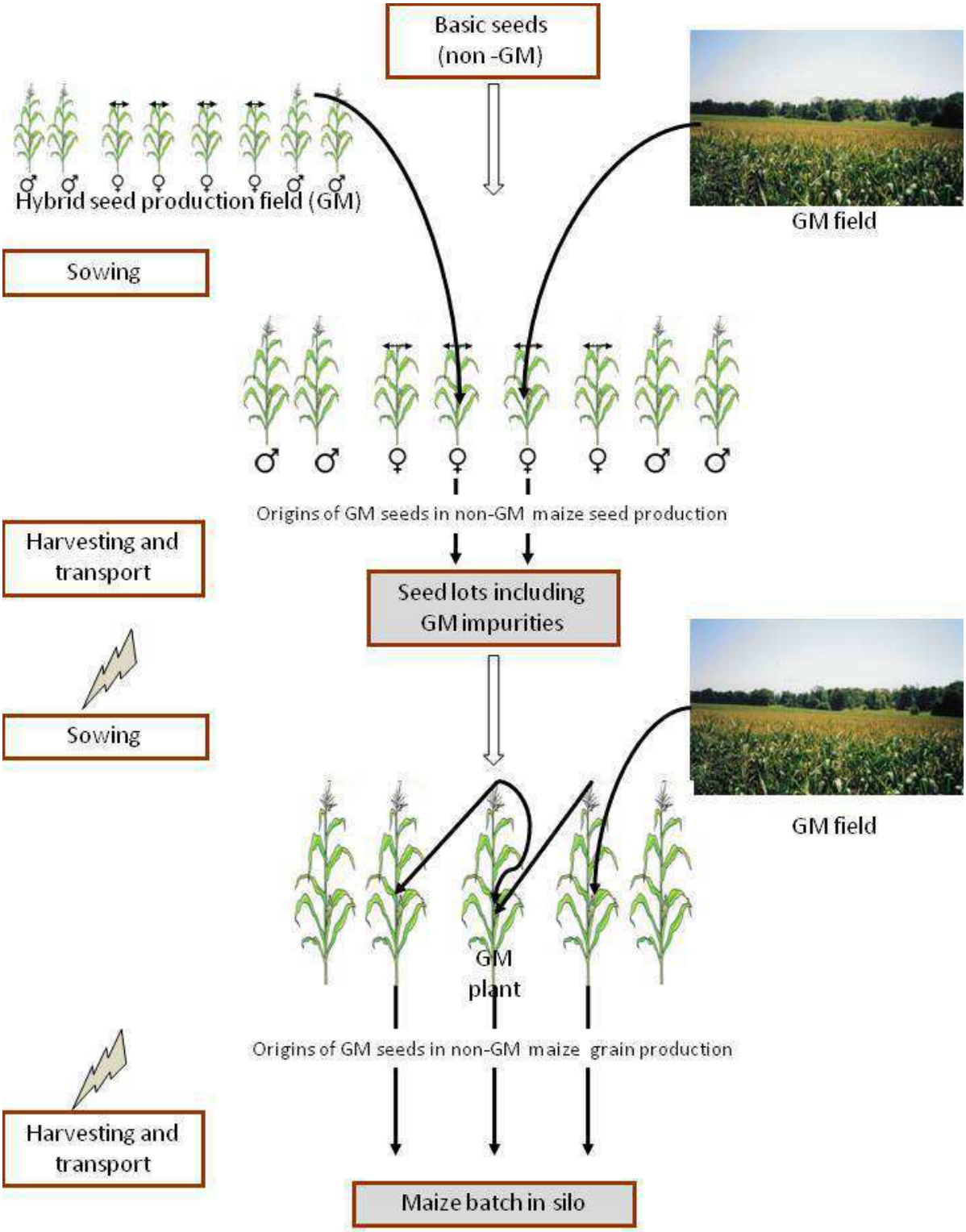


Figure 5 : Sources de mélanges entre grains OGM et non-OGM dans le cas de la production de maïs semence et de consommation (Paul* et al.*, 2012).

Les semences de base (basic seeds) sont supposées exemptes d'OGM. La pollinisation croisée entre plantes GM issues d'impuretés dans les semences dans un même champ n'est pas représentée. Les éclairs indiquent les risques de mélange liés au matériel (Messéan* et al.*, 2006)

La plupart des variétés de maïs cultivées sont des hybrides et leurs semences sont produites dans des champs où la quantité de pollen émise est sensiblement plus faible que dans des parcelles pour la production de graines destinées à la consommation ou à la transformation. En premier lieu, le nombre de plantes émettant du pollen est limité car les plantes du parent femelle de l'hybride sont castrées ou mâles stériles : en moyenne, seule une plante sur trois dans un champ de production de semences émet du pollen (Cf. Figure 5). En second lieu, les plantes femelles sont séparées des plantes mâles (4 à 5 rangs femelles pour 2 rangs mâles par exemple) ce qui rend les plantes femelles plus sensibles au pollen extérieur. Enfin, les lignées parentales d'un hybride produisent moins de pollen (0,5 à 3 millions de grains par plante ; (Fonseca *et al.*, 2003)) que l'hybride commercialisé (4.3 à 5.2 millions (Westgate *et al.*, 2003) ; 9.6 à 11.3 millions ; (Uribelarrea *et al.*, 2002) ; 4 à 12 millions (Balique, 2008)). Il est donc à noter que la production de semences de maïs est particulièrement sensible à la pollinisation croisée (Ireland *et al.*, 2006 ; Messéan *et al.*, 2006).

En ce qui concerne le risque de présence d'OGM au travers de la dispersion des graines, des repousses de maïs peuvent être observées l'année suivant une culture de maïs lorsque les hivers sont doux, principalement dans le Sud de l'Europe (Palaudelmas *et al.*, 2009). Dans des suivis effectués en Espagne, leur densité est apparue variable, dépendante du type d'irrigation pratiqué, et pouvait représenter jusqu'à 10 % des plantes présentes dans un champ. Ces repousses avaient une faible vigueur, produisaient rarement des épis mais émettaient du pollen pouvant féconder les plantes alentour. Les taux de pollinisation croisée mesurés se sont avérés faibles avec un maximum à 0.16 % dans une situation à risque (Palaudelmas *et al.*, 2009). Dans les systèmes de culture français, le taux d'humidité à la récolte réduit les risques d'égrenage de l'épi. Par ailleurs, les pratiques agricoles (labour) ou le froid limitent l'occurrence des repousses dont l'impact peut alors être considéré comme négligeable.

Des variétés populations sont utilisées pour des usages spécifiques (comme la production de polenta en Italie). Une étude menée sur deux collections de populations italiennes, l'une datant des années 50, antérieure à l'introduction des variétés hybrides, et une plus récente, suggèrent que le taux d'introgression depuis des hybrides cultivés a été relativement faible jusqu'à présent et n'a pas affecté la structure génétique des populations (Bitocchi *et al.*, 2009). Des expérimentations ont été conduites en France depuis 2007 pour évaluer les taux de pollinisation croisée entre hybrides cultivés et variétés populations utilisées en agriculture biologique (Travaux en cours).

Enfin, il n'y a pas de croisements interspécifiques, car il n'existe pas d'espèces sexuellement compatibles implantées en Europe (Ellstrand *et al.*, 1999).

Concernant les sources de mélanges liées au matériel agricole, elles ont été estimées lors de différentes études (Angevin *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2006) et sont considérées comme moindres par rapport aux risques liés à la pollinisation entre champs ou au sein d'un même champ, suite à la présence d'impuretés dans les lots de semences (Dietiker *et al.*, 2011 ; Njontie *et al.*, 2011 ; Paul *et al.*, 2012).

Table 3 : Distances d'isolement (en m) pour la production de semences de maïs certifiées (Messéan* et al.*, 2006)

Type de semences	OCDE	Union européenne	Espagne	France
Semences de base	200	200	300	400
Semences certifiées	200	200	220	300 (si la surface de l'îlot de production est inférieure à 10 ha) 200 (si la surface est supérieure à 10 ha)

Source: OECD (2004), MAGRAMA (1986), GNIS (2003)

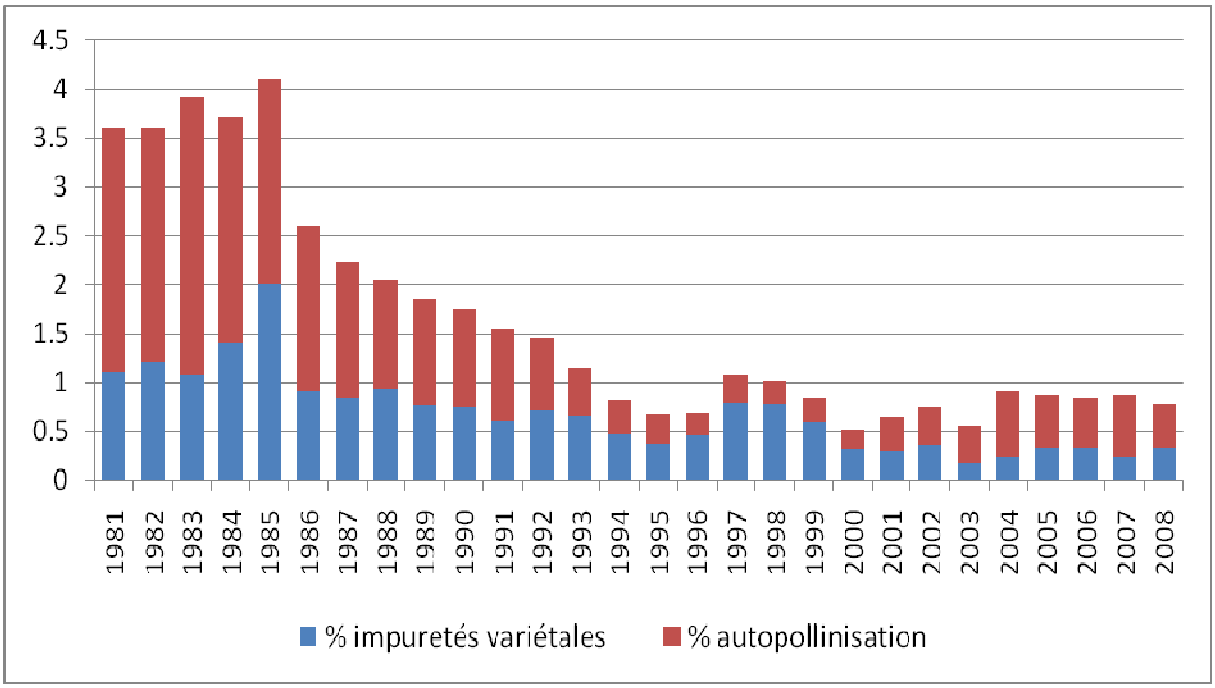


Figure 6 : Évolution des taux d'impuretés dans les lots de semences certifiées de maïs en France depuis 1981. Source : GNIS, 2009 cité par Dattée (Dattée *et al.*, 2009)

NB : Ces taux d'impuretés sont observés grâce à des observations phénotypiques et non génotypiques.

En résumé, c'est la pollinisation croisée intra-spécifique qu'il s'agit de considérer chez le maïs afin d'être en mesure d'estimer la faisabilité de la coexistence entre différents types de production. Comme indiqué plus haut, dans une optique d'aide à la décision, c'est la pollinisation efficace qui doit être connue pour pouvoir proposer des mesures appropriées, ce qui implique de connaître non seulement les processus de dispersion et de déposition du pollen mais aussi ceux jouant sur sa viabilité ainsi que ceux influant sur la réceptivité des soies.

1.3 Filières ségrégées chez le maïs

La coexistence de filières de natures différentes mais fondées sur la même espèce – et donc la maitrise technique des flux de gènes - n'est pas spécifique de l'introduction de variétés de maïs OGM. Plusieurs systèmes existent, même si seul l'un d'entre eux a une base réglementaire, la production de semences certifiées (Ingram, 2000 ; Bock *et al.*, 2002). Les autres filières ségrégées, qui concernent des maïs spéciaux (maïs riche en huile, maïs pour la semoulerie, maïs gavage, maïs waxy, maïs doux), reposent sur des cahiers des charges établis par les entreprises d'aval (Meynard & Le Bail, 2001).

Pour le maïs riche en huile et le maïs destiné à la semoulerie, ce sont des exigences liées à des choix de variétés (respectivement, teneur en huile supérieure à 6 %, maïs corné-denté) et au type de séchage qui aboutissent à l'organisation de filières différentes de celles destinées à l'alimentation animale ou à l'export. Pour le maïs gavage, les spécifications sont relatives à une teneur en amidon élevée et une faible présence de mycotoxines (Meynard & Le Bail, 2001). Pour les trois filières restantes, les cahiers des charges requièrent des exigences de pureté variétale qui se traduisent par des recommandations techniques au champ. Leur applicabilité au cas spécifique des filières sans OGM est présentée ci-dessous.

Production de semences certifiées

En France, les semences certifiées de maïs hybride sont produites dans le cadre de contrats entre les agriculteurs et les établissements multiplicateurs sous l'égide d'un règlement établi par le GNIS (2003) incluant des mesures visant à assurer la pureté et la qualité des semences ainsi qu'une procédure officielle de contrôle. Outre des dates de semis échelonnées pour la lignée mâle permettant une production de pollen continue pendant la période de réceptivité des soies, des mesures d'isolement visant à limiter la pollinisation croisée doivent être mises en place par l'agriculteur (Table 3). Il est possible de diminuer ces distances d'isolement en semant des rangs supplémentaires de lignées mâles en bordure. Le pollen qu'ils émettent est censé saturer les bordures et servir de barrière protectrice pour les lignées femelles vis-à-vis du pollen extérieur (Jones & Brooks, 1950). Cependant, si des mâles de lignées différentes sont présents dans le même îlot de production, une distance minimale de 100 m reste requise.

Ces dernières décennies, ces pratiques ont conduit à une amélioration de la pureté des lots de semences de maïs et les taux de pollinisation croisée mesurés lors des contrôles effectués par le GNIS. Ils sont en moyenne de 0.3 %[16] depuis dix ans (Figure 6). Cependant, une proportion

[16] Ces taux sont mesurés sur la base d'une observation phénotypique et non génotypique.

non négligeable des lots (30 à 40 %) excède cette valeur et 10 à 15 % des lots dépassent 0.5 % d'impuretés variétales (Messéan *et al.*, 2006). Ces résultats sont confirmés dans d'autres contextes climatiques (Ireland *et al.*, 2006). Comme vu précédemment, les champs de production de semences ont des caractéristiques particulières qui les rendent particulièrement sensibles aux flux de pollen extérieur. Les mesures appliquées sont donc logiquement plus strictes que celles qui seraient nécessaires avec des variétés hybrides. Leur transposition directe pour l'établissement de mesures de coexistence au champ pour la production de maïs grain aboutirait à ne plus appliquer le principe de proportionnalité édicté dans les recommandations de la Commission européenne (CE, 2003a, 2010a).

Maïs waxy

Le maïs waxy possède un amidon ramifié entièrement constitué d'amylopectine. Il est principalement utilisé pour les produits préparés (sauces, plats pour bébés) et le recyclage du papier. C'est un marché de niche dont les surfaces sont estimées à 40 000 ha en France[17]. Au séchage doux demandé par les amidonniers, s'ajoute une exigence de pureté variétale qui est fixée à 96 % au minimum (Meynard & Le Bail, 2001). Les organismes de collecte définissent alors les précautions à prendre pour la production au champ et le stockage[12] :

1. « *isoler le champ d'une parcelle de maïs standard (distance supérieure à 100 m) car si le maïs waxy est pollinisé par un maïs standard, les grains seront standard ;*
2. *détourer le champ avant la récolte, c'est-à-dire ôter les rangs de maïs situés en bordure du champ et contaminés par du pollen standard. Les grains « non waxy » sont détectés grâce à une solution iodée qui colore les grains contenant de l'amylose ;*
3. *à la réception silo, faire un contrôle de toutes les livraisons. Sécher le grain sur un séchoir dédié et stocker dans une cellule à part. Faire des contrôles de la pureté variétale à la sortie du séchoir et à l'expédition* ».

Le pourcentage d'impuretés variétales admis dans cette filière est bien supérieur au seuil légal d'étiquetage des produits contenant des OGM. En l'absence de statistiques sur les contrôles, il est difficile de savoir quelles sont les teneurs en maïs « standard » mesurées et donc si le cahier des charges ci-dessus permettrait de respecter une norme plus stricte.

Maïs doux

Le maïs doux est utilisé en alimentation humaine. Ce sont des variétés particulières, riches en sucre, dont les épis sont récoltés à 70 % d'humidité, avant la maturité et rapidement conditionnés. La pollinisation croisée avec du maïs 'standard' aboutit à la formation de grains farineux qui devront être éliminés avant mise en conserve ou surgélation car ils altèrent la qualité gustative du produit. Les contrats entre les agriculteurs et les transformateurs définissent les conditions techniques de production au champ qui tiennent compte des spécificités de cette production. Des distances d'isolement sont proposées : elles varient d'au moins 200 m au Royaume Uni et aux États-Unis (Ingram, 2000 ; Lerner & Dana, 2001), à 400 m en Australie (Beckingham, 2007). Dans ce dernier cas, cette distance d'isolement doit être associée à un semis différé permettant un décalage de floraison de deux à trois semaines. Enfin, des expérimentations menées en France ont montré que des distances d'isolement de 200 à 300 m permettaient d'obtenir des taux de pollinisation croisée très faibles. Il est à noter

[17] Source : http://www.armbruster.fr

que dans la pratique, un détourage des premiers rangs du champ de maïs doux est effectué pour éliminer les grains farineux principalement situés en bordure (Foueillassar & Fabié, 2007). Dans tous les cas, il n'y a pas de seuils de tolérance des grains farineux dans la récolte qui soit indiqué et c'est leur absence totale qui semble être recherchée. En l'occurrence, bien que les variétés de maïs doux soient plus productrices de pollen que les hybrides, car leurs talles fleurissent, les règles de production mises en place sont encore plus drastiques que pour la production de semences certifiées. Comme dans le cas précédent, leur application au cas du maïs grain aboutirait à des mesures plus strictes que nécessaire pour le respect des seuils de 0.9 %.

En conclusion, compte tenu, soit de la spécificité du seuil requis pour les produits non-OGM, soit du principe de proportionnalité, aucun des cahiers des charges existant déjà pour le maïs et définissant des mesures au champ n'est directement applicable pour l'établissement de mesures de coexistence.

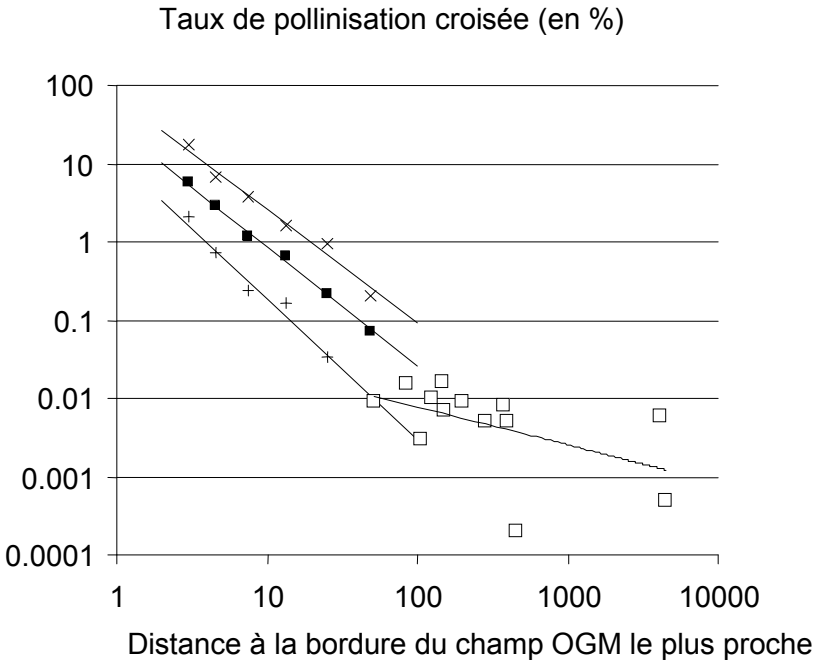


Figure 7 : Extraits de jeux de données collectés lors du programme européen SIGMEA[18].

Les points x correspondent au cas où le vent souffle de l'OGM vers le non-OGM et les points + correspondent au cas opposé ; les carrés noirs représentent la moyenne de tous les points (Source : étude BBA de dispersion à partir d'une parcelle émettrice carrée au centre d'un champ récepteur). Les carrés blancs correspondent à une dispersion à moyenne distance dans un paysage agricole de vallées alpines (Source : ETH, Suisse).

[18] Sustainable Introduction of GM crop into European Agriculture ; Projet européen du sixième programme cadre, 2004-2007, http://www.inra.fr/sigmea

1.4 Résultats expérimentaux sur la pollinisation croisée chez le maïs

Les flux de gènes chez le maïs et plus particulièrement les flux de pollen sont étudiés depuis longtemps (Bateman, 1947a, b ; Jones & Brooks, 1950 ; Raynor *et al.*, 1972) afin d'améliorer la pureté génétique dans les productions de semences (Bateman, 1947a, b). Les résultats obtenus dans ces études et les connaissances empiriques acquises sur le sujet ont abouti à l'établissement de cahier des charges pour ces filières (Luna *et al.*, 2001 ; Ireland *et al.*, 2006). Ils ont aussi permis d'identifier les facteurs influençant ce phénomène. Les principaux sont :

- la distance entre champs émetteurs et récepteurs, leurs tailles et formes (Bateman, 1947a ; Raynor *et al.*, 1972 ; Langhof *et al.*, 2010 ; Rühl & Langhof, 2011),
- la synchronisation des floraisons (Bateman, 1947b ; Du Plessis & Dijkhuis, 1967 ; Hall *et al.*, 1981 ; Boyat *et al.*, 1984 ; Bassetti & Westgate, 1994 ; Palaudelmas *et al.*, 2008 ; Langhof *et al.*, 2010),
- les quantités relatives de pollen produites par les variétés (Goggi *et al.*, 2007 ; Dietiker *et al.*, 2011),
- les conditions climatiques, notamment la vitesse et la direction du vent (Lonnquist & Jugenheimer, 1943 ; Bateman, 1947b ; Raynor *et al.*, 1972).

Ireland *et al.* (2006) classent ces facteurs selon deux composantes qui interagissent dans l'isolement reproductif chez le maïs :

- l'isolement biologique (date et durée de floraison, densité de pollen émise, quantité totale de pollen émise) ;
- l'isolement physique, qui relève des facteurs limitant la capacité du pollen à entrer dans le champ récepteur, c'est-à-dire la distance entre champs, l'orientation des parcelles entre elles et leurs tailles relatives.

Lors de la mise en culture des premières variétés transgéniques, une synthèse des connaissances existantes sur le sujet a été réalisée (Ingram, 2000). Elle fournissait un cadre méthodologique d'interprétation des données antérieures selon les facteurs affectant la pollinisation croisée et soulignait la difficulté d'extrapoler à des situations de production les résultats d'essais mis en place pour d'autres objectifs (établissement des schémas de production de semences ou de la probabilité de croisements interspécifiques sur des plantes isolées) dans des conditions favorables au phénomène étudié (synchronisation des floraisons, par exemple) pouvant amener à des surestimations des distances d'isolement dans le cas de productions de maïs pour la consommation ou la transformation. Les distances d'isolement champ à champ établies par l'auteur pour le respect des seuils 0.1, 0.5 et 1 % sont basées sur les résultats d'un essai[19] dans une situation maximale de risque : vent fort et conditions sèches pendant l'expérimentation (Jones & Brooks, 1950). Bien qu'il les qualifie de robustes, Ingram ne garantit pas que ces recommandations (respectivement 200 m, 300 m pour 1 et 0.5 %) soient suffisantes dans tous les cas de figure et conseille de nouveaux essais dans le contexte pédoclimatique européen pour vérifier leur pertinence.

[19] Mené en Oklahoma avec des populations de maïs et non des hybrides

Le développement des variétés transgéniques et de la problématique de la coexistence a, par la suite, abouti à la mise en place de nombreuses expérimentations visant au test et à la définition de règles techniques (Halsey *et al.*, 2005 ; Weber *et al.*, 2007 ; Bannert *et al.*, 2008 ; Della Porta *et al.*, 2008 ; Langhof *et al.*, 2008 ; Palaudelmas *et al.*, 2008 ; Van de Wiel *et al.*, 2009 ; Hüsken *et al.*, 2010 ; Langhof *et al.*, 2010 ; Rühl *et al.*, 2011).

Dans le cadre du projet européen SIGMEA, vingt jeux de données de flux de champ de maïs à champ de maïs ont été collectés et analysés (Collectif, 2007 ; Messéan *et al.*, 2009).
La plupart portaient sur la pollinisation croisée à courte distance champ à champ, en utilisant comme donneur des maïs OGM ou des maïs spécifiques portant un marqueur de couleur (blanc ou bleu). Deux jeux de données portaient sur des conditions réelles de coexistence avec de multiples champs émetteurs et récepteurs (Messeguer *et al.*, 2006 ; Bannert & Stamp, 2007). L'ensemble des données permet une comparaison entre échelles spatiales ou sous différents climats (voir Figure 7).
Ces études ont permis de tirer les enseignements suivants sur les phénomènes entrant en jeu (Hüsken *et al.*, 2007 ; Messéan & Angevin, 2007) :

- Une forte décroissance de la dispersion de pollen avec la distance (ordre de grandeur de un pour mille pour le taux de fécondation à une distance de 100 m de la bordure du champ donneur) ;
- Une très grande variabilité des taux de pollinisation en fonction des conditions environnementales et expérimentales ;
- Le maintien d'une pollinisation croisée à longue distance à des taux faibles mais non nuls ;
- Un effet sensible de la densité d'OGM dans le paysage agricole (résultats obtenus à partir des cultures commerciales en Espagne) ;
- Un effet très marqué de la direction du vent.

La coexistence au niveau du champ procédant du respect de seuils bas (Cf. § 1.3), certains facteurs influençant les taux de pollinisation croisée restaient à préciser et à mieux quantifier à l'issue du projet SIGMEA. Il s'agissait de l'effet :

- De la dynamique de floraison pour avoir des prévisions précises des décalages de floraison ;
- Des hétérogénéités spatiales (haies, forêts, topographie,…) de manière à déterminer les plus efficaces pour limiter les flux de pollen ;
- Des mouvements convectifs afin de mieux appréhender le phénomène de « bruit de fond ».

Les résultats des essais « champ à champ » ont aussi fait l'objet de méta-analyses dans le but d'élaborer des règles de coexistence (Gustafson *et al.*, 2006 ; Sanvido *et al.*, 2008 ; Riesgo *et al.*, *2010*). Il en ressort des recommandations sous forme de distances d'isolement établies pour des scénarios à risques. En effet, dans ce type d'analyse, les facteurs influençant le flux de gènes ont pris en compte de manière statistique, ce qui rend difficile l'adaptation des mesures de coexistence à des situations agro-climatiques spécifiques.
Par ailleurs, par manque de données expérimentales (Czarnak-Klos & Rodriguez-Cerezo, 2010), les combinaisons avec d'autres pratiques de coexistence, comme l'isolement temporel

(obtenu par décalage de semis ou choix de différentes précocités) ou les barrières de pollen, ne sont pas ou peu envisagées dans les recommandations actuelles alors qu'elles peuvent se révéler des solutions intéressantes dans les zones à fort pourcentage de maïs dans la sole (Bock *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2006 ; CE, 2010a).

Les essais au champ s'avèrent utiles pour connaître les phénomènes en jeu dans les flux de gènes. Cependant, l'échelle spatiale, la dépendance des processus au climat et à certaines pratiques agricoles, la nécessité de tester des combinaisons de techniques d'isolement rendent difficiles la généralisation d'une approche expérimentale dans le but de définir des règles de coexistence adaptées aux différentes régions de production du maïs.

Comme pour d'autres espèces, tels le colza et la betterave (Colbach *et al.*, 2001b ; Sester *et al.*, 2008), la modélisation s'est avérée un moyen pertinent pour représenter les processus gouvernant les flux de gènes chez le maïs ainsi que les facteurs les influençant, pour tester la faisabilité de la coexistence dans des contextes variés et identifier les mesures techniques que les agriculteurs devraient mettre en place.

1.5 Quelles bases pour modéliser ?

1.5.1 Objectifs du modèle

Le modèle présenté dans ce manuscrit a été mis au point initialement dans le cadre d'une expertise (Angevin *et al.*, 2001 ; Meynard & Le Bail, 2001), sur la base des connaissances disponibles à l'époque. L'objectif premier du travail était de disposer d'un modèle opérationnel permettant de tester l'efficacité de mesures techniques dans une optique d'aide à la décision et de formulation de recommandations pour le respect de seuils de présence d'OGM dans des récoltes non-OGM. En second lieu, le but était de pouvoir utiliser le modèle pour tester différents scénarios d'introduction de variétés OGM dans des systèmes de culture européens (Bock *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2006 ; Messéan *et al.*, 2009). Il s'agissait donc de modéliser, dans un champ non-OGM, le nombre de grains issus d'une fécondation par du pollen OGM (Beckie & Hall, 2008). Compte tenu des facteurs influant sur les flux (voir ci-dessus), il était aussi nécessaire de prendre en compte les effets des interventions agricoles, des caractéristiques variétales et du climat. Le parti pris d'opérationnalité, lié à l'objectif d'aide à la décision, requérait de pouvoir utiliser des données météorologiques et techniques assez facilement accessibles, de façon à pouvoir simuler de nombreuses situations.

1.5.2 Différents types de modélisations des flux de gènes pour différents usages

Dans le cadre de l'étude des flux de gènes, les modèles peuvent avoir quatre grands objectifs (Lavigne *et al.*, 2004) :

- fournir des prédictions précises (*e.g.* : de taux de pollinisation croisée) ;
- classer des scénarios (quels systèmes de culture minimisent les risques de persistance de repousses de colza ?) ;
- fournir des prédictions, même peu précises, d'événements difficiles à observer (*e.g.* : d'hybridation entre plantes cultivées et sauvages apparentées) ;

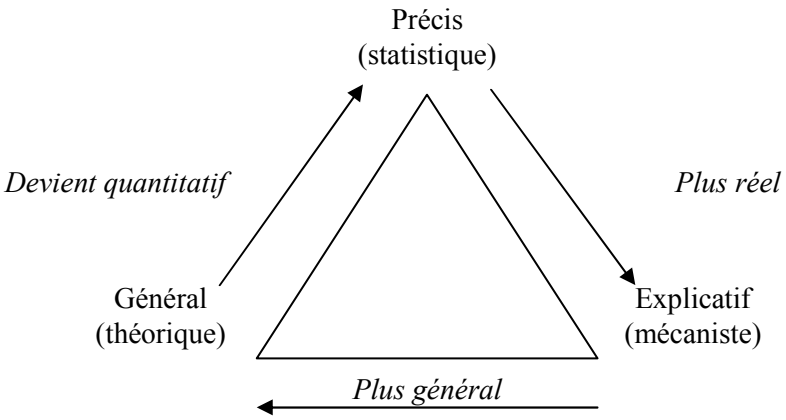


Figure 8 : Triangle représentant l'opposition entre la précision, la valeur prédictive et la généricité des modèles (Lavigne* et al.*, 2004)

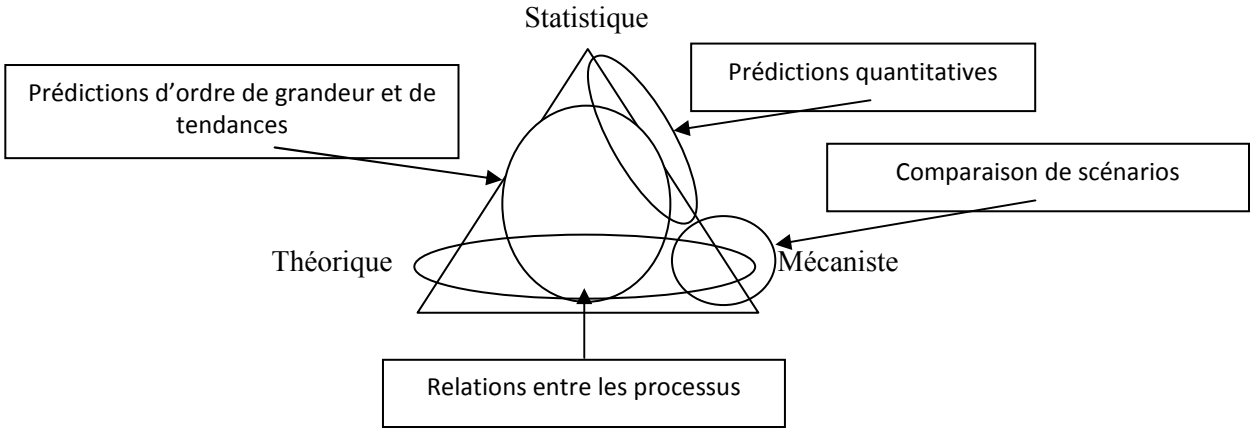


Figure 9 : Choix d'un type de modèle en fonction de la question posée. Les ellipses indiquent l'aire du triangle correspondant à chaque question (Lavigne* et al.*, 2004).

- comprendre les interactions entre les processus impliqués dans les flux (*e.g.* : interaction migration et sélection pour expliquer le devenir d'un transgène dans une population sauvage).

Compte tenu des difficultés techniques et du coût de la mise en place d'essais d'introduction d'OGM dans les systèmes de culture à des échelles réalistes (Messéan *et al.*, 2005 ; Messeguer *et al.*, 2006 ; Bannert & Stamp, 2007 ; Weekes *et al.*, 2007 ; Pivard *et al.*, 2008)[20], la modélisation s'avère un outil précieux pour évaluer *ex ante* des scénarios de mise en culture. Un modèle permet en outre de multiplier les situations à tester (Lavigne *et al.*, 2004 ; Beckie & Hall, 2008), ce qui peut rendre plus génériques et plus robustes les conclusions et les recommandations qui découlent des simulations.

Par construction, un modèle est une simplification de la réalité fondée à la fois sur des choix justifiés (ségrégation mendélienne des gènes à la méiose par exemple) et sur des hypothèses (Dans MAPOD®, même taux d'avortement des grains GM et non-GM). Le modèle représente donc toujours le point de vue de ses concepteurs. Il ne peut être alors qu'un compromis entre précision, généricité et caractère explicatif (Lavigne *et al.*, 2004). En écologie, les modèles de flux de gènes intra- et interspécifiques sont répartis en plusieurs classes selon le parti pris d'être plus précis, plus explicatif ou plus général. Trois types de modélisations correspondent à ces trois qualités (Cf. Figure 8) :

- **Modélisation statistique** : elle est fondée sur des données (ajustement de fonction sur un jeu de données ou choix des variables les plus explicatives de ces observations) ;
- **Modélisation mécaniste** : c'est une représentation des phénomènes biologiques aussi fondée sur des observations mais moins dépendante de la qualité des jeux de données initiaux. Elle implique de réfléchir aux processus à modéliser ainsi qu'à leurs interactions ;
- **Modélisation théorique** : elle est déconnectée des données et sert à étudier les interactions entre quelques processus (migration et sélection naturelle en génétique des populations, par exemple). Étant très générale, elle est inadéquate pour la réalisation de prédictions ou l'identification des mécanismes s'avérant critiques pour le processus étudié.

L'objectif d'utilisation visé détermine aussi le type de modélisation approprié (Cf. Figure 9). Rechercher des prévisions précises dans des situations déjà bien renseignées conduira à privilégier une approche statistique qui sera cependant limitée par l'étendue des données ayant servi à établir le modèle (« boîte noire »). La possibilité d'explorer des scénarios demande de pouvoir tester des situations en modifiant des paramètres et requiert alors plutôt une approche mécaniste (Lavigne *et al.*, 2004). Dans le cas des flux de gènes chez le maïs, seules ces deux approches ont été utilisées.

[20] Cinq suivis à grande échelle à des fins de recherche ont été mis en place depuis le milieu des années 90 en Europe :
- En France : les plates-formes inter-instituts (Sur maïs, colza et betterave ; Messéan *et al.*, 2005) et l'analyse rétrospective de Selommes (Sur colza ; Pivard *et al.*, 2008)
- Les *Farm Scale evaluations* au Royaume Uni (maïs, colza et betterave ; *e.g.* Weekes *et al.*, 2007)
- Le suivi de la zone de Foixà en Espagne (Sur maïs ; Messeguer *et al.*, 2006)
- Les deux années de suivis sur maïs à Urner Reusstal en Suisse (Bannert & Stamp, 2007)

1.5.3 Modèles existants sur maïs

Modèles de dispersion du pollen

Depuis la mise sur le marché de variétés de maïs transgénique, un certain nombre de modèles de dispersion du pollen ont été mis au point afin d'évaluer leurs impacts environnementaux et agronomiques[21].

Certains auteurs, compte tenu du nombre de facteurs influençant le flux de gènes et de leurs interactions, ont choisi, pour sa simplicité, une approche **empirique**. La modélisation a consisté à ajuster statistiquement des fonctions mathématiques sur des jeux de données plus ou moins importants. Ces modèles donnent une probabilité de fertilisation croisée à une distance donnée d'une source émettrice en tenant compte éventuellement de la direction ou du positionnement vis-à-vis du vent dominant (Bateman, 1947c ; Goggi *et al.*, 2006 ; Robson *et al.*, 2011). À partir de ce type de courbes, d'autres auteurs vont jusqu'à simuler des taux de pollinisation à l'échelle de la parcelle (Weekes *et al.*, 2005 ; Gustafson *et al.*, 2006) pour tester de manière plus réaliste l'effet de la taille relative des parcelles émettrice et réceptrice, de distances d'isolement ou de rangs de bordure. Les paramètres de ces courbes n'ont pas de signification biologique ou physique, ce qui rend difficile leur utilisation dans d'autres contextes que ceux des expérimentations ou des suivis dont les résultats ont été utilisés pour les établir. Leur qualité prédictive dépend de la variabilité de ces contextes agro-climatiques et des situations testées : dispositifs continus ou présence d'hétérogénéités entre les champs émetteur et récepteur (Lavigne *et al.*, 2004 ; Beckie & Hall, 2008). Dans tous les cas cités, les simulations ne concernent que des situations de dispersion champ à champ.

À l'inverse, des modèles **mécanistes** ont été développés qui reposent sur la modélisation des processus de libération, de transport et de dépôt du pollen. Ils permettent de prédire la proportion de pollen issue d'une ou plusieurs sources atteignant une parcelle cible (Aylor *et al.*, 2003 ; Loos *et al.*, 2003 ; Jarosz *et al.*, 2004 ; Dupont *et al.*, 2006 ; Lipsius *et al.*, 2006 ; Arritt *et al.*, 2007 ; Marceau *et al.*, 2011). Cette approche prend en compte explicitement, l'influence de la turbulence atmosphérique sur le transport de pollen. Le modèle lagrangien SMOP (Jarosz *et al.*, 2004), calcule ainsi les trajectoires des grains de pollen, pour un environnement turbulent prescrit *a priori*. Les modèles Aquilon et ARPS (Foudhil *et al.*, 2005 ; Dupont & Brunet, 2006b ; Dupont & Brunet, 2006a ; Dupont *et al.*, 2006) vont plus loin dans la mesure où ils calculent eux-mêmes les champs de vent et de turbulence, tels qu'ils sont affectés par les caractéristiques structurelles du paysage, et utilisent ces champs pour simuler la dispersion. ARPS (Xue *et al.*, 2000) a été modifié (Dupont & Brunet, 2006a) afin de simuler les champs dynamiques, de turbulence et de concentration de pollen de maïs à l'intérieur et au-dessus de couverts hétérogènes. Il permet de reproduire des structures turbulentes, telles que les rafales, essentielles dans les processus d'émission ou de dépôt du pollen. ARPS, Aquilon et SMOP prennent en compte les caractéristiques physiques du grain de pollen (Jarosz *et al.*, 2005) et estiment la concentration et le dépôt du pollen en aval d'une source donnée. Ces modèles permettent de bien comprendre le phénomène de dispersion du pollen et notamment les effets des hétérogénéités et obstacles entre parcelles sur les flux

[21] Il est à noter que la majorité de ces modèles sont postérieurs à la mise au point du modèle MAPOD® dont il est question ici (Angevin *et al.*, 2001).

(Dupont *et al.*, 2006). Cependant, ils requièrent de nombreux paramètres et données d'entrée, certains, relevant par exemple de la micrométéorologie, étant difficilement accessibles (Lipsius *et al.*, 2006). Pour la plupart, ils ne prennent pas en compte les éléments influençant la viabilité du pollen ni la réceptivité des soies, limitant en cela leur utilisation pour l'estimation de l'efficience de mesures de coexistence qui nécessite de connaître des taux de pollinisation efficace (Beckie & Hall, 2008).

Une approche intermédiaire a été développée, qui peut être qualifiée de quasi mécaniste. Elle repose sur une fonction statistique individuelle de « dispersion efficace » qui permet de connaître la probabilité d'une fécondation d'un ovule par un grain de pollen à une distance donnée d'une source. Elle intègre la libération du pollen, sa dispersion et la fécondation de la fleur femelle, sur l'ensemble de la période de floraison (Klein, 2000 ; Klein *et al.*, 2003). Ce type de modèle de dispersion, dit quasi mécaniste, prend en compte des paramètres associés à la vitesse du vent, la vitesse de sédimentation et le niveau de turbulence, la différence de hauteur entre panicules émetteurs et épis comportant les soies réceptrices. Ces paramètres, qui ont une signification biologique ou physique, ont été estimés grâce à des essais au champ (Klein *et al.*, 2003). Ils permettent, à la différence des modèles purement empiriques, l'utilisation dans des contextes autres que ceux des expérimentations initiales. Il reste cependant la difficulté de les relier aux variables météorologiques, qui vient en partie du fait que ces modèles intègrent un nombre important de processus qui peuvent être corrélés, sur l'ensemble de la période de floraison (par exemple, pic d'émission et vitesse du vent). Par ailleurs, ces fonctions ont été établies sur des dispositifs continus, ce qui peut limiter leur pertinence pour rendre compte de l'effet des obstacles et des divers éléments d'hétérogénéité d'un paysage, notamment en bordure de champ (Angevin *et al.*, 2006).

Outils d'aide à la décision

Les résultats obtenus dans les essais et dans les études sur la coexistence réalisées avec des modèles montrent que les bonnes pratiques d'isolement sont très variables et dépendent de caractéristiques locales (comme le pourcentage de maïs dans la sole), des pratiques agricoles, du contexte (climat et paysage agricole) aussi bien que des stratégies de l'agriculteur et de ses préférences (Angevin *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2006 ; Beckie & Hall, 2008 ; Messéan *et al.*, 2009). Comme décrit ci-dessus, les modèles prédictifs peuvent aider les décideurs pour évaluer la faisabilité de la coexistence à plusieurs échelles. Cependant, utiliser ce type de modèle peut s'avérer difficile pour des agriculteurs et leurs conseillers pour des raisons de prise en main des outils, de temps de calcul et d'accessibilité des données d'entrée. Ce constat a abouti à la mise au point, lors du projet européen SIGMEA, de plusieurs outils d'aide à la décision mobilisant des données d'entrée simples. Ils peuvent être utilisés avant semis pour estimer un risque de pollinisation croisée champ à champ, déterminer la nécessité de mesures d'isolement et aider à choisir les plus appropriées.

Dans SMAC advisor (Bohanec *et al.*, 2007), l'évaluation de la faisabilité de la coexistence est fondée sur un modèle multicritère développé à partir de deux sources de données (Voir 4.2) :

- Une série importante de simulations (plus de 8000) réalisées avec le modèle MAPOD® pour diverses situations de pollinisation croisée (Messéan *et al.*, 2006) ;

- Des règles de décision obtenues à dires d'experts pour les autres sources potentielles de mélanges.

Le 'GMcalculator'(Allnutt *et al.*, 2008) ou l'index global, mis en œuvre dans le logiciel GIMI (Messeguer *et al.*, 2006) sont, quant à eux, fondés sur une analyse statistique de larges jeux de données (respectivement issus de *Farm Scale Evaluations* et du suivi de la zone de Foixà) et sont en cours d'évaluation avec des résultats provenant d'essais et de suivis de champs commerciaux menés dans d'autres situations de culture (Alnutt, Messeguer, *Comm. pers.*). Ceci est un prérequis nécessaire avant leur utilisation dans d'autres contextes climatiques car le type de modélisation utilisé rend leur qualité très dépendante des jeux de données mobilisés pour leur conception (Lavigne *et al.*, 2004 ; Beckie & Hall, 2008).

1.5.4 Conclusion

Le modèle MAPOD® a initialement été mis au point dans le cadre d'une expertise affichant l'objectif de déterminer, à l'échelle parcellaire, quelles pratiques permettraient d'assurer le respect de différents seuils de pureté dans les récoltes. Il importait de répondre à la question posée, avec les connaissances disponibles à l'époque, dans une optique d'aide à la décision et de formulation de recommandations techniques opérationnelles, c'est-à-dire de prendre en compte les effets des systèmes de culture sur le phénomène afin de pouvoir tester l'efficacité de mesures de coexistence.

Il s'agissait donc de modéliser la dispersion efficace du pollen, c'est-à-dire pas seulement le transport depuis l'émission par les étamines mais plus précisément la fécondation des soies réceptrices (Beckie & Hall, 2008). Il fallait pour ce faire prendre en compte les facteurs climatiques et techniques jouant, au niveau biologique, sur la viabilité des soies et du pollen et, au niveau temporel, sur la concordance des floraisons des plantes émettrices et réceptrices. Le processus étudié déterminait aussi l'échelle de travail : les flux de gènes s'effectuent entre plusieurs parcelles sur un paysage. Par ailleurs, certaines mesures employées pour réduire la pollinisation croisée sont mises en œuvre à l'intérieur de la parcelle (détourage, barrière de pollen, cf. § 1.3), ce qui implique si l'on veut tester leur efficacité, d'être aussi en mesure de travailler à une échelle infra-parcellaire.

Par la suite, MAPOD® a été utilisé lors de plusieurs expertises et projets de recherche sur la coexistence. Il a évolué selon un processus dynamique en fonction des résultats obtenus lors de ces études mais aussi grâce à de nouveaux acquis sur les processus biologiques.

Le parti pris d'opérationnalité a impliqué, dans la construction du modèle puis dans ses évolutions :

- d'utiliser des données météorologiques et techniques assez facilement accessibles ;
- de gérer facilement des données spatialisées (allocations de cultures) ;
- d'optimiser les temps de calcul, qui sont souvent importants pour les modèles spatialisés, afin d'être à même de simuler des scénarios multiples de gestion de la coexistence ;

- de pouvoir actualiser facilement le modèle au regard des avancées sur la connaissance des processus, en appréciant toujours la balance entre gain de précision et complexification du modèle.

Le deuxième chapitre de cette thèse décrit la conception du modèle MAPOD® ainsi que ses évolutions au cours du temps. Les résultats de l'évaluation de la qualité prédictive globale seront ensuite présentés ainsi que les voies d'amélioration potentielles qu'ils ont permis d'identifier.

Conception et évolutions du modèle MAPOD®

2 Conception et évolutions du modèle MAPOD®

Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: The MAPOD model

Frédérique Angevin, Etienne K. Klein, Cécile Choimet, Arnaud Gauffreteau, Claire Lavigne, Antoine Messéan, Jean Marc Meynard

La première partie de ce chapitre reprend un article publié dans European Journal of Agronomy (2008), 28, pp 471-484 (DOI: 10.1016/j.eja.2007.11.010). Il décrit les deux modules composant MAPOD®, les résultats d'une première évaluation de la qualité prédictive du modèle, des exemples de simulations et des recommandations concernant le respect de seuils de présence fortuite d'OGM dans les récoltes. La dernière section résume ensuite les différentes évolutions algorithmique et ergonomique depuis la version initiale du modèle.

2.1 Introduction

Coexistence of different agricultural productions within a given crop species is already in place in some agricultural landscapes. To protect harvests from contamination by allo-pollen or seeds, segregation rules are applied. Organic crops, high erucic acid rapeseed, waxy maize, and more generally, seed production are but some examples.

However, the prospect of transgenic crop development on a large scale in Europe requires reconsidering existing segregation options to take into account mass production instead of today's niche market productions. Moreover, as a majority of European consumers are reluctant to eat GM foods (Eurobarometer, 2006), there is a demand for more stringent purity thresholds than those actually required in existing separated productions. The European Commission has defined a 0.9% threshold (CE, 2003c) and put in place regulations for labelling GMOs in food and feed (CE, 2003b). Finally, growing several varieties of the same crop expressing different transgenes requires farmers and collecting organisms to organise several parallel and segregated production chains (e.g., organic food, conventional food, GM food, GM pharmaceutics, GM feed, etc.).

Grain maize is a major crop in the European Union (EU), grown on more than 6.4 10^6 ha in 2004 (Eurostats, 2005). Moreover, GM maize is the only GM crop grown commercially in the EU, mainly in Spain, where 60,000 hectares were grown in 2006 (James, 2006). Given this context, there is a need to define strategies and best practices to ensure coexistence between GM, non-GM and organic maize productions.

Adventitious presence of GM seeds in non-GM harvests may occur due to pollen flow, impurities in seed lots, and volunteers (Colbach *et al.*, 2001b)[22].(...) To complement field trials and to draw up coexistence rules, decision makers are requesting validated models (CE, 2003a). Models integrating cropping systems at the regional scale exist for oilseed rape (Colbach *et al.*, 2001b, a), poplar tree (DiFazio, 2002) and sugarbeet (Sester *et al.*, 2008) but few attempts have been made to model maize pollen dispersal for such a predictive purpose and at such a scale. For maize, most published models focus on pollen dispersal at the field scale, applying either physical approaches (Loos *et al.*, 2003 ; Jarosz *et al.*, 2004 ; Richter & Seppelt, 2004 ; Dupont *et al.*, 2006) or quasi mechanistic approaches (Tufto *et al.*, 1997 ; Klein *et al.*, 2003 ; Yamamura, 2004).

[22] Cette partie de l'article a été incluse dans les paragraphes 1.2 « Flux de gènes chez le maïs » et 1.4 « Résultats expérimentaux sur la pollinisation croisée chez le maïs » de la partie « Problématique ».

Table 4: Nomenclature

		Units	Typical values used in MAPOD model	Source
Input variables				
nc, nr	Numbers of columns, of rows			
pc, pr	Column and row widths	m	1–10 (1.6–2)	
pc by pr	Raster unit	m^2	1–100 (3.2)	
EF	Earliness of flowering	° Days	775–1250	French technical institute for maize, and other trial results, calculation on a 6°C basis
h_e	Ear height of the non-GM plants	m	0.74–1.3	GEVES
h_t	Tassel height of the GM plants	m	2.14–2.89	GEVES
H	GMO heterozygosity		Homozygous/heterogygous	
S_{GM}, $S_{non\text{-}GM}$	Sowing dates for GM and non-GM fields		April to June	Agricultural practices (expert reporting)
D_{GM}, $D_{non\text{-}GM}$	Sowing densities for GM and non-GM fields	pl/m^2	50–110	Agricultural practices (expert reporting)
Q_{GM}, $Q_{non\text{-}GM}$	Total amount of pollen produced per plant during flowering	M pollen grains/pl	0.1–18	Field trials, Fonseca et al. (2003); Uribelarrea et al. (2002)
T_{min}	Daily aerial minimum temperature	°C		
T_{max}	Daily aerial maximum temperature	°C		
r	Daily cumulative rainfall	mm		
μ	Daily average wind speed	$m\,s^{-1}$		
θ	Daily average wind direction	°		
Flowering dynamics module				
GDD	Growing degree days	° Days		Durand (1969); Derieux and Bonhomme (1982,1990)
m_d	Production of pollen of one cell of non-GM plants relative to that of one cell of GM plants		$m_d = D \times Q \frac{P_{NT}(d)}{P_T(d)}$	Intermediate variable
D	Density of sowing in non-GM fields relative to GM fields		$D_{non\text{-}GM}/D_{GM}$	Intermediate variable
Q	Amount of pollen produced per non-GM plant relative to that produced per GM plant		$Q_{non\text{-}GM}/Q_{GM}$	Intermediate variable
P_{NT}	Fraction of pollen shed on day d for non-GM varieties			Data presented here and literature Uribelarrea et al. (2002); Westgate et al. (2003); Jarosz et al. (2003)
P_T	Fraction of pollen shed on day d for GM varieties			Data presented here and literature Uribelarrea et al. (2002); Westgate et al. (2003); Jarosz et al. (2003)
Pollen dispersal module				
NIG	Normal inverse Gaussian			Klein et al. (2003)
M_{NIG}	Matrix to discretize NIG function			Klein et al. (2003)
(x, y)	Pollination position in Cartesian coordinates			
$\lambda_z, \lambda_x, \lambda_y$	Synthetic parameters for NIG modulated by h and wind			Klein et al. (2003)
δ_x, δ_y		m^{-1}		Klein et al. (2003)
h	Difference of height between GM male flowers and non-GM female flowers	m	$h_t - h_e$	
(μ_x, μ_y)	Mean vector of wind speed in Cartesian coordinates	$m\,s^{-1}$		
μ_z	Settling velocity	$m\,s^{-1}$		
$\pi(d; x, y)$	Proportion of ovules fertilized by GM pollen at point (x, y)			Klein et al. (2006)
$\pi(d; k, l)$	Proportion of ovules fertilized by a GM pollen on day d at cell k, l			
D_T	Set of transgenic plants			
D_{NT}	Set of non-transgenic plants			
θ_d	$(\lambda_z, \lambda_x, \lambda_y, \delta_x, \delta_y)$ computed for day d			
U_z	Mean wind speed measurements at height z	$m\,s^{-1}$		
z_m	Height of wind speed measurements	m	10	
D	Zero plane displacement of wind profile	m	0.65 × height of the crop	Campbell and Norman (1998)
z_{om}	Roughness parameter for momentum	m	0.1 × height of the crop	Campbell and Norman (1998)

F. Angevin et al. / Europ. J. Agronomy 28 (2008) 471–484

Among them, Klein *et al*. (2003) have proposed a parametric expression for the maize pollen dispersal function (Normal Inverse Gaussian - NIG- model) and a framework to account for the shapes and positions of the pollen sources in the landscape. Fitting their model to data from field experiments, they provided estimated values for the parameters of the dispersal functions. However, these values were estimated in the case of synchronous flowering and described pollen dispersal over the flowering period as a whole, in an environment in which winds fluctuated little. Therefore, their overall validity to forecast pollen dispersal is expected to be limited under a wide range of climatic and cropping conditions (e.g., variations of pollen emission due to cultivars or agricultural practices).

In this paper, we present a deterministic model, MAPOD® (Matricial Approach to Pollen Dispersal), especially designed to predict cross-pollination rates between maize fields in a spatially explicit agricultural landscape under varying cropping and climatic conditions. The basic structure has been inspired by the dispersal function laid out by Klein *et al*. (2003). In order to take into account flowering asynchronies, impact on kernel set being known (Bassetti & Westgate, 1994), the first step in the modelling procedure was to take into consideration efficient pollination on a daily basis instead of the flowering period as a whole. To increase predictive capacity, the second step of the procedure was to adapt the model to agro-climatic conditions other than those observed during the field experiments used to fit the curve. To this end, climatic and technical factors affecting the parameters of the dispersal function were taken into account. These procedures are explained.

The preliminary evaluation of the MAPOD® was carried out by comparing simulation results with data from two French and one American gene flow field trials. In this paper, these results are also presented as well as examples of output data to illustrate the capacity of the model to simulate a wide range of situations.

2.2 Model input and output variables

In the MAPOD® model, the input variables include certain traits of the varieties and certain agricultural practices for each maize field as well as climatic factors for the given region. The first step involves the definition of a grid that corresponds to the overall area to be simulated. The grid is determined by using a number of columns (nc) and rows (nr) as well as a mesh size (known as a raster unit, pc by pr in m², Table 4). To set up a matrix, the area to be simulated can be either drawn in, or imported from a map or photographs from GIS software. In the resulting landscape pattern, soil occupation is defined by assigning different numbers to the raster units: 0 for bare soil and crops other than maize, 1 for GM maize and 2 for non-GM maize.

The characterisation of each maize variety, whether GM or not, includes earliness of flowering expressed in degree-days (EF), the tassel and ear heights (h_t and h_e) as well as whether the GM variety is heterozygous or homozygous for the transgene (H). As regards agricultural practices, inputs needed for both varieties are the sowing dates (S_{GM}, $S_{non\text{-}GM}$) and densities (D_{GM}, $D_{non\text{-}GM}$, in plants per ha) as well as the levels of water stress (null, moderate, severe) before and during the flowering period.

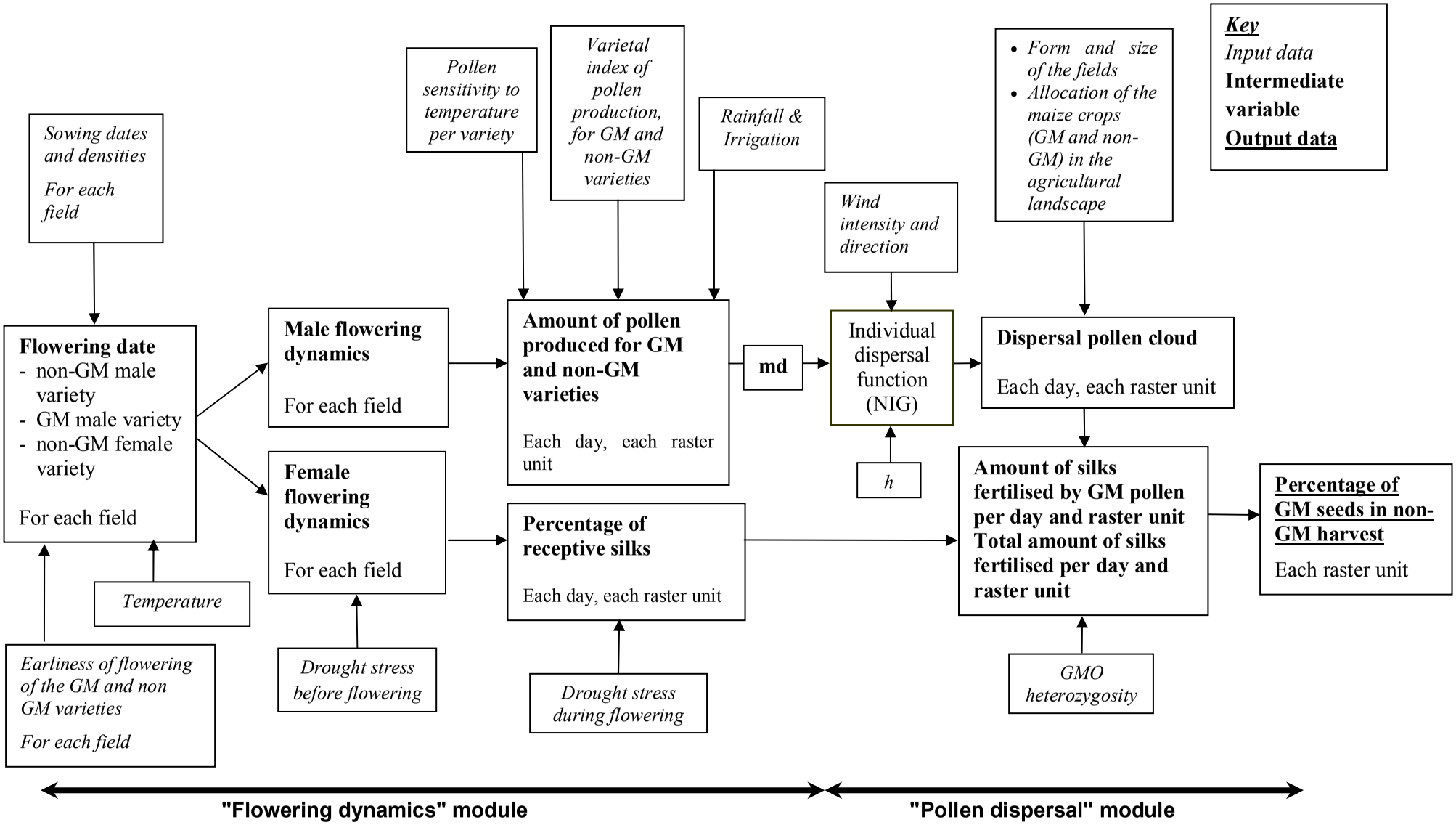


Figure 10: Structure du modèle MAPOD®

The daily climatic variables from sowing to the end of the flowering period are: minimum and maximum daily air temperatures, cumulative rainfall (r) as well as mean wind direction and intensity between 8:00 am and 4:00 pm, which corresponds to the pollen emission period (Jarosz *et al.*, 2003).
The featured outputs are the rates of GM and non-GM seeds per raster unit of the non-GM fields. Therefore, rates of GM adventitious presence can be computed per group of raster units and per field or part of the field.
A new version of the MAPOD® model is currently being programmed to take into account several GM and non-GM varieties in an agricultural landscape. This only necessitates minor changes in the overall model structure.

2.3 Structure of the model

Figure 10 presents a flowchart of the model which is composed of the flowering dynamics and pollen dispersal modules. The former one determines, on a daily basis, the amounts of pollen produced by GM and non-GM varieties respectively as well as the number of receptive silks for non-GM maize varieties. Factors affecting the viability of pollen and the receptivity of silks are taken into account. The latter module computes pollen dispersal over the simulated landscape. The composition of the pollen cloud in the air around the plants of each raster unit is therefore known on a day-to-day basis throughout the entire flowering period.

The flowering dynamics module

This module aims at simulating pollen production and number of receptive silks per day. This involves the calculation of (i) the onset of male and female flowering for all the maize fields; (ii) the male flowering dynamics for the GM and non-GM fields; (iii) the daily amount of efficient pollen emitted per raster unit and (iv) the female flowering for the non-GM fields as well as the number of receptive silks.

Female flowering onset

The date of flowering for each variety is the first day when the sum of daily growing degree-days (GDD), as of the sowing date, is above the precocity parameter of the given variety.
The growing degree-days are calculated for each day as:

$$GDD = \frac{T_{\min} + T_{\max}}{2} - 6, \qquad \text{(Eq. 1)}$$

Or 0 if $\frac{T_{\min} + T_{\max}}{2}$ is less than 6,

where T_{min} is the daily aerial minimum temperature and T_{max} is the daily aerial maximum temperature or 30°C if T_{max} is over 30°C. Indeed, for maize, the rate of development and the duration of the various growth stages are well defined in growing degree-days and are genetic characteristics (Durand, 1969 ; Derieux & Bonhomme, 1982, 1990). This makes it possible to translate earliness of flowering into a climatic indicator of the duration of the “sowing to female flowering” cycle.

Table 5: Protandry in the MAPOD® model (in days), for different combinations of drought stress (in rows) and plant densities (columns in 104 plants.ha^{-1})

Density	< 6	6< <9	> 9
Drought			
No stress	0	1	2
Moderate	2	3	4
Severe	3	4	5

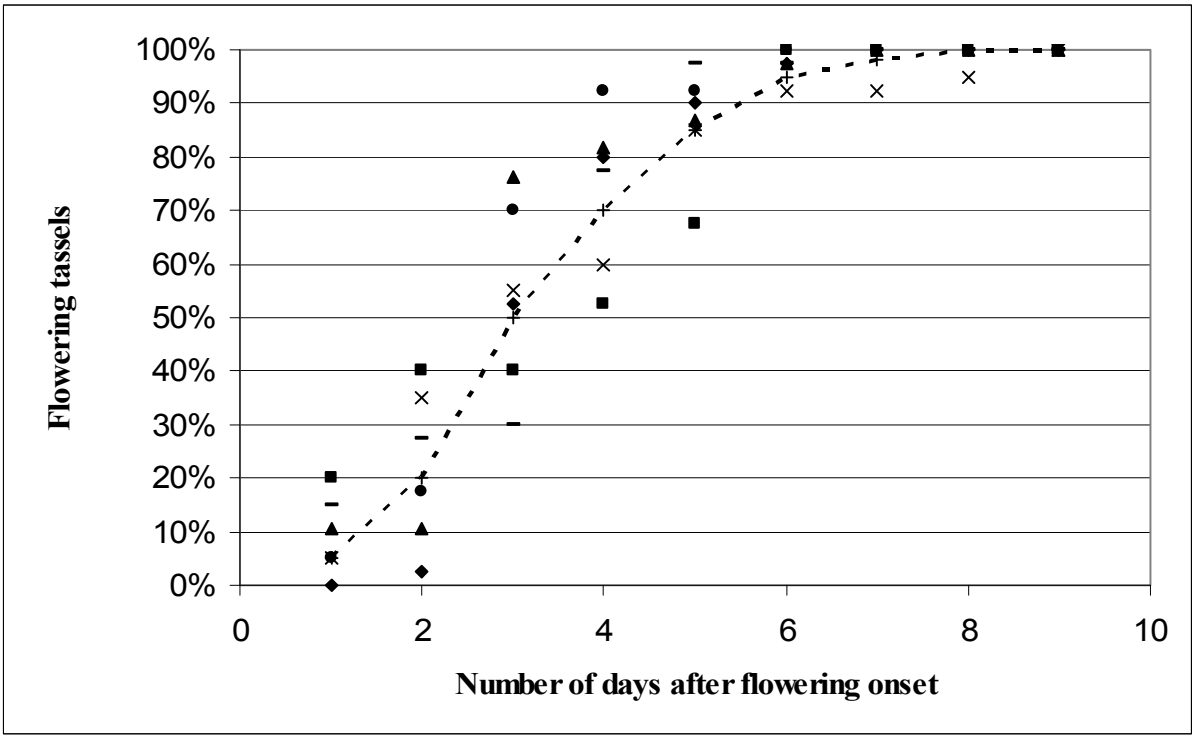


Figure 11: Male flowering dynamics observed in 40 plants of 6 different varieties (V1 to V6) and model included in MAPOD® (dotted line)

Symbols: ◆ = V1, ■ = V2, ▲ = V3, x = V4, - = V5, • = V6

Male flowering onset

The male flowering date is computed as the female flowering date minus the protandry score, which depends on sowing density (3 classes) and water stress (3 levels) given in Table 5.
Generally, maize is a protandrous species, *i. e.*, pollen shed begins several days before silking. The sowing density is known to affect this trait for non or little prolific hybrids. In one experiment with eight non-prolific hybrids, Boyat *et al*. (1984) observed an average protandry of 1.52 days for a low sowing density (5 plants/m²) and 2.38 days for a middle density (7.5 plants/m²). In a later study, the average protandry was 2.1 days for a low sowing density (6.5 plants/m²), 2.8 days for a middle density (9.5 plants/m²) and 4 days for high density (13 plants/m²) for three non-prolific hybrids (with various earliness of flowering) in two contrasted locations (Boyat *et al.*, 1990). Drought at flowering is also known to increase protandry (Du Plessis & Dijkhuis, 1967 ; Hall *et al.*, 1981 ; Herrero & Johnson, 1981). The latter authors have shown that, when their control hybrid had a protandry of 0.6 day, a moderate stress (-11 to – 16 bars) led to 3.8 days of delay and a severe one (-16 to -18 bars) to 4.5 days of delay.

However, selection over the last decades has led to introducing protogynous traits because yield is negatively correlated with protandry (Du Plessis and Dijkhuis, 1967; Hall *et al*., 1981; Boyat *et al*., 1984; Bassetti and Westgate, 1994). This is confirmed by data obtained from French registration trials carried out by GEVES[23] for 23 varieties in 2 locations (northern and southern France) over six years (1997 - 2002), with a plant density of 56,000 plants per ha and without drought stress (results not shown). The onsets of male and female flowerings were quasi simultaneous, i.e., the average protandry index was close to 0. Modelled protandry (Table 5) is a compromise between the results from literature and these data.

Flowering dynamics

Flowering dynamics, defined as the temporal dynamics of pollen and silk emissions, is modelled at the field scale, assuming that the field is grown with a single hybrid variety and does not present explicit heterogeneity of phenology. The computed field scale flowering dynamics result from a combination of intra plant flowering dynamics and the distribution of dates of flowering onset. In the intra-plant case, we used a male flowering period of 5 days with 2/3 of all pollen emitted during the two first days. Female flowering has the same duration, with about 2/3 of all silks emerging from the ear within 2 days. These values correspond to French production conditions (Guérin, *pers. Com.*). Close values were reported for duration of pollen emission in other contexts: 4 days (Bassetti & Westgate, 1994), and 7 days (Hsu & Peterson, 1991), with 2/3 of all pollen emitted in the first 2 or 3 days (Purseglove, 1972 ; Westgate *et al.*, 2003).

[23] GEVES: Groupe d'Étude et de Contrôle des Variétés et des Semences/French group for seed and variety study (http://www.geves.fr/)

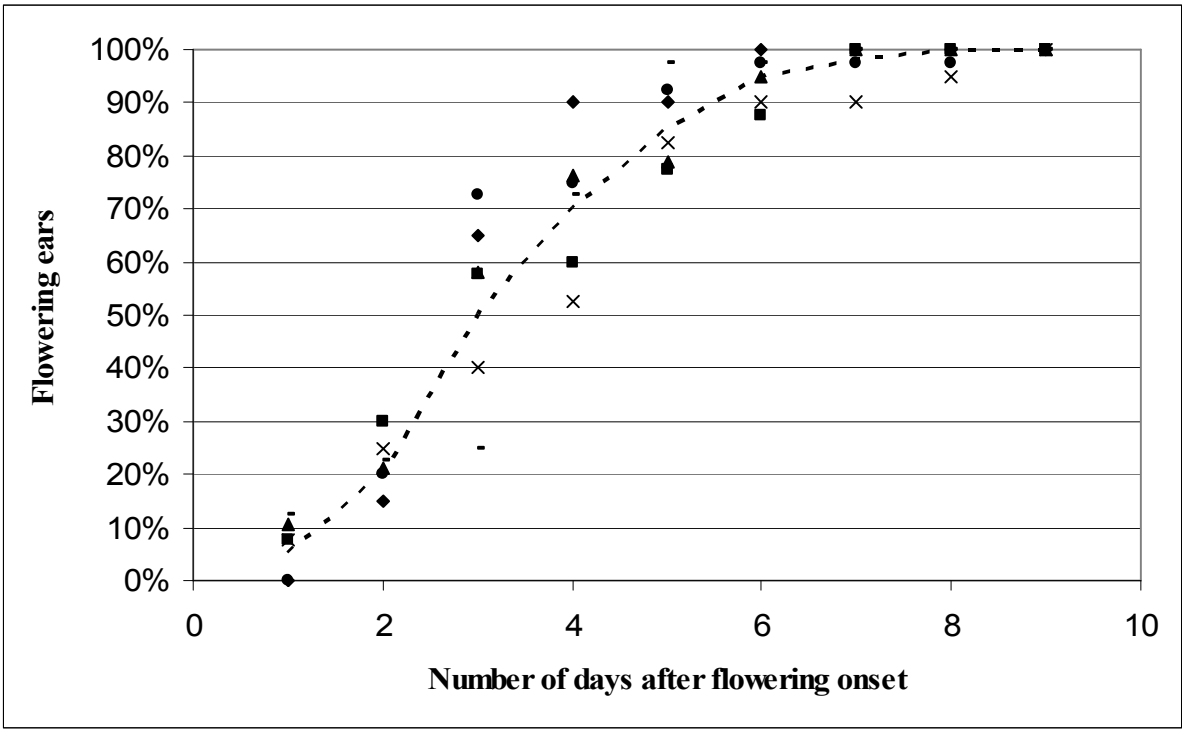


Figure 12: Female flowering dynamics observed in 40 plants of 6 different varieties (V1 to V6) and model included in MAPOD® (dotted line)

Symbols: ◆ = V1, ■ = V2, ▲ = V3, x = V4, - = V5, • = V6

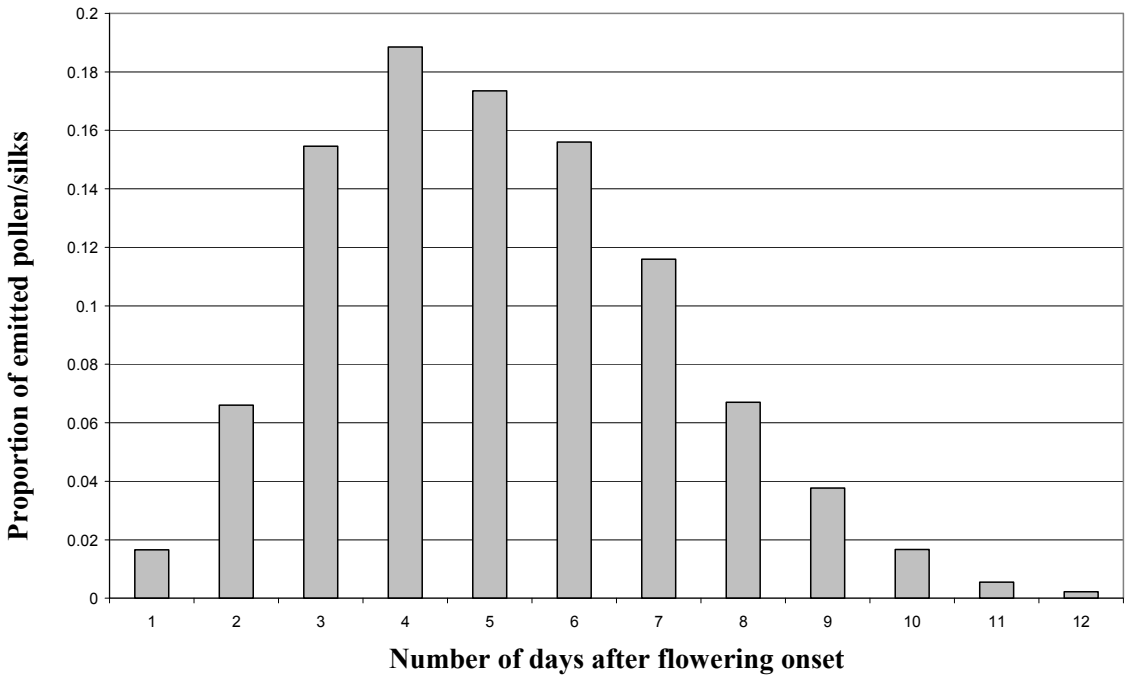


Figure 13: Flowering dynamics in the MAPOD® model

The variance in flowering date among plants within a field was modelled from measurements carried out for six varieties (40 plants each) in western France in 1999. Female flowering was defined as the emergence of first silks and male flowering as emission of anthers on the centre of the main tassel branch (CPVO, 2001). The range of flowering dates varied from six to eight days depending on varieties.

The length and shape of the dynamics were similar for male and female flowering. In the model, we used a rough average of the six varieties (Figure 11 and Figure 12). Finally, combining intra- and inter- plant dynamics, we obtained a flowering period of 12 days with a peak on the 4th day (Figure 13). These dynamics are consistent with literature: a 12- to 14-day pollination period with a flowering peak after 4 to 7 days (Girardin, 1990 ; Uribelarrea *et al.*, 2002 ; Jarosz *et al.*, 2003 ; Lizaso *et al.*, 2003).

Effects of climatic factors on pollen viability and silk longevity

Climatic and drought stresses affect pollen viability and silk longevity thus potentially modify the period of possible cross-pollination. The pollen is emitted each day according to the temporal dynamics defined above, and it is viable only for that day, unless rainfall exceeds 1 mm or the average day temperature is above 38°C for two days. In those particular cases, pollen is rendered ineffective and no pollination occurs. Similarly, silks emerge each day and are fertilised on the first day pollen is available (assuming pollen quantity is sufficient). However, silk longevity is limited to 7 days in absence of drought stress, 8 days if a drought stress occurs before flowering and 5 days if drought occurs during flowering.

Such modelling choices were based on numerous studies of pollen emission and viability. These studies indicate that maize pollen is only viable for a few hours after emission: from 2 (Luna *et al.*, 2001) to 5 hours at maximum (Aylor, 2004). The main factor causing pollen death is dehydration due to high air temperature (Lonnquist & Jugenheimer, 1943 ; Du Plessis & Dijkhuis, 1967 ; Herrero & Johnson, 1980, 1981 ; Schoper *et al.*, 1986 ; Bolanos & Edmeades, 1993) and/or low relative humidity (Lonnquist & Jugenheimer, 1943 ; Hsu & Peterson, 1991 ; Aylor, 2004 ; Fonseca & Westgate, 2005). Using 15 North American genotypes, Herrero & Johnson (1980) have shown that for some genotypes germination decreased when temperature increased. At the most, 6% of the emitted pollen remained viable when exposed to a temperature of 38° C for 48 hours.

Rainfall or irrigation inhibits pollen emission because the anther dehiscence is limited by the mechanical layer. Moreover, pollen grains burst if they land on wet silks (Gay, 1983). Drought stress has no impact on pollen emission and viability (Herrero and Johnson, 1981; Schoper *et al*., 1986) but does affect silks. Some authors (Herrero & Johnson, 1981 ; Schoper *et al.*, 1986 ; Bassetti & Westgate, 1993) have shown a decrease of silk receptivity under water stress. According to Bassetti & Westgate (1993), when there is drought stress as of the first 3-4 days following silk emergence, receptivity decreases by 40%, but silk longevity increases one day, to 8 instead of 7 days. In return, if the drought stress occurs 5 days (or more) after silk emergence, the growth of pollen-tube within the silk slows down and the tube can not reach the ovule before the constriction of silk basis (senescence).

Relative quantities of pollen emitted per area unit (md)

The parameter m_d is an output variable of the flowering dynamics module calculated on a day-to-day basis. It results from the density of sowing in non-GM fields relative to GM fields (*Dr*), the amount of pollen produced per non-GM plant relative to that produced per GM plant (*Q*), and the difference in phenology between the non-GM and GM varieties expressed as:

$$m_d = Dr \times Q \frac{P_{NT}(d)}{P_T(d)} \qquad \text{(Eq. 2)}$$

where $P_T(d)$ and $P_{NT}(d)$ are the fractions of pollen shed on day *d* for GM and non-GM varieties (Figure 13 accounting for flowering time lag).

The pollen dispersal module

Pollen dispersal is modelled in the framework of individual dispersal functions (Lavigne *et al.*, 1998) also known as dispersal kernels (Klein *et al.,* 2006). All units of pollen source (here cells of the grid) disperse pollen following the same dispersal function. This assumes that individual dispersal does not depend on the presence and positions of other pollen sources. The contributions of all pollen sources are computed at each given point of the grid to obtain the total amount of pollen received as well as the proportion of GM pollen received. Computations of pollen dispersal are not carried out on days with no viable pollen emission (due to temperature, rain or phenology).

The pollen dispersal function

For the individual function, we used a Normal Inverse Gaussian model (NIG) previously described in Klein *et al.* (2003) and given by:

$$NIG(\lambda_z,\lambda_x,\lambda_y,\delta_x,\delta_y;x,y) = \frac{\delta_x\delta_y e^{\lambda_z}}{(2\pi)} \frac{\left(q(x,y)^{-1/2} + p^{1/2}\right)}{q(x,y)} e^{-\sqrt{pq(x,y)}} e^{\delta_x\lambda_x x + \delta_y\lambda_y y} \quad , \qquad \text{(Eq. 3)}$$

with $p = \lambda_z^2 + \lambda_x^2 + \lambda_y^2$ and $q(x,y) = 1 + \delta_x^2 x^2 + \delta_y^2 y^2$, and where (*x, y*) is the pollination position in Cartesian coordinates relative to the emission position and $\lambda_x, \lambda_y, \lambda_z, \delta_x, \delta_y$ are parameters modulated by wind condition as follows:

$$\lambda_z = 0.027\frac{h}{0.831}; \qquad \lambda_x = 0.165\frac{h}{0.831}\frac{\mu\cos(\theta)}{2}; \qquad \lambda_y = 0.165\frac{h}{0.831}\frac{\mu\sin(\theta)}{2};$$

$$\delta_x = \delta_y = 0.499\frac{0.831}{h}.$$

The parameter *h* is the difference in height between the GM male flowers (h_t) and the non-GM female flowers (h_e), and (μ, θ) are the daily average wind speed and direction at ten meters high for each day.

These expressions for the parameters were deduced from (i) values for $\lambda_x, \lambda_y, \lambda_z, \delta_x, \delta_y$ estimated at $\lambda_z = 0.027$; $\lambda_x = 0.165$; $\lambda_y = 0$; $\delta_x = \delta_y = 0.499$ in a field-experiment where $h_0 = 0.831$, $\mu_0 = 2\text{ms}^{-1}$ at ten meters high and $\theta_0 = 0$ (grain production field in Klein *et al.*,

(2003)) and (ii) the quasi mechanistic nature of the NIG model (Klein *et al.*, 2003) that provides the following scaling relations between the parameters $\lambda_z, \lambda_x, \lambda_y, \delta_x, \delta_y$ and the physical parameters h, μ and θ

$$\lambda_z \propto h, \quad \lambda_x \propto \mu_x h, \quad \lambda_y = \mu_y h, \quad \delta_x \propto \frac{1}{h}, \quad \delta_y \propto \frac{1}{h},$$

where "∝" means "proportional to" and ($\mu_x=\mu cos(\theta)$, $\mu_y=\mu sin(\theta)$,) is the mean vector of wind speed in Cartesian coordinates.

Use of the individual dispersal function to compute daily pollen clouds

From the NIG individual function and the description of the position of GM and non-GM pollen sources in the landscape (see inputs of the MAPOD® model § 2.2) we compute for each day *d* the function π(*d*; *x*, *y*) that gives the proportion of ovules fertilized by a GM pollen at point (*x*, *y*). Because we assume no specific mechanism controlling the self-pollination it is given by (Klein *et al.*, 2006):

$$\pi(d;x,y) = \frac{\int_{(u,v)\in D_T} NIG(\theta_d;x-u,y-v)dudv}{\int_{(u,v)\in D_T} NIG(\theta_d;x-u,y-v)dudv + m_d \int_{(u,v)\in D_{NT}} NIG(\theta_d;x-u,y-v)dudv}, \qquad \text{(Eq. 4)}$$

with m_d the production of pollen of one cell of non-GM plants relative to that of one cell of GM plants, D_T the set of transgenic plants, D_{NT} the set of non-transgenic plants, and $NIG(\theta_d; x,y)$ the individual dispersal function defined above with $\theta_d = (\lambda_z, \lambda_x, \lambda_y, \delta_x, \delta_y)$, the parameters being computed for the wind conditions of day *d*.

Thanks to the matricial approach, we used an approximate computation of $\pi(d; x,y)$ calculating finite sums instead of integrals (see Klein *et al.*, 2006, for details):

$$\pi(d;k,l) = \frac{\sum_{(u,v)\in D_T} M_{NIG}(\theta_d,k-u,l-v)}{\sum_{(u,v)\in D_T} M_{NIG}(\theta_d,k-u,l-v) + m_d \sum_{(u,v)\in D_{NT}} M_{NIG}(\theta_d,k-u,l-v)} \qquad \text{(Eq. 5)}$$

where π(*d*; *k*, *l*) is the proportion of ovules fertilized by a GM pollen on day *d* in the k^{th}x l^{th} cell of the grid, and where M_{NIG} is a matrix that discretizes the individual function NIG over the chosen grid. On row *k* and column *l* (that can be negative or null), M_{NIG} is:

$$M_{NIG}(\theta_d,k,l) = \Delta_x \Delta_y NIG(\theta_d, k\Delta_x, l\Delta_y) \text{ If } (k, l) \neq (0, 0) \text{ and} \qquad \text{(Eq. 6)}$$

$$M_{NIG}(\theta_d,0,0) = \int_{-\frac{\Delta_x}{2}}^{\frac{\Delta_x}{2}} \int_{-\frac{\Delta_y}{2}}^{\frac{\Delta_y}{2}} NIG(\theta_d,u,v)dudv \text{ if } (k, l) = (0, 0). \qquad \text{(Eq. 7)}$$

Adaptation of parameters to various agro-climatic contexts

Wind direction and intensity

The daily computation of dispersal necessitates updating the NIG function to account for the average wind speed and direction of each day. These averages are calculated from wind data between 8:00 am and 4:00 pm, hours during which pollination occurs (Jarosz *et al.*, 2003).
The individual dispersal function was fitted to data from a field experiment with a mean wind over the flowering period of 2 ms^{-1} at ten meters high (Klein *et al.* 2003; Source: Météo France). MAPOD® includes a correction which allows using wind data either at 10 meters high or at the top of the maize canopy (~2 meters high). The commonly admitted wind profile function is used (Allen *et al.*, 1994):

$$U_2 = U_z \frac{\ln\left(\frac{z_2 - d}{z_{om}}\right)}{\ln\left(\frac{z_m - d}{z_{om}}\right)}, \qquad \text{(Eq. 8)}$$

with U_z mean wind speed measurements at height z (ms^{-1}), U2 mean wind speed measurements at 2m high (ms^{-1}), z_m the height of wind speed measurements (m), z_2 the standard height of wind speed measurements (2m high), d the zero plane displacement of wind profile (m) and z_{om} the roughness parameter for momentum (m). For a maize canopy this gives roughly $U_{10} = 2\ U_2$.

Heights of the ear and tassel

The NIG model is adapted to the particular case of maize because it takes into account the height difference between emitting tassels and receiving ears (Klein *et al.*, 2003). In field experiments, with a sole cultivar (Adonis), this difference was 0.831m. For registered varieties commonly grown in France, tassel height h_t varies from 2.14 to 2.89m and ear height (h_e) varies from 0.74 to 1.3m (source: GEVES, measurements during registration tests, CPVO, 2001). We expect the height difference, $h=h_t-h_e$, to be variable enough to affect the pollen dispersal process and it is therefore a cultivar-dependant input parameter the user must provide MAPOD® with.

2.4 Model evaluation

To assess the overall quality of MAPOD® and its capacity to provide accurate quantitative predictions under various climatic and agronomic conditions, an evaluation of the model was carried out by comparing results from simulations with data from one American and two French gene flow field experiments.

Table 6: Comparison between observed and simulated percentages of cross pollination for three field experiments with discontinuities

Table 6a: Stillwater experiment in 1999 (Jemison & Vayda, 2001)

Sampling position (distance from the emitter, direction	**Observed percentage of survival**	**Simulated values**	
		SW Wind: 2m/s	**Wind recorded at Bangor (Maine) during flowering in 1999**
30m E	1.04%	0.512%	0.521%
35m E	0.11%	0.322%	0.310%
40m E	0.03%	0.303%	0.277%
Field average	0.393%	0.379%	0.369%
350m SW	0	1.21E-27%	4.56E-5%

Table 6b: Montargis experiments in 2000 (Klein* et al.*, 2002)

Proportion of blue grains	**Field with clover**	**Field with sunflower**	**Simulation result (main wind: SW/W)**
In the 50 x 120 m downwind from the blue plot	0.17%	0.19%	0.10%
In the 5 x 120 m downwind from of the blue plot	0.77%	0.53%	0.19%
In the remaining 45 x 120m	0.04%	0.06%	0.09%

2.4.1 Data sets used for validation

Stillwater trial (Jemison & Vayda, 2001)

MAPOD® outputs were at first compared with measurements recorded in 1999 in Stillwater (Maine, USA). The field plan is described in Jemison and Vayda (2001). The experiment involved one 3,454m² source plot sown with Roundup-Ready maize and two 282m² receptor plots sown with conventional hybrid maize situated respectively 30m E and 350m SW of the source plot. Prevailing winds during the pollen dispersal period were predominantly southwesterly (Jemison & Vayda, 2001). In a first set of simulations, we computed an average wind intensity over the entire flowering period with data recorded at Bangor airport (Maine; source: www.wunderground.com). In a second set of simulations, we used the daily wind information for the same period provided by the same source.

Montargis field experiments (Klein* et al.*, 2002)

The MAPOD® outputs were also compared with measurements recorded in 2000 during two field experiments at Montargis (Center of France). Two fields, 120 x 160m and 120 x 240m, were involved. Each field had a 20m x 20m central plot sown with a maize line homozygous for the blue colour of the grain (Klein *et al.*, 2002). This marker behaves as a dominant one and is expressed in the grain after pollination. These two central plots were surrounded by a 50m space sown with clover (120 x 240m field) and sunflower (120 x 160m field). The remainder of each field was sown with an isogenic line of yellow maize. Meteorological measurements were recorded from 6th July to 2nd August 2 meters above the clover patch. A SW/W wind predominated with a variable intensity (1.3 ms^{-1} average between 17th and 22nd July and 0.53 ms^{-1} between 23rd July and 2nd August). 8,195 and 5,351 ears were sampled in the fields sown with clover and sunflower respectively following a regular grid of 2m x 1.6m. A much denser sampling was taken in the first five meters of the inside borders of the yellow maize plot (mesh size: 0.45m x 1.6m). The number of blue grains on each ear was counted. To forecast cross-pollination rates with MAPOD®, we used the actual flowering dynamics and pollen quantities, measured over the entire dispersal period in both fields.

Three cross-pollination rates were calculated: (i) over the first 50 x 120m downwind from the central plot of blue maize, (ii) over the first 5 x 120m downwind from the central plot and (iii) over all the remaining yellow maize excluding the first rows (Table 6b).

2.4.2 Comparison of observed and simulated cross-pollination rates

To validate MAPOD®, proportions of grains fertilized by pollen from emitting plots were predicted for each sampling point and then averaged over all sampling points. Overall, for all three experimental fields, the predictions agreed well with the observations, foreseeing the correct order of magnitude (Table 6). However, we observed an underestimation of cross pollination in the first rows after the discontinuity facing the receptor plot and an overestimation in the following rows. We have pinpointed what gave rise to this: that is due to the fact that MAPOD® does not model any effect of canopy discontinuities on pollen transport, which is equivalent to assuming that discontinuities between fields are full of sterile maize plants.

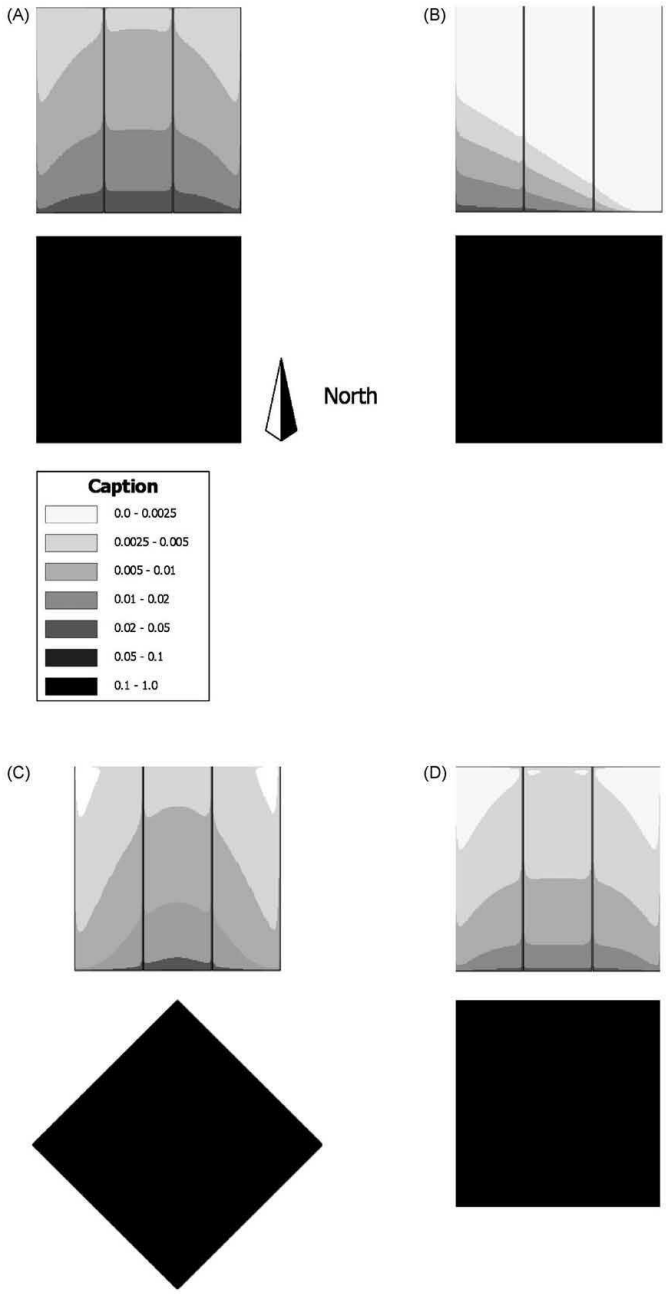


Figure 14: Maps indicating the rate of GM adventitious presence in maize harvest, simulated by MAPOD® for different agronomic and environmental conditions. The GM and non-GM field surfaces and the distance between field barycentres (in metres) are the same in all cases.

A: Base simulation: three non-GM fields (top, 4 ha in all) downwind from a 4 ha GM field (bottom)
Windspeed: 4 m s^{-1} over the entire flowering period, Direction: south to north – same earliness of flowering
B: Impact of wind direction on rates of adventitious presence
Windspeed: 4 m s^{-1} south east to north west - same earliness of flowering
C: Impact of plot shape on the rate of GM adventitious presence
Windspeed: 4 m s^{-1} over the entire flowering period, Direction: south to north – same earliness of flowering
D: Impact of time lag of flowering on the rate of GM adventitious presence
The non-GM variety flowering 2 days before the GM one; Windspeed: 4 m s^{-1} over the entire flowering period, Direction: south to north

When these first rows were set aside, cross-pollination rates were correctly predicted by the model in the Montargis experiment (Table 6b). Receptor plots were too small in the Stillwater trial for disentangling border effects. Further evaluation is ongoing within the framework of the European project SIGMEA, based on large scale field observations under various landscape patterns as well as under various climatic and agronomic conditions.

2.5 Examples of outputs

MAPOD® was used to illustrate the effects of spatial design on the GM adventitious presence rates in three fields (4 ha in total) cross pollinated by a 4-ha GM maize field with a 50-m gap in between (Figure 14). In the base simulation (5A), both varieties, with the same earliness of flowering, were sown on the same date and taken to produce the same amount of pollen. The GM variety was heterozygous, and wind speed throughout the flowering period was set at 4 $m.s^{-1}$ in a constant direction (south to north). The rates predicted here roughly agree with rates given in the literature, (e.g., Goggi *et al.*, 2007). They might be somewhat overestimated between 150-200m where <0. 1% has generally been observed (Halsey *et al.*, 2005 ; Goggi *et al.*, 2007), which could be due to the perfect synchrony, the unique main wind direction and the high wind speed we set here (14.4 km/h on average). This illustration shows the importance of the effects of both distance from the source and wind direction, which created asymmetry in the pattern of GM adventitious presence in the three receiving plots.

In a second simulation, we found that accounting for changes in wind direction (southeast to northwest – Figure 14B) largely modified the dispersal pattern. Values presented here are also consistent with rates observed in Goggi *et al*. (2007), who found rates below 0.01% beyond 100m in the direction perpendicular to the wind (E direction). In the third simulation (Figure 14C), the area of the emitting field and the distance between the barycentre of the plots were the same as in Figure 14A. The noteworthy change in dispersal pattern shows the importance of taking into account not only the size and relative position of the emitting and receiving fields but equally the shape.

Finally, we examined the effect of time lag between flowering periods of GM and non–GM varieties (Figure 14D). Separating flowering times is one option offered maize seed producers in seed production schemes in France (GNIS, 2003). This practice appears to be very efficient in limiting GM adventitious presence in non-GM harvest (Halsey *et al*., 2005). This is accurately reflected in the MAPOD® model since it predicted pollination rates roughly divided by two in the direction of the wind for a 2 day-time lag much like Halsey *et al.* (2005) who observed a reduction by a factor of 2 to 3 for a 1 week-time lag. This could be of special interest in agricultural landscapes where the percentage of maize crops is high and consequently, where isolation distances are difficult to implement. The separation of flowering times can be achieved by providing a choice of varieties differing in earliness of flowering, or by differing sowing dates. The latter might be less efficient: due to rainy days, available days for sowing could be limited, or due to a period of high temperatures, flowering times could be synchronised. The feasibility of a time lag between flowering periods would however require a case-by-case analysis (including coordination between farmers, range of

Figure 15A:

10% of maize varieties are GM

Figure 15B:

50% of maize varieties are GM

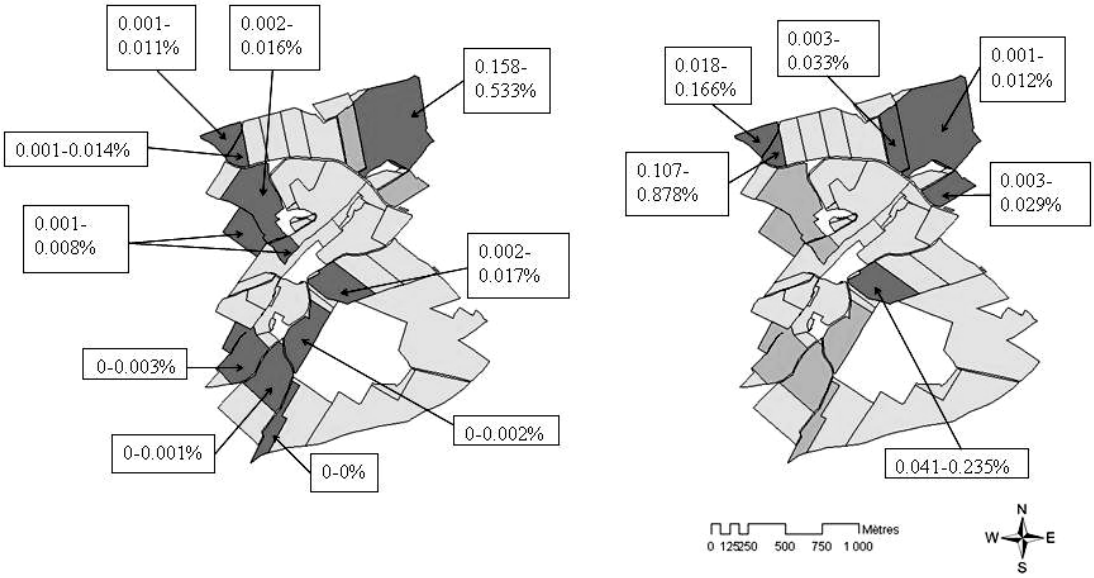


Figure 15: Proportions of GM adventitious presence simulated by MAPOD® in an actual agricultural landscape (expressed in %).

For each non-GM field, the minimum and maximum average cross-pollination proportions from GM fields over 8 climatic scenarios are indicated.

Map: Courtesy of the Institute for the Protection and Security of the Citizen, Joint Research Centre of the European Union and AUP-ONIGC - ex ONIC (Office National Interprofessionnel des céréales/French Interprofessional agency for cereal crops)

Dark grey: non-GM maize variety

Grey: GM maize variety

Light grey: other crops

White: non-cultivated area

choice for maize varieties in a given region, importance of the potential yield losses for the earliest variety, and the actual possibility of differing sowing dates).

Real production contexts were simulated using MAPOD® to evaluate co-existence in agricultural landscapes (fully investigated in Messéan *et al.*, 2006). Figure 15 represents an actual agricultural pattern involving 416 ha and composed of 36 fields. Simulation givens are the same as for the base case in Figure 14A, except for wind intensity (3 $m.s^{-1}$) and direction. Eight wind directions were tested according to the main wind directions recorded in this region. Minimum and maximum cross-pollination rates are indicated in Figure 15 for each non-GM field. MAPOD® can test the impact of crop allocation (dispersed fields vs. clustered) or various percentages of GM variety in the landscapes (Messéan *et al.*, 2006) on GM adventitious presence in non-GM harvests. As the algorithm is run for each spatial unit of the field pattern, it is possible to calculate global GM adventitious presence in a given field harvest or only in a part of the field (border or, on the contrary, field after the removal of the borders). Therefore, MAPOD® can simulate the impact of isolation distances, discard width, and non-GM buffer zones around GM fields (See Table 7 for an example). The results obtained are consistent with quantitative results from Halsey *et al*. (2005) that concluded that distances >500m are necessary to guarantee rates under 0.01% between synchronous fields and that two weeks of temporal separation (i.e., almost no overlap) are necessary for close fields.

It is also possible to evaluate the percentage of GM seeds in the overall harvest of several maize fields in an agricultural landscape, simulating in this way the rate of purity of batches supplied to a collecting and storing organism. Based on this work, global strategies of crop management and allocation decided at the level of the collecting areas have been designed to respect different purity thresholds from sowing to silo (Meynard & Le Bail, 2001 ; Angevin *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2006).

2.6 Discussion

MAPOD® is a spatially explicit simulation model of maize pollen dispersal. This model includes the main processes influencing rates of cross-pollination, namely distribution of maize fields over the landscape, weather conditions (wind, temperature and rain) and flowering phenology depending on climatic and agronomic factors. Simulations are run on a daily basis from sowing to the end of pollination over rasterised landscapes ranging from a simple 2-field situation to a complex agricultural landscape covering several km².

The model was specifically designed as a tool for decision support in coexistence studies at these scales. As a consequence, the model had to (i) use readily available input data; (ii) explicitly include the effect of agricultural practices; (iii) be adapted to a diversity of agro-climatic contexts and, (iv) require minimal computation time.

These standards were met in the pollen dispersal module by choosing an intermediate approach between empirical and physical models (Lavigne *et al.*, 2004). The former approach consists in fitting simple mathematical functions to experimental data but their parameters have no biological or physical meaning and they are therefore difficult to extrapolate to other agro-climatic contexts (Bateman, 1947b ; Gliddon, 1999 ; Funk *et al.*, 2006).

Table 7: Examples of coexistence strategies in a given context

Hypothesis for simulations: GM variety is homozygous; Non-GM field (4 ha) is downwind from GM field (4 ha), Mean wind speed over the entire flowering period: 4 m s^{-1}, (risky situation), No GM impurities in seed lots.

Required thresholds	Distance between plots	Proposed strategies
5% (Threshold for existing segregated maize productions)	Contiguous fields	Synchronous flowerings are possible if there is a 15m discard width for the adjacent side of the non-GM field
0.9% (Labelling threshold)	Contiguous fields	Four-day time-lag of flowering
	100m isolation distance	GM and non-GM varieties with the same earliness of flowering
0.1% (PCR quantification threshold)	Contiguous fields	Six-day time-lag of flowering
	400m isolation distance	GM and non-GM varieties with the same earliness of flowering
0.01 % (PCR detection threshold)	Contiguous fields	No flowering overlap between GM and non-GM fields
	200m isolation distance	Six-day time-lag of flowering

On the contrary, mechanistic or physical models represent physical phenomena describing the flow in which pollen grains are dispersed as well as the conditions of their emission transport and deposition (McCartney & Fitt, 1985 ; Loos *et al.*, 2003 ; Jarosz *et al.*, 2004 ; Dupont *et al.*, 2006). These models are very informative but include many parameters, some of them being difficult to assess. They require numerous input data, and are often costly in computation time. Given this context, the approach we chose could be qualified as quasi mechanistic: only the major phenomena are modelled in a simple form while the parameters with a biological/physical meaning were estimated from field experiments (Klein *et al.*, 2003). This approach combines simplicity of use and adaptability to different agroclimatic contexts. We illustrated here that this robust approach provides quite satisfactorily values of cross-pollination rates at the field scale, both in the case of precise comparisons with the three experimental fields, and in the case of rough comparisons with the literature at various scales. However, the specific effect of canopy discontinuities (such as other crops, hedges or roads) on pollination patterns at field edges was not well accounted for. Indeed, we assumed that all plants have the same dispersal function whatever their position in the field although aerobiology differs at field edges and according to different soil occupancies. Recent results have confirmed the marked pattern of increased adventitious presence in the first few meters of a field (Bannert & Stamp 2007; validation experiments presented here). The underestimation of this pattern by MAPOD® might be an issue for crops where seeds are not mixed at the field scale (e.g., sweet corn). When seeds are mixed, this should be less problematic thanks to the dilution effect, especially for large fields and for fields upwind or far from the closest GM pollen donor (Bannert & Stamp, 2007). The analysis of ouputs of physical models precisely simulating a set of spatial configurations is underway to determine simple parameterisation of these features and to integrate them into MAPOD®.

Choices made for the phenology module were also guided by the four standards listed above. The beginning of the flowering period is determined by the sum of degree-days from sowing, computed from air temperatures which are readily available from numerous weather stations. Even though soil temperature has been found more relevant (Brisson *et al.*, 1998), it is not readily accessible. We chose not to take into account the impact of nitrogen starvation because its effect on maize development is limited (Girardin *et al.*, 1987). The beginning of flowering is the characteristic of flowering dynamics the most sensitive to variations in climate (either between regions, or within the context of global warming). Because MAPOD® computes the beginning of flowering from meteorological data on a day-by-day basis it is thus adapted to investigate the sensitivity of cross-pollination rates to overall variations of climatic conditions using either meteorological data from contrasted regions within a single country or within European countries, or using forecasted meteorological data from climatic scenarios.

Predicted cross-pollination rates (CPR) in the landscape mainly depend on daily weather: wind influences pollen dispersal while rain and temperature influence pollen viability. Errors in the simulated phenologies are expected to be of little consequence if the weather conditions are constant over the flowering period, but in the case of unstable weather conditions an error

of a sole day during the period when most pollination occurs may have a large impact on the predicted rate of impurity in harvest. A preliminary sensitivity analysis, (results not shown) based on 10 fields in which CPR were measured showed that a two-day lag error in the computed beginning of flowering might result in dramatic over- or under-estimation if wind direction is unstable (Gauffreteau, *pers. Com.*). Further sensitivity analyses are needed to evaluate more precisely the sensitivity of CPR to phenology and dispersal.

We needed a quantitative shape for the MAPOD® flowering dynamics because cross-pollination rates highly depend on the quantitative dynamics of pollen and silk emission (Bateman, 1947b). We mostly based our flowering dynamics on empirical data (consistent with recent studies performed in contrasted environments, Uribelarrea *et al*, 2002; Lizaso *et al.*, 2003; Jarosz *et al.,* 2003). This was preferred to existing maize flowering modules included in crop models that do not take into account flowering dynamics but only consider stages linked to a change in growth or plant morphology (Stapper & Arkin, 1979 ; Jones & Kiniry, 1986 ; Brisson *et al.*, 1998).

The shape of flowering dynamics we used assumes that meteorological data and environmental conditions do not affect it. Flowering duration has been shown to decrease with increasing temperature (Uribelarrea *et al*, 2002 for pollen emission; personal observations in France for silks). Were a wider range of climatic conditions to be considered, we would need to take them into account. Modelling of cross-pollination will benefit from further investigation of within-field heterogeneity as well as from pollen and silk fertility at the very beginning and end of flowering. Some authors have shown that late emerging silks could not be pollinated in some cases (Carcova *et al.*, 2000 ; Lizaso *et al.*, 2003).

The first comparison of available experimental data and outputs of the MAPOD® model is encouraging. An indirect evaluation was also performed by simulating the French seed production rules with the model. These simulation results are consistent with the rates of impurities measured in commercial seed lots. The effect of sowing male sterile maize rows to diminish risks of cross-pollination, which was empirically tested as efficient by seed growers, appears to be correctly simulated (See Messéan *et al.*, 2006, for details). Further evaluation of the overall predictive quality of the model is on-going within several real agricultural contexts of GM commercial releases in Spain.

Although we described the model in its most complete form (computation of flowering dynamics using real climatic datasets), other applications of MAPOD® exist. In a prospective approach, it can rank agricultural practices (those presently used or new ones to be proposed), according to GM adventitious presence risk, by using historical climatic data and generic maps of maize occupancy in agricultural landscapes as input data. In a planning approach, a particular distribution of maize fields that would minimize the cross-pollination rates in a given landscape may be determined by running the model with climatic data typical of the region while varying spatial distributions. In evaluation or diagnosis approaches, the cross-pollination rates observed among fields in a defined configuration can be compared with those predicted by the model using the actual climatic data or the actual flowering dynamics collected from highly instrumented experiments.

Table 8 : Descriptif des projets et expertises dans lesquels MAPOD® a été amélioré/utilisé

Projet	Financeur	Durée	Type
Pertinence et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM	Ministère de l'Agriculture, DGAL	1999-2001	Expertise
Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture	Commission européenne - IPTS	2000-2001	Expertise
Modélisation de la dispersion du pollen : application à la gestion des cultures de maïs à l'échelle du parcellaire ou de la région agricole	CTPS	2002-2005	Projet de recherche
New case studies on the co-existence of GM and non-GM crops in European agriculture	Commission européenne - IPTS	2004-2006	Expertise
Modélisation de la dispersion de transgènes à l'échelle de paysages agricoles	Ministère de la Recherche « Impact des OGM »	2004-2006	Projet de recherche
Évaluer la relation entre modes de contrôle de gestion inter-firmes et organisation de la chaîne logistique amont dans les stratégies de séparation des filières OGM et non-OGM	Ministère de la Recherche « Impact des OGM »	2004-2007	Projet de recherche
Sustainable Introduction of GM crop into European Agriculture (SIGMEA) – Workpackage 4 : Modelling the fate of transgenes at the landscape level	Projet européen du sixième programme cadre	2004-2007	Projet de recherche
Co-existence and traceability (Co-Extra)	Projet européen du sixième programme cadre	2005-2010	Projet de recherche
Gérer la COexistence chez le Maïs : Apports d'une Approche Pluridisciplinaire (GCOM2AP)	Agence Nationale de la Recherche	2007-2010	Projet de recherche
Modélisation de l'Allocation Spatiale des Cultures OGM à l'échelle des Territoires (MASCOTE)	Agence Nationale de la Recherche	2008-2011	Projet de recherche
Coexistence des filières OGM/non-OGM	Haut Conseil des Biotechnologies	2010-2011	Expertise
PRactical Implementation of Coexistence in Europe (PRICE)	Projet européen du septième programme cadre	2011-2014	Projet de recherche

2.7 Conclusion

MAPOD® is an annual model to estimate pollen flow between maize crops. This type of decision support model is of use for actual deliberation to determine coexistence rules (CE, 2003a ; Messéan *et al.*, 2006), and this type of approach should be encouraged because, for allogamous species, gene exchange can occur between fields a hundred to thousands of metres apart (Rieger *et al.*, 2002). Because many fields and their spatial organisation must be considered, experimentation under field conditions is complicated and expensive. Computer simulations are less costly and dramatically increase the number of configurations it is possible to investigate. Moreover, such a gene flow model is of interest not only for the introduction of GM varieties into cropping systems but also for defining production rules for coexisting supply chains handling the same species but producing different qualities of products (for example sweet or waxy maize). It can also be used for assessing effects of more general changes in environmental conditions, soil occupancies or farming practices.

2.8 Évolutions du modèle

Conçu à partir de références existantes pour répondre à une demande ponctuelle d'expertise, MAPOD® a ensuite évolué selon un processus dynamique non linéaire qui reflète d'une part, la teneur différente des demandes d'évaluation sur la faisabilité de la coexistence et d'autre part, l'acquisition de nouveaux résultats sur les processus (notamment ceux pour lesquels des lacunes avaient été identifiées lors de l'évaluation du modèle, cf. § 3). En ce sens, le processus de conception et d'évolution du modèle MAPOD® ne correspond pas au « schéma classique » tel que celui mis en œuvre pour d'autres modèles (Brisson *et al.*, 1998 ; Colbach *et al.*, 2001b, a ; Brisson *et al.*, 2002 ; Sester, 2004) :

- Analyse de l'existant et définition des données manquantes
- Expérimentations pour la paramétrisation
- Modélisation, vérification de la cohérence du modèle
- Validation
- Utilisation

Cette section se focalise sur les évolutions des fonctionnalités de MAPOD® depuis sa conception. Une chronologie est détaillée dans la Figure 16 et un récapitulatif des projets à l'origine des différents acquis et des utilisations est fourni dans la Table 8.

Le modèle était initialement programmé en Matlab® et permettait de simuler des dispositifs multiparcellaires ayant des formes géométriques simples. Les caractéristiques des variétés étaient définies pour les champs OGM et non-OGM sans individualisation des cultivars. Une première évolution a consisté à adapter le modèle au contexte particulier des dispositifs de production de semences (Cf. 1.3) lors de la réalisation d'une expertise pour l'IPTS[24] (Messéan *et al.*, 2006). Ces travaux (Cf. § 4.1) ont aussi mis en évidence la nécessité de pouvoir caractériser plusieurs variétés sur un parcellaire ainsi que le besoin de compatibilité avec les

[24] IPTS : Institute for Prospective Technological Studies

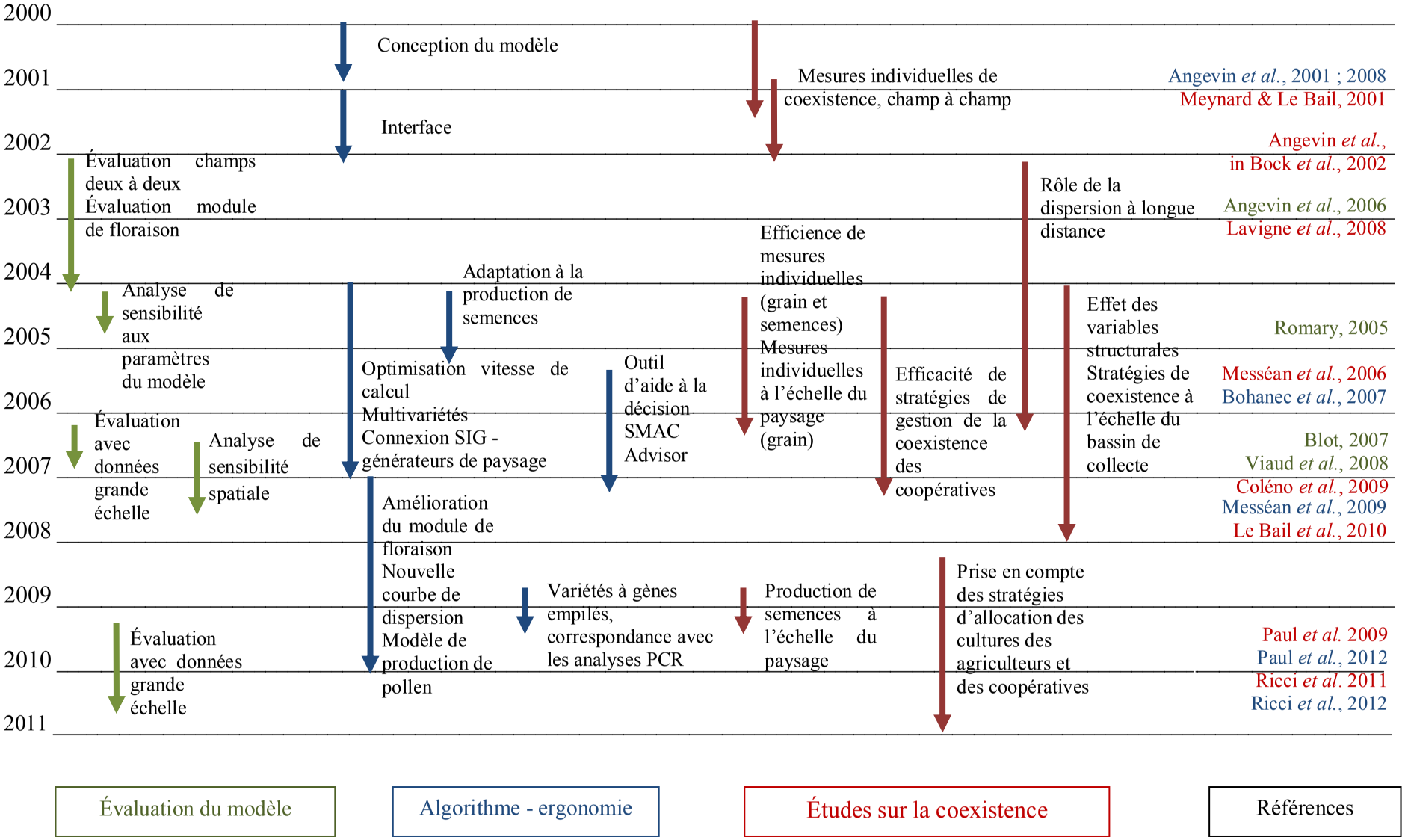


Figure 16 : Chronologie de la conception et de l'évolution du modèle MAPOD®

systèmes d'information géographique (SIG) pour être à même de gérer de façon simple non seulement les données d'entrée (parcellaires et assolements) mais aussi celles de sortie. Ce type de logiciel permet non seulement de produire des cartes de risques de pollinisation croisée mais aussi d'organiser les résultats obtenus à la parcelle afin de les agréger pour simuler les mélanges dans un silo[25].

Ces évolutions du modèle ont été réalisées dans le cadre du projet européen SIGMEA à l'occasion de la mise au point de la plate-forme LandFlow-gene[26]. Ce projet comportait un programme de travail, dont j'assurais la coordination, dédié à l'amélioration de l'ergonomie et de l'algorithme des modèles de flux MAPOD® et GeneSys®. Concernant le premier point, la gestion des données d'entrée et de sortie spatialisées a été mutualisée (Cf. Figure 17), et la connexion avec des modèles de paysage (Le Ber *et al.*, 2009) et d'assolement (Castellazzi *et al.*, 2010) assurée. Afin d'améliorer la précision du module de floraison, selon la teneur de l'information recueillie, pour l'initiation de ce module, il est possible de rentrer des dates et densités de semis et des précocités de floraison pour chaque champ ou des dates de début floraison mâle et femelle mesurées. Les simulations peuvent être réalisées avec la dynamique de floraison incluse dans le modèle ou en saisissant des pourcentages d'émission de pollen/de soies afin de tester des dynamiques théoriques (voir chapitre suivant) ou d'utiliser des mesures au champ.

Un mode « batch » a été programmé afin de lancer de façon automatique de grandes séries de simulations. L'amélioration de l'algorithme a consisté en l'optimisation des vitesses de calcul, la prise en compte de plusieurs variétés, la possibilité de connaître la contribution de chaque champ émetteur au taux de présence fortuite d'un champ récepteur.

Lors du projet GCOM2AP (Cf. Table 8)[27] dont le but était d'améliorer le modèle vis-à-vis de (1) la dynamique de floraison et (2) la prise en compte des hétérogénéités du paysage, grâce à l'utilisation de modèles physiques de dispersion du pollen, une courbe de dispersion visant à mieux prendre en compte certaines caractéristiques du vent a été établie et implémentée dans une nouvelle version du logiciel, ce qui a permis de l'évaluer grâce à des données recueillies dans de réelles conditions de coexistence (Cf. 3.5).
Par ailleurs, afin d'améliorer la précision de l'estimation de la pression pollinique (Cf. Figure ***10***), paramètre auquel MAPOD® est sensible (Romary, 2005), un modèle de prévision des quantités de pollen émises en fonction de variables d'architecture de la panicule a été mis au point à partir d'expérimentations spécifiques que j'ai conçues et dont j'ai assuré la supervision (Ricci *et al.*, 2012).

Ce travail a été concomitant de celui effectué dans le cadre du projet européen Co-Extra et qui visait à adapter MAPOD® à l'unité de quantification des OGM préconisée par la recommandation de la Commission (CE, 2004), c'est-à-dire le pourcentage d'ADN génétiquement modifié. Ce pourcentage est défini comme le « nombre de copies d'ADN

[25] Ce type de sorties sera utilisé par la suite dans le projet « Impact des OGM » (2004-2007) pour tester l'efficacité de diverses stratégies de ségrégation OGM/non-OGM pouvant être mises en place par des coopératives (Coléno *et al.*, 2009 ; Cf. 4.3).
[26] Codée en C++ et en Python
[27] J'ai coordonné ce projet pendant quatre ans.

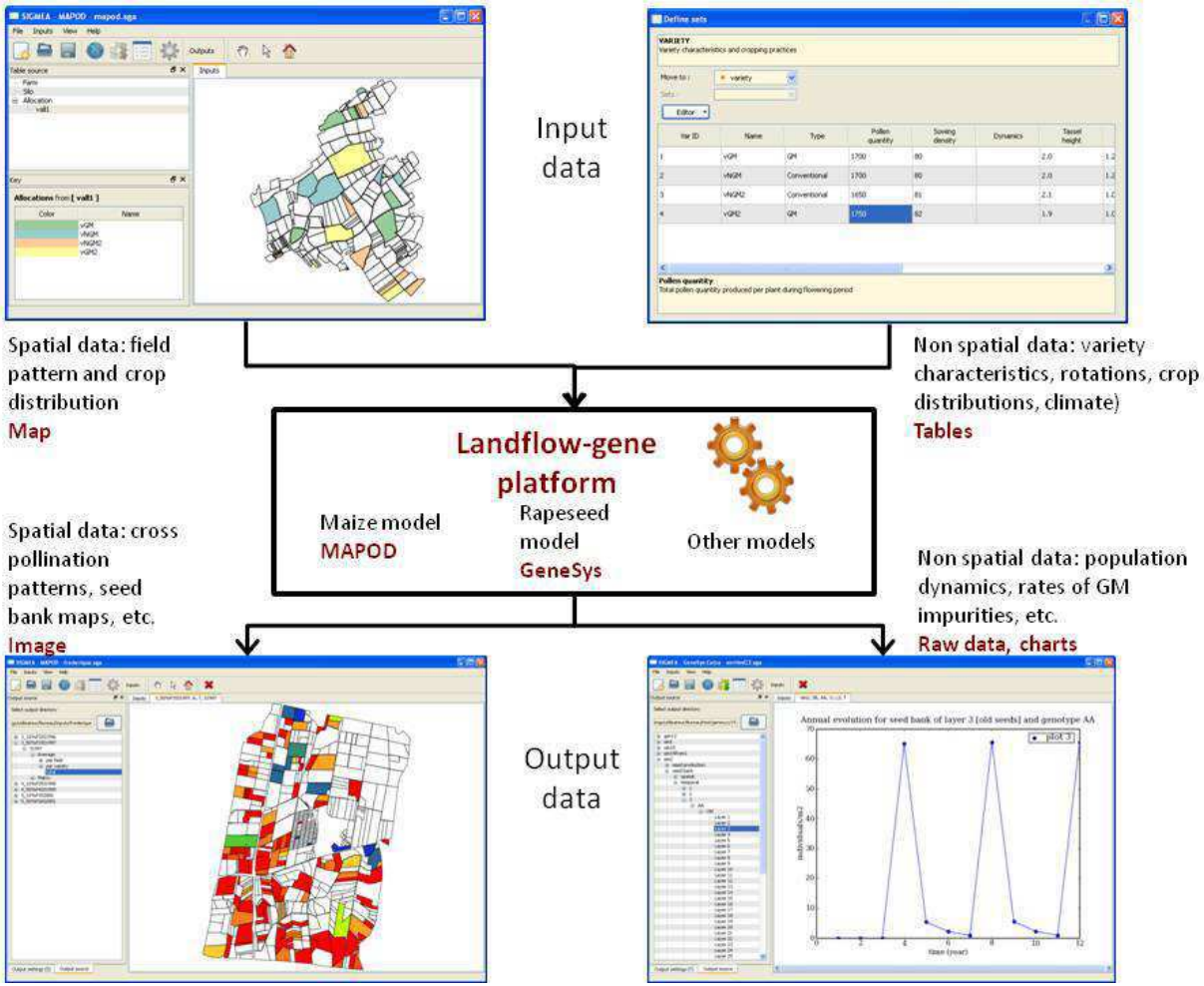


Figure 17 : Structure de la plate-forme de modélisation LandFlow-Gene.
Landflow-Gene utilise comme données d'entrée de l'information spatialisée (parcellaires avec allocation des cultures) mais aussi des informations relatives aux itinéraires techniques (dont les caractéristiques des variétés) et au climat afin d'estimer la proportion de d'OGM dans des productions non-OGM. Les résultats peuvent être obtenus à l'échelle du champ (taux moyen de présence fortuite) ou à l'échelle de sous-unités (présence fortuite intra-champ).

génétiquement modifié rapporté au nombre de copies d'ADN spécifique du taxon cible, exprimé en pourcentage et calculé sur la base des génomes haploïdes ».
Les essais utilisés pour la mise au point du modèle ont été réalisés antérieurement, avec des variétés homozygotes pour un marqueur phénotypique (Klein *et al.*, 2003).

MAPOD® était donc valide pour des variétés portant une ou deux copies d'un transgène. Sa donnée de sortie est un pourcentage de grains portant un transgène. Le choix de raisonner en quantité d'ADN plutôt qu'en nombre de grains a des conséquences importantes sur le respect du seuil de tolérance légal. Il nécessite de prendre en compte la structure génétique des espèces végétales et la nature exacte des constructions génétiques introduites (Trifa & Zhang, 2004 ; Holst-Jensen *et al.*, 2006 ; Zhang *et al.*, 2008). S'il a été possible de transformer à l'aide d'une constante multiplicative le nombre de grains en résultats PCR (Messéan *et al.*, 2006 ; Pla *et al.*, 2006) dans le cas du maïs Bt[28], ceci s'avère d'autant plus compliqué dans le cas des variétés à gènes empilés qui se développent actuellement (Taverniers *et al.*, 2008). Pour ces dernières, la répartition des gènes à la méiose joue sur le nombre de grains portant un ou plusieurs transgènes et donc sur le risque de pollinisation croisée entre OGM et non-OGM. Les travaux réalisés dans le cadre de ce projet ont permis d'établir, pour des variétés comportant de un à quatre transgènes, une série de relations entre le pourcentage de grains, tel que calculé par MAPOD®, et le pourcentage d'ADN-GM mesuré par PCR dans une récolte. D'autres relations ont été déterminées pour connaître les équivalences entre taux de présence fortuite d'OGM dans les lots de semences et mesure PCR dans les récoltes (Paul *et al.*, 2012 ; voir Annexe 1). Ces abaques permettent par exemple d'adapter les tables de décisions produites lors de l'étude de 2006 (Cf. Table 22 et Table 23) tel que demandé dans une récente expertise pour le HCB (Cf. Annexe 7). Comme le modèle de prévision des quantités de pollen évoqué plus haut, elles restent à intégrer dans le logiciel.

MAPOD® est un modèle spatialement explicite dont les données d'entrée sont relatives à des caractéristiques du parcellaire et des systèmes de culture. Malgré le souci d'opérationnalité qui a présidé à la conception, celles-ci sont nombreuses. Une des évolutions logicielles majeures a consisté en la simplification de la gestion de ces données ainsi que de celle des résultats de simulation grâce à la plate-forme Landflow-gene. L'évaluation menée dans un premier temps pour ses deux modules (dispersion et floraison) a pu ainsi être étendue en confrontant les sorties du modèle à des mesures réalisées à grande échelle chez des agriculteurs. Le chapitre suivant détaille l'ensemble de ces résultats.

[28] Hétérozygote pour le gène d'intérêt

Évaluation du modèle

Table 9 : Dispositifs 'champ à champ' utilisés pour la validation du modèle de dispersion de MAPOD®

Lieu *Type de climat* Référence	**Années**	**Type d'essai**	**Mesures effectuées**
Montargis[29] (Est du Bassin Parisien) *Océanique à tendance continentale* (Klein *et al.*, 2002)	2000	Une source émettrice avec un marqueur bleu et des champs récepteurs de la même variété mais jaune (Adonis) Deux types d'espèces entre émetteur et récepteur : tournesol et trèfle	Dates de début et dynamiques de floraison Quantités de pollen émises par les champs de maïs Climat journalier Taux de pollinisation croisée dans les champs récepteurs
Stillwater (USA – Maine) *Océanique* (Jemison & Vayda, 2001)	1999	Une parcelle émettrice (maïs tolérant à un herbicide) et deux parcelles de maïs conventionnel respectivement à 30 et 350 m	Dates de début et dynamiques de floraison Taux de survie des grains récoltés dans les parcelles réceptrices
Salles d'Armagnac (Midi-Pyrénées)[30] *Océanique* **Uzein** (Aquitaine) *Océanique à tendance montagnarde* (Angevin *et al.*, 2006)	2002	En parcelles d'agriculteurs de tailles et formes diverses, dispositif champ à champ à différentes distances et avec des types de couvertures variables (sol nu, céréales, potagères…) entre les parcelles. 8 dispositifs émetteur waxy/récepteur hybride jaune	Taux de pollinisation croisée en bordure de parcelle (6 premiers rangs pour le maïs waxy par exemple) Taux de pollinisation croisée dans le reste du champ Plan du dispositif Dates de début et fin des floraisons mâle et femelle Densités de plantes dans les parcelles Hauteur des panicules et des épis Quantités de pollen émises Climat journalier (voire horaire pour le vent) de la plus proche station météo. Dans les deux cas, celle-ci était située à une quinzaine de kilomètres des parcelles.

[29] Essais réalisés par l'AGPM-technique dans le cadre d'un projet financé par l'Action Incitative Programmée INRA « OGM et environnement » (1998-2001).
[30] Essais réalisés par l'AGPM-technique dans le cadre d'un projet financé par l'appel d'offres CTPS « Gestion temporelle et spatiale des variétés » (2002-2005).

3 Évaluation du modèle

Les objectifs premiers de l'évaluation de MAPOD® étaient de donner une information aux utilisateurs, c'est-à-dire associer un risque d'erreur aux résultats de simulation mais aussi de pouvoir améliorer la qualité prédictive du modèle en ciblant les voies d'amélioration de l'algorithme et en orientant les recherches sur les phénomènes. Ce processus a permis de s'intéresser aux erreurs de prédiction et de classement des situations vis-à-vis du risque de flux de gènes. Enfin, c'est la pertinence des décisions pouvant être prises à partir des résultats de simulations qui a été estimée. Le but initial de MAPOD® était d'être utilisé pour aider à la décision, il convenait donc de s'assurer de la réalisation de cet objectif (Bellocchi *et al.*, 2010).

Une validation globale de modèles prenant en compte les systèmes de culture est délicate du fait de leur complexité et du nombre d'hypothèses faites au cours de leur élaboration. Il est très difficile de savoir à quelles hypothèses spécifiques il faut attribuer les décalages observés entre les mesures faites au champ et les prédictions du modèle. Inversement, un accord global ne signifierait pas nécessairement que le modèle représente correctement tous les phénomènes pris en compte. Une validation module par module est un préalable avant la confrontation observé/simulé. Par ailleurs, la validation d'un modèle complexe passe par la confrontation de ses sorties à une gamme de jeux de données de qualité, d'échelle et de types différents (Bellocchi *et al.*, 2010) et couvrant bien la gamme des situations observables en pratique. Comme indiqué dans la Figure 16, les évaluations de MAPOD® ont été faites à plusieurs étapes de la conception et de l'évolution du modèle. Elles se poursuivent en fonction de la disponibilité de nouveaux jeux de données.

3.1 Évaluation du module de dispersion

Une première vérification de la cohérence de la modélisation a été effectuée en simulant avec MAPOD® le dispositif expérimental utilisé pour la mise au point de la courbe de dispersion NIG (Klein, 2000 ; Klein *et al.*, 2003) puis en confrontant les sorties obtenues aux taux évalués par comptage sur les épis, ceci afin de détecter les erreurs de programmation et de paramétrisation (Résultats non présentés).

Suite à cette première étape, l'évaluation du module visait à estimer l'impact de différents types d'hétérogénéités entre parcelles émettrice et réceptrice, une des hypothèses de construction du modèle consistant à considérer que les discontinuités entre champs pouvaient être représentées par des zones remplies de maïs totalement stérile. Le module de dispersion utilise en effet une courbe obtenue sur un dispositif continu. Les sorties du modèle ont été comparées à des mesures de taux de pollinisation croisée dans deux essais (Cf. Table 9) où les floraisons étaient synchrones, ce qui permettait de ne tester que le module de dispersion du modèle. Les résultats, présentés dans le paragraphe 2.4, montrent que le modèle prédit correctement, à l'échelle du champ, l'ordre de grandeur du taux d'impuretés variétales dans la récolte, ce qui permet de classer différentes situations de coexistence les unes par rapport aux autres en fonction du risque de pollinisation. Cependant, la répartition spatiale de la pollinisation croisée était mal simulée, avec une sous-estimation des taux dans les premiers rangs face à l'émetteur compensée par une surestimation dans le reste de la parcelle.

Table 10 : Classement des 67 situations étudiées dans les essais du GEVES en fonction du décalage de floraison observé entre floraisons mâle et femelle.

Protogynie	Faible protogynie	Pas de décalage	Faible protandrie	Protandrie	Total
4	10	41	7	5	67
6 %	14.9 %	61.2 %	10.4 %	7.5 %	100 %

Classification

- Faible protandrie : le nombre de plants présentant une protandrie est quasi équivalent au nombre de plants ne présentant aucun décalage de floraison.
- Protandrie : une grande majorité des plants sont protandres.
- Faible protogynie : le nombre de plants présentant une protogynie est quasi équivalent au nombre de plants ne présentant aucun décalage de floraison.
- Protogynie : une grande majorité des plants sont protogynes.

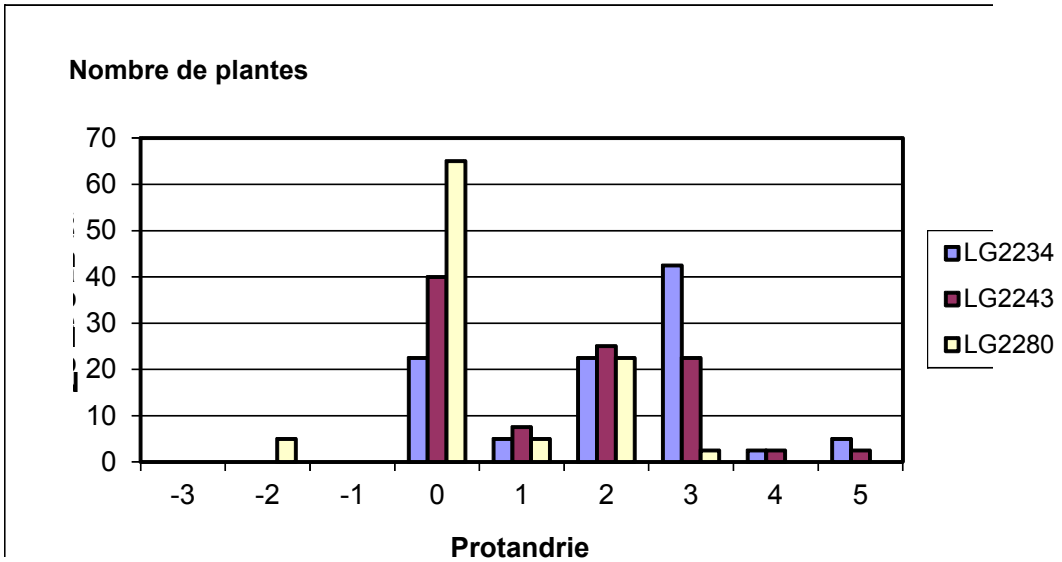


Figure 18 : Distribution des différences entre floraisons mâle et femelle des essais DHS sur trois hybrides trois voies au Magneraud (17) en 1998 (Gauffreteau, 2003)

Cette mauvaise prévision a été confirmée lors d'une étude menée dans des parcelles agricoles (Dispositifs champ à champ) dont l'objectif était d'évaluer la qualité prédictive globale du modèle (Angevin *et al.*, 2006). Ces résultats sont détaillés dans le § 3.3.

3.2 Évaluation du module de floraison

Les travaux décrits ci-dessous ont servi à tester la validité de certaines hypothèses de modélisation :

- ✓ L'utilisation de la protandrie pour le calcul de la date de floraison mâle à partir de la date de floraison femelle ;
- ✓ La similitude de forme entre les courbes de dynamique des floraisons mâle et femelle ;
- ✓ L'utilisation d'une durée de floraison fixe pour toutes les variétés, quelles que soient les conditions climatiques.

Utilisation de mesures réalisées lors des procédures d'inscription des variétés

Le module de floraison du modèle a d'abord été évalué grâce à des mesures effectuées par le GEVES sur des variétés inscrites, témoins dans les procédures de DHS (Cf. Annexe 2). Il s'agissait d'observations du nombre de plantes ayant atteint pour chaque sexe, chaque jour, le stade « début floraison ». Les mesures ont été réalisées de 1997 à 2002 sur une vingtaine de variétés (chacune étant en moyenne testée sur deux ans) cultivées sur deux lieux, l'un en Île de France (La Minière à Guyancourt), l'autre en Poitou-Charentes (Le Magneraud). Le détail des jeux de données est fourni en Annexe 2. Ces jeux de données ont été choisis parce qu'ils n'avaient pas servi lors de la mise au point du module « dynamique » de MAPOD®.

Concernant la première hypothèse, 67 situations ont été sélectionnées dans les jeux de données disponibles au GEVES. Comme observé dans les données ayant servi à la conception du modèle, le phénomène de protandrie n'apparaît pas clairement (Gauffreteau, 2003). Dans la majorité des cas (Cf. Table 10), il n'y a pas décalage entre les floraisons mâle et femelle, ce qui est cohérent avec ce qui est inclus dans le modèle compte-tenu de la faible densité de semis dans les essais (50 000 plantes/ha) et l'absence de stress hydrique (Cf. Table 5). Pour les situations présentant une protandrie, l'effet « lieu x conditions climatiques de l'année » est marqué : neuf cas à La Minière en 2001 et trois variétés pour Le Magneraud en 1998 (Figure 18). Pour ce dernier cas, l'analyse des données climatiques[31] montre une année propice à des stress hydriques, notamment une sécheresse sévère pendant la floraison. Dans ce cas, le modèle prédit une protandrie de trois jours, ce qui ne recouvre pas complètement la gamme des observations.

Pour les cas de protogynie, il n'y a pas d'élément explicatif lié soit au lieu, soit aux conditions climatiques de l'année. La protogynie pourrait alors s'expliquer par un déterminisme d'origine variétale. En effet, la protandrie est contre-sélectionnée dans des programmes d'amélioration recherchant des variétés résistantes à la sécheresse (Bolanos & Edmeades, 1993, 1996).

[31] Les bilans climatiques n'étaient pas disponibles pour La Minière en 2001.

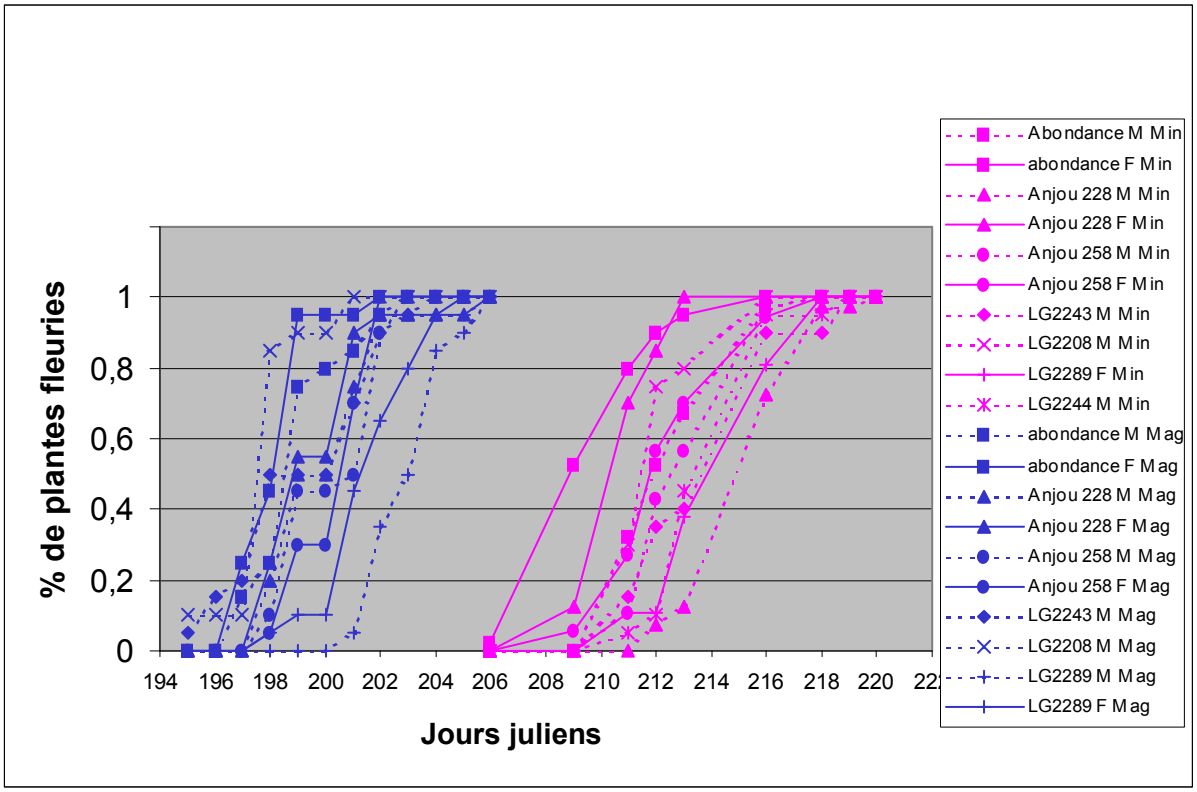


Figure 19 : Cumuls de floraison en fonction du temps en jours (Gauffreteau, 2003)
Min : La Minière ; Mag : Le Magneraud ; M : mâle, F : femelle

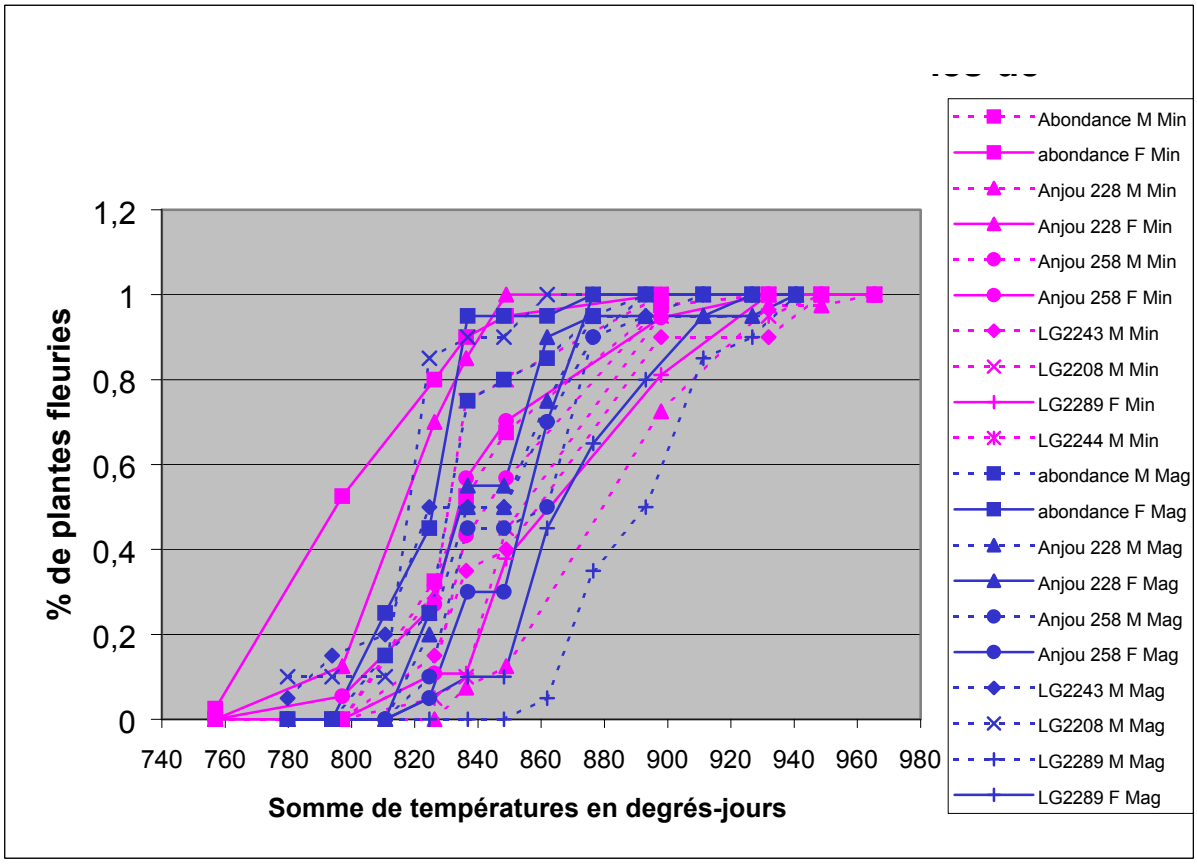


Figure 20 : Cumuls de floraison en fonction des sommes de températures (Gauffreteau, 2003)

Par la suite, des résultats similaires ont été obtenus dans des essais menés en 2006 et 2007 aux Pays-Bas (Van de Wiel *et al.*, 2009) à des densités de semis plus conformes avec celles pratiquées par les agriculteurs (80 000 à 95 000 plantes/ha). La floraison mâle démarrait en moyenne deux jours plus tard que la floraison femelle et ce, pour deux années climatiques contrastées et six lieux d'essais répartis dans le pays (Table 14). Seul l'essai le plus gravement touché par la sécheresse en 2006 présentait des protandries marquées (7,2 jours en moyenne avec un maximum à 12,6, valeurs sous-estimées par MAPOD® dans lequel la protandrie maximale dans ce cas est de 5 jours, cf. Table 5)[32].

L'ensemble de ces résultats ne permettent pas de confirmer la pertinence de l'utilisation de la protandrie pour le calcul du début de floraison mâle dans MAPOD®. Ce constat a débouché par la suite sur des études complémentaires (Cf. *infra*).

Pour vérifier la seconde hypothèse, des observations menées sur des hybrides trois voies[33] au GEVES dans deux sites contrastés (La Minière et le Magneraud, cf. Annexe 2) ont aussi été utilisées pour établir des courbes de pourcentages cumulés de plantes fleuries exprimées en fonction des jours juliens ou de sommes de températures à partir du semis (Cf. Figure 19 et Figure 20). Elles représentent la dynamique de floraison intra-parcellaire et sont cohérentes avec celles incluses dans MAPOD® (Cf. Figure 11 et Figure 12).

Par la suite, l'effet de quatre variables a été évalué (Gauffreteau, 2003). Il s'agissait :

- ✓ de l'année (représentant un contexte climatique) ;
- ✓ du lieu (correspondant à un type de sol et à l'itinéraire technique adapté[34]) ;
- ✓ du sexe de la plante ;
- ✓ de la variété.

Suite à ces premières analyses (résultats non présentés), la variable unique C a été définie : elle regroupe les ANNEE et LIEU et représente un climat, un type de sol et des conditions de culture. On observe alors, de façon classique, l'effet de la variété et du milieu sur la date de début floraison (Cf. Figure 20 et Figure 21). Il ressort aussi que la forme de la dynamique de floraison est relativement stable et ce, quel que soit le sexe, ce qui confirme l'hypothèse faite dans le modèle d'un seul type de courbe pour les dynamiques mâle et femelle (Gauffreteau, 2003). À l'issue de cette étude, il n'a cependant pas été possible d'établir une relation permettant de modéliser cette dynamique intra-parcellaire en fonction de sommes de températures.

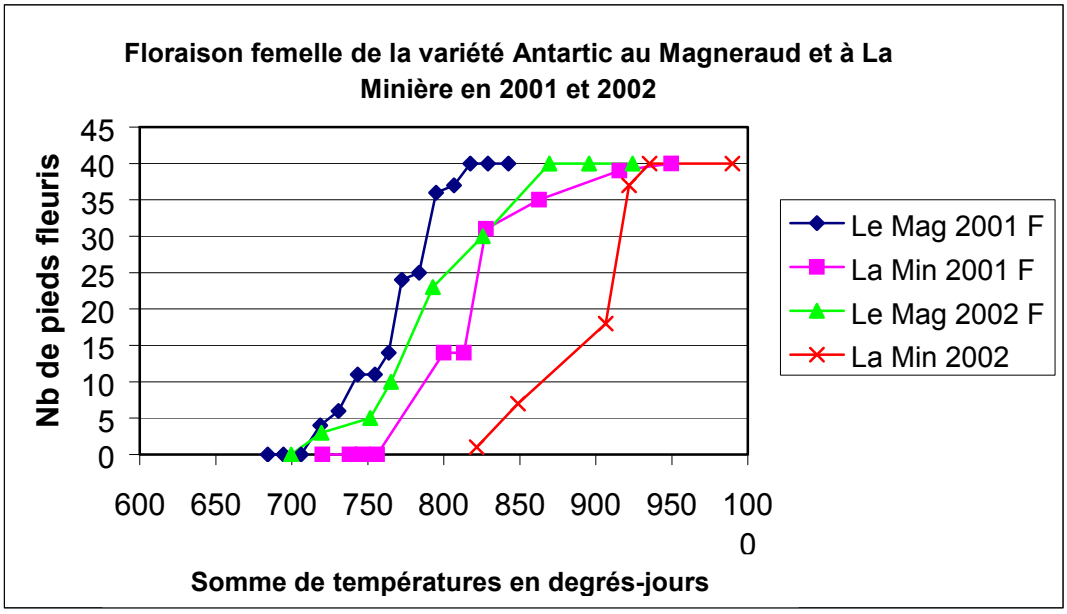
Ces travaux, menés à partir de données existantes établies au GEVES ont néanmoins conduit à définir plusieurs pistes de recherche pour améliorer le modèle :

---

[32] La confrontation entre les taux de pollinisation croisée mesurés par PCR dans ces essais et les sorties de simulations réalisées avec MAPOD® a montré que le modèle n'était pas valide dans ces conditions de stress hydrique (Résultats non présentés).

[33] Un hybride trois voies est issu d'un croisement entre un hybride simple et une lignée.

[34] Au Magneraud, où les stress hydriques sont fréquents pendant la floraison, les essais étaient irrigués. Ce n'était pas le cas à la Minière où la réserve utile du sol et les cumuls de pluies pendant cette période sont plus importants.



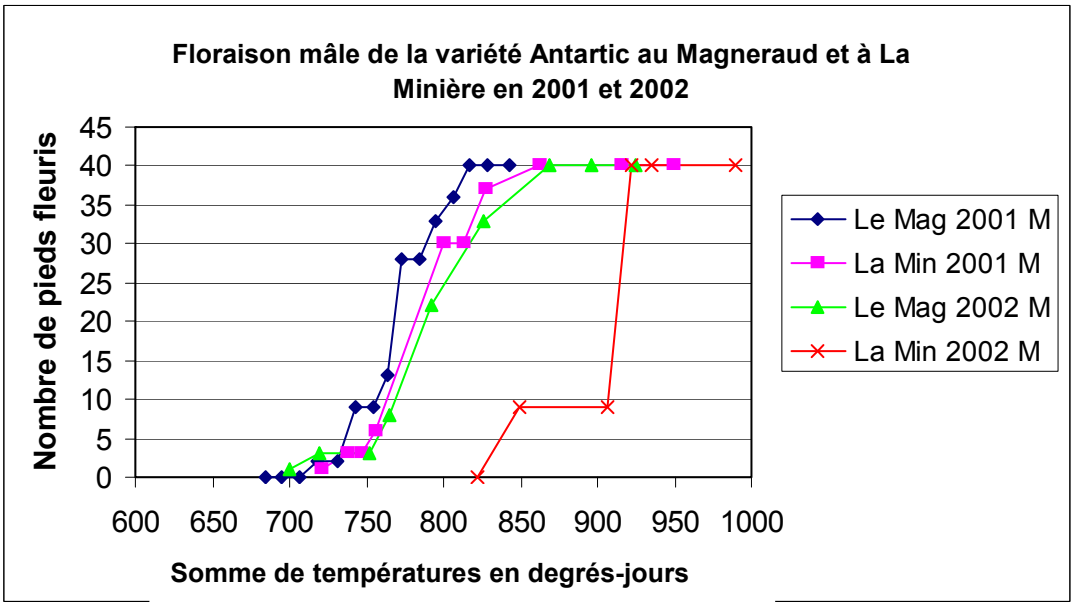


Figure 21 : Dynamiques des floraisons de la variété ANTARTIC (Gauffreteau, 2003)

- Les conclusions précédentes avaient été établies pour des hybrides trois voies, des variétés précoces ; il fallait vérifier leur applicabilité à des variétés moins précoces et des hybrides simples qui sont les plus couramment cultivés.
- Suite à ces résultats, il convenait de poursuivre les analyse des décalages de floraison entre sexes sur une gamme plus large de variétés de maïs afin d'infirmer ou de confirmer la tendance à la protogynie et d'améliorer la prise en compte plus précise de l'effet du déficit hydrique sur les dates de début floraison.
- En corollaire, il était nécessaire d'améliorer la prédiction des dates de début floraison. Les données ayant été utilisées dans l'établissement du modèle provenaient d'essais réalisés avec des hybrides peu prolifiques (Durand, 1969 ; Derieux & Bonhomme, 1982, 1990) et le matériel génétique avait évolué depuis (D. Guérin*, Com. pers.*). D'autres auteurs ont déjà rencontré des problèmes similaires pour le modèle CERES-maïs (Kiniry & Jones, 1986).
- Enfin, la dynamique de floraison incluse dans MAPOD® étant composée d'une combinaison entre dynamique intra-parcellaire et dynamiques intra-panicule et intra- épi établies à partir de sources bibliographiques, il était nécessaire de compléter son évaluation par l'acquisition de données de terrain sur ces aspects. Certaines de ces pistes ont été explorées lors de programmes de recherche ultérieurs : SIGMEA workpackage 4 et GCOM2AP (Cf. Table 8) que je coordonnais.

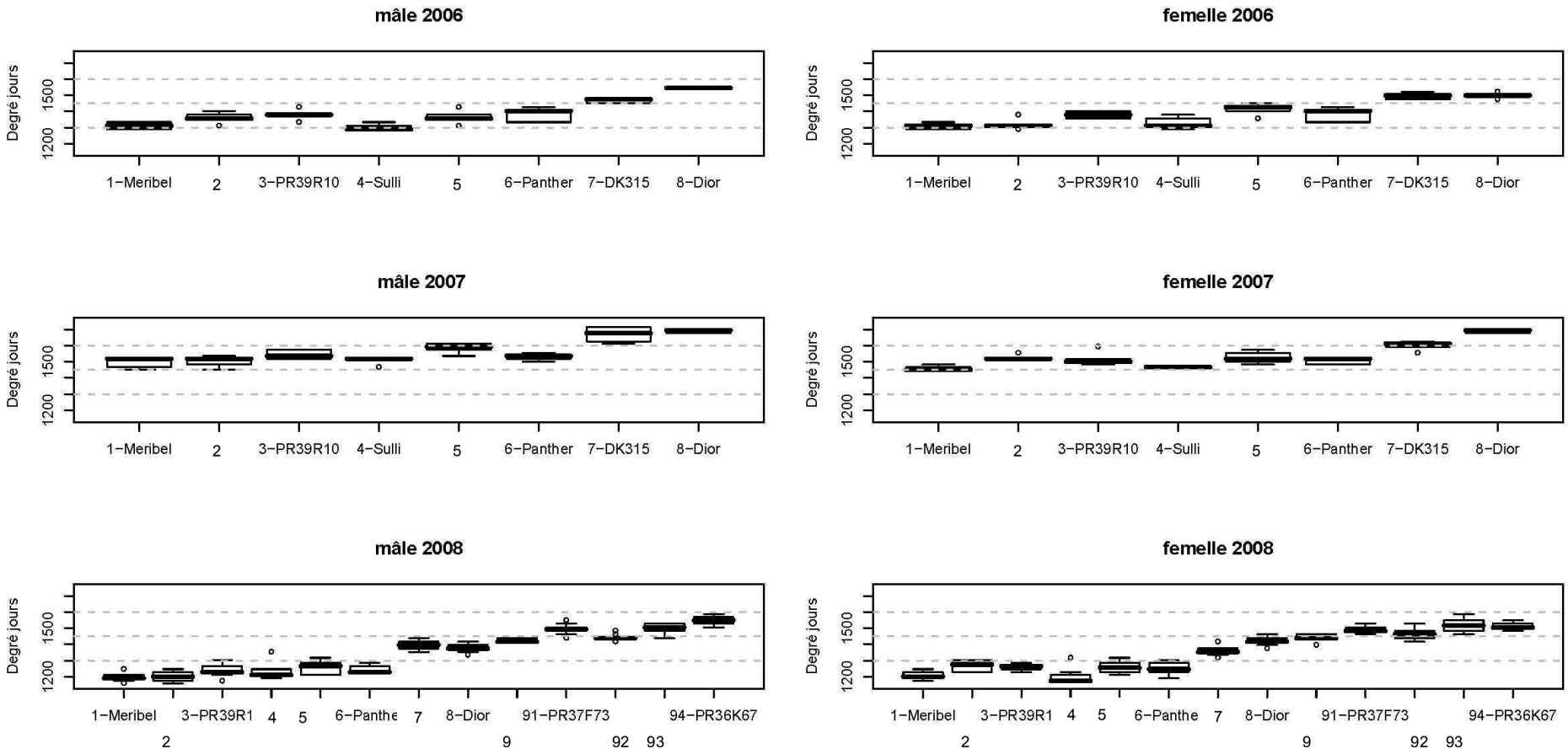


Figure 22 : Variabilité des dates de début floraisons mâle et femelle entre variétés et années en somme de degrés-jours (Balique, 2008)

1 : Méribel ; 2 : LG2275 ; 3 : PR39R10 ; 4 : Sulli ; 5 : ES Annabelle ; 6 : Panther ; 7 : DK 315 ; 8 : Dior ; 9 : Saxxoo ; 91 : PR37F73 ; 92 : DK532 ; 93 : ES Cajou ; 94 : PR36K67

Utilisation de résultats d'essais spécifiques

Suite aux constats précédemment exposés, à partir de protocoles que j'avais conçus, des essais ont été menés pendant deux ans (2006 et 2007) au GEVES (La Minière, Guyancourt[35]) sur huit variétés de génétique variée choisies parmi les témoins de la procédure de VAT d'inscription des variétés en 2006 (Formules éloignées et sociétés semencières différentes, cf. Annexe 2). Les expérimentations ont été poursuivies en 2008 ajoutant cinq variétés pour élargir la gamme des précocités étudiées.

Les quantités de pollen émises ont été mesurées par piégeage passif ou ensachage et les dates de début ainsi que les dynamiques de floraison ont été observées selon le protocole décrit par Fonseca *et al.* (2003) lors de passages journaliers sur les parcelles d'essais.

Les sommes de températures entre la date de semis et le début des floraisons ainsi que celles correspondant à la durée des floraisons mâle et femelle pour les différentes variétés et les différentes années ont été calculées[36]. Ces jeux de données permettaient d'étudier l'effet des conditions climatiques et de la précocité des variétés sur le début et la dynamique de floraison.

Dans la Figure 22, pour les trois ans d'essais, les débuts de floraison femelle s'échelonnent bien selon les précocités des variétés (classées de gauche à droite, de précoce à tardive). La précocité de floraison femelle exprimée en sommes de degrés-jours permet donc bien un classement relatif des variétés entre elles. Le résultat est assez similaire pour les débuts de floraison mâle : floraisons précoces avec Méribel et LG2275, tardives avec DK315 et Dior, le groupe intermédiaire de variétés n'ayant pas un ordre constant entre les trois années.

Ces données permettent aussi de voir que la somme des températures nécessaire au déclenchement de la floraison femelle est variable entre les années : pour Méribel, 700 degrés-jours ont été nécessaires en 2006 contre 820 en 2008. Il en est de même pour Panther, plus tardive, qui a nécessité 130 degrés-jours supplémentaires en 2008 par rapport à 2007.

Par ailleurs, les variétés n'apparaissent pas nettement comme protandres ou protogynes (Table 11). Alors que toutes ont été semées à la même densité et ont subi le même régime hydrique, certaines variétés sont effectivement protogynes (DK 315) ou protandres (LG2275, Panther et Dior) alors que pour d'autres la situation peut varier d'une année climatique sur l'autre (Méribel, PR3910, Sulli et ES Annabelle, Cf. Figure 23).

Les résultats des observations dans ces essais variétaux montrent donc un déterminisme de la mise à floraison plus complexe que celui qui est intégré au sein du modèle. Dans MAPOD®, le choix avait été fait de modéliser les débuts de floraison avec des données assez facilement accessibles (date de semis par rapport à date de levée, par exemple). Il a notamment été choisi d'utiliser de préférence des températures de l'air par rapport à des températures du sol.

---

[35] Semis sur deux rangs de 3 m de long avec un inter-rang de 75 cm et environ 20 cm entre deux plantes sur le rang, ce qui correspond environ à une densité de 66 700 plantes/ha et à une protandrie estimée à un jour dans MAPOD®.

[36] En base 6°C, données de la station météorologique de Toussus-le-Noble à proximité immédiate de la station expérimentale de La Minière

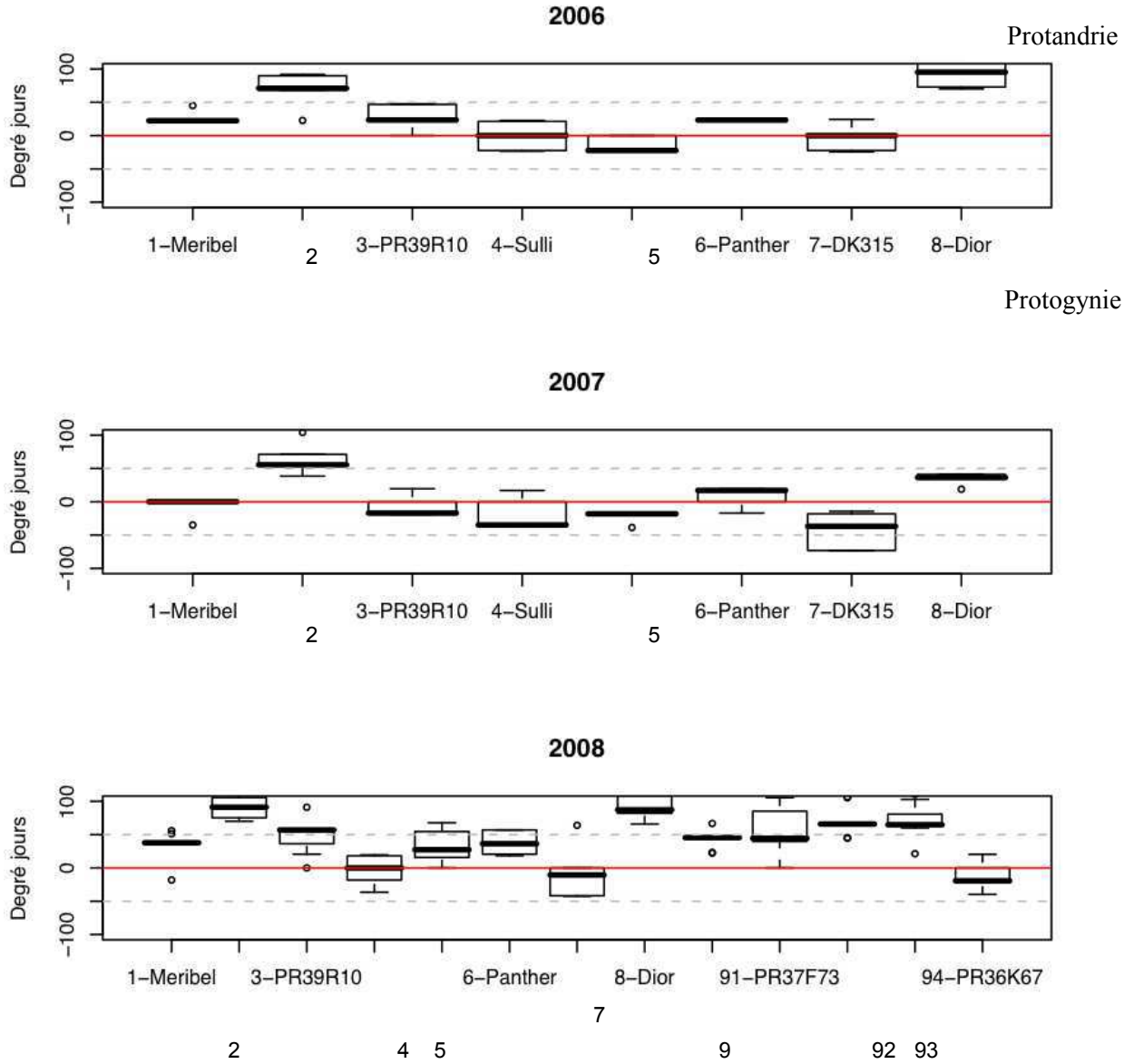


Figure 23 : Décalages entre le début de la floraison mâle et le début de la floraison femelle en fonction des variétés et années en somme de degrés-jours (Balique, 2008)

1 : Méribel ; 2 : LG2275 ; 3 : PR39R10 ; 4 : Sulli ; 5 : ES Annabelle ; 6 : Panther ; 7 : DK 315 ; 8 : Dior ; 9 : Saxxoo ; 91 : PR37F73 ; 92 : DK532 ; 93 : ES Cajou ; 94 : PR36K67

Table 11 : Pourcentage de plantes en fonction du décalage entre floraison mâle et femelle dans les essais du GEVES (La Minière) de 2006 à 2008

Année	Protandrie	Floraisons simultanées	Protogynie
2006	30 %	35 %	35 %
2007	10 %	25 %	65 %
2008	50 %	19 %	31 %

pour calculer les stades même si ces dernières s'avèrent plus adéquates (Kiniry & Jones, 1986 ; Brisson *et al.*, 1998). Jones et Kiniry (1986), dans l'évaluation du modèle CERES-maïs, soulignent aussi l'importance de la précision des données climatiques et de l'estimation de la teneur en eau du sol au semis, celle-ci pouvant expliquer des retards à la germination et à la levée se répercutant ensuite sur les dates de floraison. Ce type de données n'étant pas disponible sur ces essais, ces hypothèses n'ont pu être testées.

3.3 Utilisation de dispositifs champ à champ dans des parcelles agricoles

Cette partie de l'évaluation a consisté à comparer les valeurs prédites avec des observations effectuées dans un réseau de huit parcelles commerciales de maïs waxy (Cf. Table 9) afin d'estimer la qualité prédictive de MAPOD®.

Matériel et méthodes

Les situations considérées ont été choisies au sein d'un réseau en fonction de deux critères principaux : la précision dans le tracé du parcellaire d'une part, et l'exhaustivité des données météorologiques et de floraison nécessaires au bon fonctionnement du modèle d'autre part. Ces huit dispositifs étaient répartis dans deux zones géographiques autour des communes de Salles d'Armagnac et d'Uzein (Cf. Table 9). Une station de Météo-France fournissant des données météorologiques à un pas de temps horaire est présente sur chacune des deux zones et située, dans les deux cas, à une quinzaine de kilomètres des essais.

Les huit situations diffèrent les unes des autres par :

- ✓ La taille et la forme des parcelles de maïs waxy (de 0,7 à 12 ha) et de maïs consommation (de 1,4 à 9 ha)[37] ;
- ✓ Des distances d'isolement entre maïs consommation et waxy allant de 0 à 10 m ;
- ✓ L'orientation par rapport au vent dominant ;
- ✓ Les dates de floraison des mâles waxy et consommation et de la femelle waxy.

Dans MAPOD®, par défaut, les simulations sont réalisées en utilisant la dynamique de floraison incluse dans le modèle, la date de floraison étant déterminée à partir de la date de semis et de la précocité de la variété. Les calculs sont effectués à un pas de temps journalier.
Néanmoins, dans cette étude, des variantes du modèle ont été utilisées. Elles se différenciaient par :

- ✓ **La forme de la dynamique de floraison** (Figure 25). Deux dynamiques ont été testées : celle incluse dans le modèle et une courbe établie par Arvalis-Institut du végétal suite à une synthèse d'observations menées dans plusieurs essais antérieurs. Des simulations ont aussi été réalisées en déconnectant le module de floraison, c'est-à-dire en utilisant uniquement la courbe de dispersion établie sur l'ensemble de la floraison, l'émetteur et le récepteur fleurissant de façon synchrone (Klein, 2000 ; Klein *et al.*, 2003).

[37] Compte tenu de leur configuration ou de la présence de plusieurs émetteurs en face de côtés différents d'un champ, il y a eu individualisation de zones dans certaines parcelles de waxy (Waxy5O et 5S par exemple).

Encadré 2 : Description de l'échantillonnage réalisé dans les essais waxy

Deux zones ont été échantillonnées différemment dans chaque parcelle de maïs waxy, la bordure commune avec la parcelle de maïs consommation d'une part, et le reste de la parcelle d'autre part (Figure 24). Une des huit parcelles présentant deux bordures en vis-à-vis avec du maïs consommation, l'évaluation de la qualité prédictive du modèle en bordure de champ a été réalisée à partir de neuf situations. Les deux types d'échantillonnage se distinguent par le nombre de prélèvements réalisés par unité de surface (Figure 24). Dans les deux zones, les prélèvements ont été réalisés par groupes de cinq épis consécutifs dans une ligne de semis.

Dans ces essais, la largeur des bordures a été estimée et non mesurée. Par ailleurs, si un sous échantillonnage a été réalisé dans la parcelle (hors bordure) par bandes d'environ 50 mètres, chaque prélèvement n'a pas été localisé dans la parcelle et la structure par groupe de cinq épis n'a pas été conservée dans la collecte des données. Ceci a posé deux types de problèmes : (i) Des zones de bordure mal définies ; (ii) Des intervalles de confiance difficiles à construire.

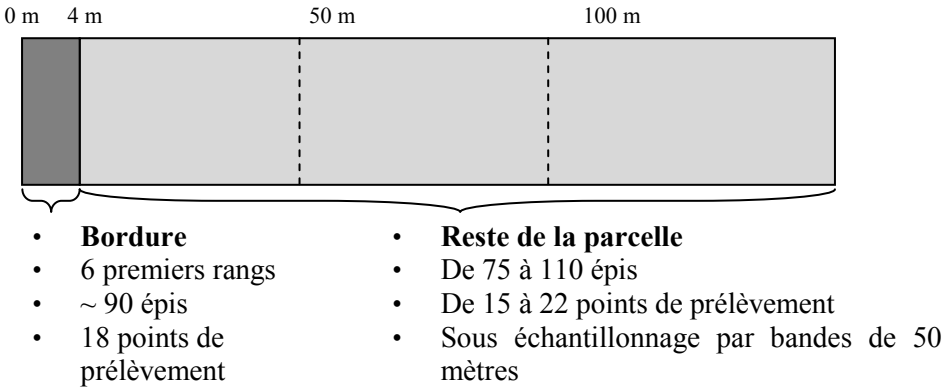


Figure 24 : Prélèvements réalisés dans les parcelles de maïs waxy

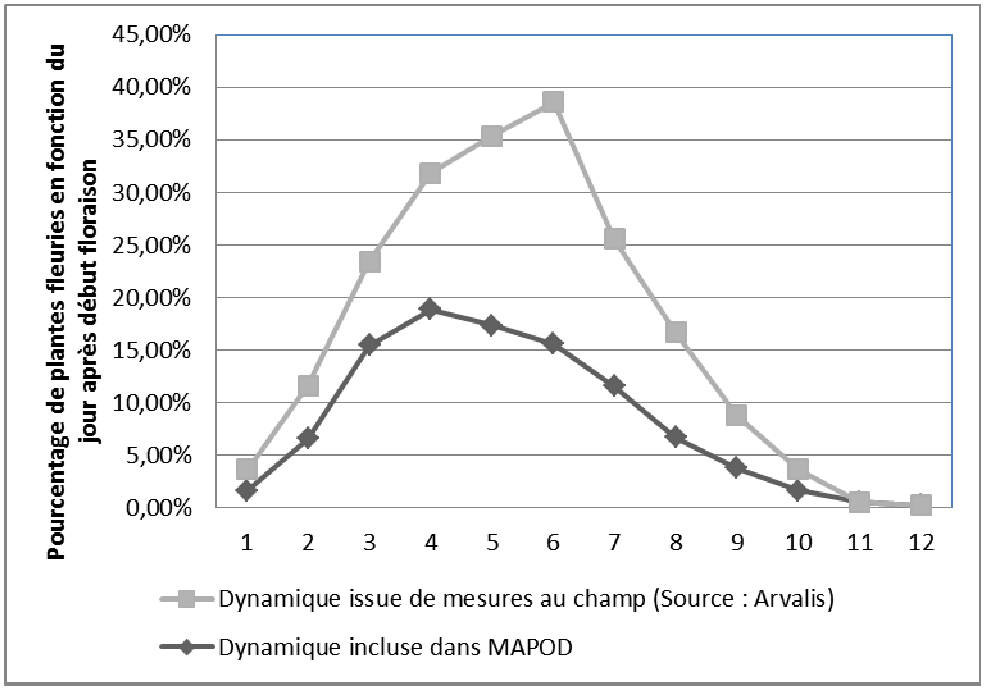


Figure 25 : Dynamiques de floraison (mâle et femelle) utilisées lors des simulations

- ✓ **La période de floraison** : Comme les observations de stades n'étaient pas journalières, ce qui pouvait entraîner une imprécision sur la date réelle de début et de fin floraison, deux séries de simulations ont été réalisées, selon que les dynamiques étaient calées sur la date de début ou de fin floraison.
- ✓ **La prise en compte de la pluie** : Dans MAPOD®, on considère qu'il n'y pas de fécondation en cas de pluie car il y a éclatement du pollen (Gay, 1983). Des simulations ont donc été effectuées avec ou sans les précipitations relevées afin de vérifier la pertinence de cette hypothèse.
- ✓ **Le pas de temps considéré pour le vent :**
  - La période de floraison : la direction et l'intensité moyenne du vent sont calculées sur toute la période de floraison ;
  - La journée : la direction et l'intensité moyenne du vent sont calculées chaque jour à partir de données horaires recueillies entre 10h et 18h ;
  - L'heure : les données horaires de direction et d'intensité du vent sont directement utilisées.

Il s'agissait de vérifier si le pas de temps choisi dans le modèle (la journée) permettait de gagner de la précision par rapport à l'utilisation simple d'une courbe de dispersion établie pour l'ensemble de la période de floraison (Klein, 2000 ; Klein *et al.*, 2003). Il fallait aussi déterminer si l'utilisation de données horaires pour le vent pendant la floraison avait un intérêt (meilleure prise en compte des coups de vent et des vents tourbillonnants) au regard du coût d'acquisition de ces données et des temps de calcul nécessaires.

Dans toutes les simulations avec MAPOD®, l'hypothèse a été faite que les lots de semences étaient purs. En tout, pour chacune des huit situations choisies, 17 à 19 simulations ont été réalisées puis confrontées aux mesures effectuées au champ (Cf. Encadré 1 et Figure 24).

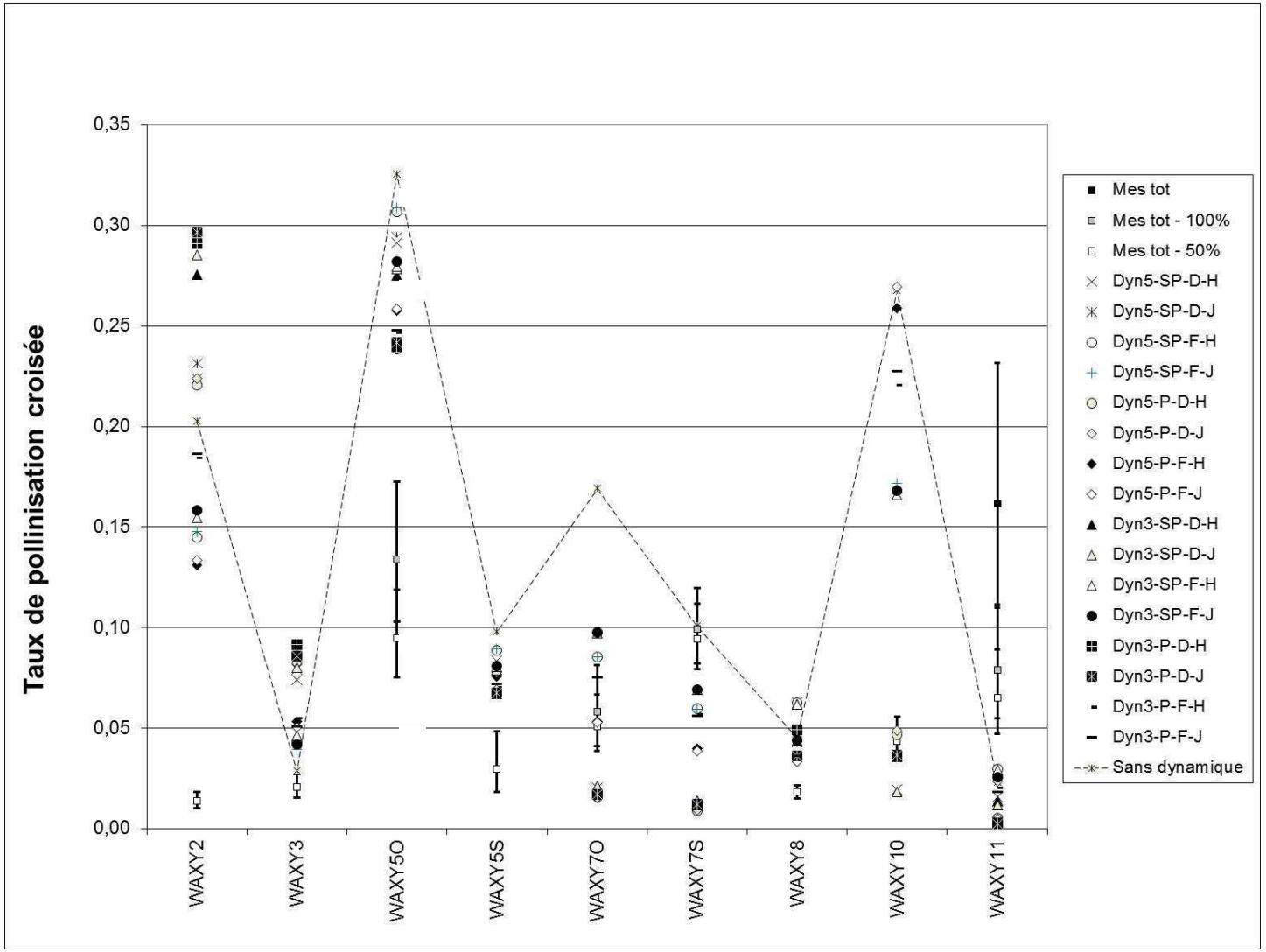
Analyse des résultats de simulations pour les bordures de champ

La comparaison des valeurs de pollinisation croisée mesurées et celles calculées par le modèle pour les bordures de champ montre que ce dernier offre une mauvaise prédiction dans la majorité des cas (Cf. Figure 26). En l'occurrence, les résultats de simulations sont dans l'intervalle de confiance du taux moyen de la bordure pour deux situations seulement ; le modèle surestime les taux dans cinq situations et il les sous-estime dans deux autres. Il n'y a pas de « logique » à ces sous-estimations ou surestimations qui n'apparaissent liées ni à la taille des parcelles ni à l'orientation par rapport au vent dominant.

L'analyse des différentes situations a permis d'identifier plusieurs sources d'erreurs, de différentes natures :

- ✓ Comme indiqué dans l'Encadré 2, la taille des bordures dans lesquelles ont été faits les prélèvements n'a pas été mesurée précisément mais estimée, ce qui a pu entraîner des imprécisions par la suite dans les comparaisons avec les sorties du modèle[38].

[38] La maille minimale du modèle est celle utilisée dans les essais mis en place pour l'établissement de la courbe de dispersion, soit 1.6 m x 2 m. Les mailles les plus couramment utilisées pour les simulations, pour des raisons de temps de calcul sont 2 m x 2 m et 5 m x 5 m.



Légende :

Mes tot : Taux de pollinisation croisée mesuré (comptage de grains colorés par une solution iodée)

Mes tot -100 % : Taux de pollinisation avec décompte des épis 100 % consommation

Mes tot – 50 % : Taux de pollinisation avec décompte des épis 50 % consommation

Dyn5 : Dynamique de floraison incluse dans le modèle

Dyn3 : Dynamique de floraison résultant de mesures au champ dans des essais antérieurs d'Arvalis

SP : Sans prise en compte de l'effet de la pluie

P : Avec prise en compte de l'effet de la pluie

D : Dynamique calée sur le début floraison

F : Dynamique calée sur la fin floraison

H : Pas de temps horaire

J : Pas de temps journalier

Figure 26 : Taux de pollinisation croisée mesurés et simulés dans les bordures de champs

- ✓ L'analyse précise des taux de pollinisation croisée par épi a montré la présence d'impuretés variétales dans les lots de semences utilisés. Par exemple, dans la situation waxy 11, parmi les 89 épis récoltés en bordure, huit sont du maïs de consommation à 100 % et deux à plus de 50 %. Il n'y avait pas d'épis de ce type dans le reste de l'échantillon (centre du champ). Le premier type d'impuretés peut résulter d'un mélange des semences waxy avec du maïs consommation, notamment dans un semoir mal nettoyé. Pour les deux autres épis, il peut s'agir du résultat de pollinisation croisée entre champ de production de semences et champ de maïs de consommation à proximité. Dans les deux cas, ces plantes augmentent le taux de grains de maïs consommation dans la récolte et peuvent par ailleurs fertiliser des plantes waxy avoisinantes.[39].

Ces impuretés peuvent expliquer les sous-estimations du modèle mais pas les cinq cas de surestimation. Par construction, le modèle ne permet pas de rendre compte des variations locales d'ordre topologique (en l'occurrence dans ces expérimentations : des fossés, route goudronnée, chemins et haies entre les champs émetteur et récepteur) ou d'ordre microclimatique (convection).

Cependant, ce sont des surestimations qui sont majoritairement observées dans ce jeu de données alors que les comparaisons faites lors de la validation du module de dispersion avec des floraisons synchrones, montraient une mauvaise représentation par le modèle du patron de dispersion à l'intérieur des champs, avec sous-estimation en bordure (Cf. 3.1).

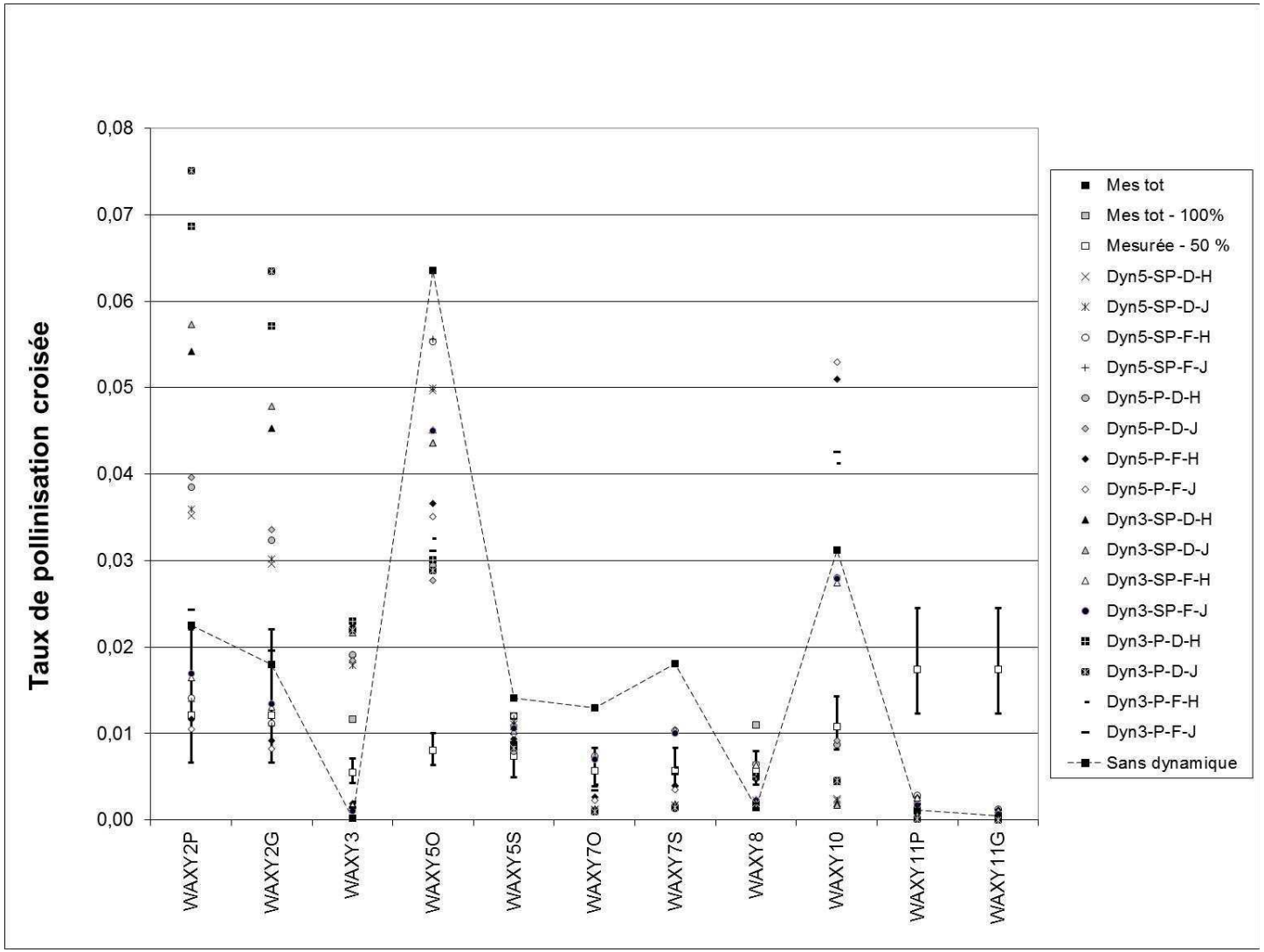
Les bordures en champs d'agriculteurs peuvent être des zones tassées, ce qui peut aboutir à des stress hydriques et des démarrages plus précoces de la floraison et des protandries plus faibles et donc une meilleure synchronisation des floraisons au sein d'une même plante. Dans ce cas, les soies waxy de bordure auraient pu bénéficier de la protection pollinique de leurs mâles, ce qui aurait limité les fécondations avec du pollen extérieur et expliquerait les surestimations observées.

Analyse des résultats de simulations pour les champs détourés

Les résultats des simulations sont détaillés dans la Figure 27. Il en ressort principalement :

- ✓ L'intérêt d'avoir mis en place un module de floraison dans le modèle et de l'utilisation de données décrivant le vent pendant cette période à un pas de temps au minimum journalier. En effet, pour les simulations effectuées sans dynamique, avec un vent moyen calculé sur l'ensemble de la période de floraison, il y a, pour la grande majorité des situations, surestimation du taux de croisement quand le vent dominant est orienté de la parcelle de maïs consommation vers la parcelle waxy et à la sous-estimation dans le cas contraire (Angevin *et al.*, 2006).
- ✓ La prise en compte de la pluie et de ses effets sur le pollen s'avère effectivement nécessaire.

[39] Dans les simulations avec MAPOD®, il est possible de prendre en compte l'impact de ces plantes par voie additive (Paul et *al.*, 2012 ; Dietiker *et al.,* 2011) à condition de connaître le taux initial d'impuretés dans les semences, ce qui n'était pas le cas dans ces expérimentations (Cf. Encadré 4).



Légende :

Mes tot : Taux de pollinisation croisée mesuré (comptage de grains colorés par une solution iodée)

Mes tot -100 % : Taux de pollinisation avec décompte des épis 100 % consommation

Mes tot – 50 % : Taux de pollinisation avec décompte des épis 50 % consommation

Dyn5 : Dynamique de floraison incluse dans le modèle

Dyn3 : Dynamique de floraison résultant de mesures au champ dans des essais antérieurs d'Arvalis

SP : Sans prise en compte de l'effet de la pluie

P : Avec prise en compte de l'effet de la pluie

D : Dynamique calée sur le début floraison

F : Dynamique calée sur la fin floraison

H : Pas de temps horaire

J : Pas de temps journalier

Figure 27 : Taux de pollinisation croisée mesurés et simulés dans les parcelles détourées

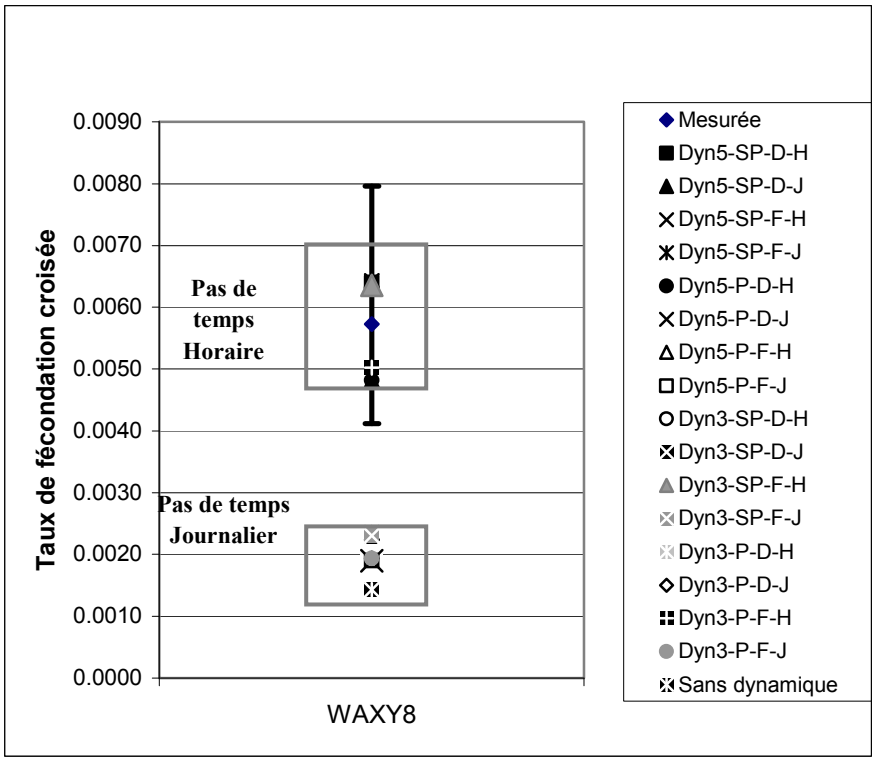
- ✓ Lorsqu'on simule à un pas de temps horaire ou journalier, le modèle offre une bonne prédiction du taux de pollinisation croisée, puisque pour six situations sur huit le taux simulé est compris dans l'intervalle de confiance. Cependant, les résultats peuvent être très variables selon la combinaison des facteurs suivants : Période de floraison/Pluie/Dynamique/Pas de temps. La variabilité des prédictions ainsi que l'effet de chaque facteur dépend de la situation testée (Cf. Table 12). La situation waxy 8 est la seule pour laquelle utiliser un pas de temps horaire présente un intérêt sensible. Dans cette situation, considérer un tel pas de temps ramène les taux calculés dans l'intervalle de confiance (Figure 28).
- ✓ Il est apparu clairement que la position temporelle relative des périodes de floraison femelles waxy, mâles waxy et mâles consommation a un effet particulièrement important.

Dans certains cas, les décalages de floraison calculés par le modèle aboutissent à l'existence d'une période en fin floraison où il reste des soies waxy réceptives alors qu'il n'y a plus de pollen émis dans le champ (phénomène de protandrie). Dans ce cas, le modèle prévoit, par construction, que toutes ces soies peuvent être fécondées par du pollen venant d'un champ de maïs consommation et que chaque grain de pollen peut être considéré comme efficace. Des simulations menées en incrémentant jour à jour le début floraison du récepteur ont mis en évidence que cette hypothèse aboutit à une forte sensibilité du modèle vis-à-vis de la prévision du début floraison : une erreur d'une journée peut aboutir à de fortes surestimations du taux simulé par rapport aux données observées (Résultats non présentés). Des travaux menés aux USA ont par ailleurs montré qu'une concentration minimale de pollen au niveau des soies était nécessaire pour que la fécondation s'effectue correctement (Westgate *et al.*, 2003).

Le fait d'utiliser une durée constante pour les floraisons mâle et femelle (troisième hypothèse de construction du module de floraison, cf. *supra*) peut accentuer ce phénomène de sensibilité aux erreurs de prédiction des dates de floraison et au biais lié au pouvoir fécondant du pollen. Or, comme illustré plus haut et observé dans ces essais (Cf. Table 13, variation de 9 à 16 jours), ces durées peuvent être variables entre sexe et variété pour une même année, même s'il s'avère que la variabilité interannuelle reste plus importante (Balique, 2008).

Pour l'interprétation de ces résultats, il convient de tenir compte non seulement des erreurs dues à l'échantillonnage mais aussi de l'incertitude liée à certaines des données d'entrée utilisées pour les simulations.

Comme indiqué précédemment, les **erreurs dues à l'échantillonnage** n'ont pu être évaluées précisément. Ensuite, il aurait été intéressant de disposer du nombre réel de grains pour les épis sur lesquels ont été réalisés les comptages de grains notés comme issus de fécondations avec du pollen extérieur. En l'occurrence, il a été considéré que tous les épis portaient 544 grains. Ce nombre est issu d'une moyenne de mesures pour les deux variétés de waxy cultivées dans les essais. Cependant, ce nombre peut varier selon différents critères comme le nombre de grains fécondés ou encore le taux d'avortement des grains. Ces variations peuvent avoir un effet sur le taux de pollinisation croisée d'une part, et sur la taille de l'intervalle de confiance d'autre part.



Légende :

Mesuré : Taux estimé par comptage de grains colorés par une solution iodée

Dyn5 : Dynamique de floraison incluse dans le du modèle
Dyn3 : Dynamique de floraison mesurée au champ dans des essais antérieurs d'Arvalis

SP : Sans prise en compte de l'effet de la pluie
P : Avec prise en compte de l'effet de la pluie

D : Dynamique calée sur le début floraison
F : Dynamique calée sur la fin floraison

H : Pas de temps horaire
J : Pas de temps journalier

Figure 28 : Cas de la parcelle waxy 8 détourée

Table 12 : Analyse, pour chaque situation étudiée, des facteurs ayant un effet significatif sur le calcul du taux de pollinisation croisée

		Situations						
		WAXY2	WAXY3	WAXY5	WAXY7	WAXY8	WAXY10	WAXY11
Facteurs testés	Période de floraison	X	X		X		X	X
	Pluie			X	X		X	X
	Dynamique de floraison	X						
	Pas de temps					X		

Table 13 : Durées de floraison observées au champ

	Femelle waxy	**Mâle waxy**	**Mâle consommation**
Waxy 2	12 j	14 j	13 j
Waxy 3	12 j	10 j	10 j
Waxy 5	11 j	13 j	13 j
Waxy 7	9 j	11 j	12 j
Waxy 8	12 j	11 j	11 j
Waxy 10	16 j	13 j	12 j
Waxy 11	10 j	13 j	12 j

Par ailleurs, sur un réseau étendu géographiquement, il s'avère difficile de faire des **relevés journaliers permettant de déterminer précisément les dates de début et de fin floraison**. Comme déjà mentionné, la qualité de la prédiction faite par MAPOD® peut être affectée de façon importante puisque ces dates déterminent la synchronie ou l'asynchronie des périodes de floraison entre maïs émetteur et récepteur.

Enfin, les **données météorologiques** utilisées présentent certaines incertitudes. En effet, les stations où ont été relevées les données se trouvent à une quinzaine de kilomètres en moyenne des essais, elles ne tiennent donc pas compte des facteurs locaux (relief, végétation…) qui ont une influence sur la vitesse et la direction locales des vents au niveau du maïs. Comme le vent est un déterminant majeur pour la dispersion du pollen chez cette espèce, il apparaît nécessaire de disposer de données représentatives des sites où les mesures sont effectuées pour les évaluations de modèle, ce qui peut cependant se révéler compliqué dans un réseau de parcelles d'agriculteurs tel que celui-ci.

Ce point souligne la difficulté de valider ce type de modèle avec des données obtenues dans de réelles conditions de culture, ce qui a déjà été soulevé par Kiniry et Jones (1986) pour qui les erreurs de prédiction pouvaient être liées plus à la qualité des données d'entrée qu'à la logique et à la calibration des modèles, ce qui met en évidence l'intérêt des analyses de sensibilité.

3.4 Conclusions sur les améliorations potentielles de l'algorithme

Les résultats présentés ci-dessus ont souligné l'intérêt de l'introduction d'un module de floraison au sein de MAPOD® et ont confirmé une des hypothèses de construction : la similitude des formes des dynamiques pour les floraisons mâle et femelle.

Cependant, pour le début et la durée des floraisons et les décalages temporels qui en découlent, les hypothèses établies grâce aux données disponibles au moment de la conception du modèle (variétés peu prolifiques et hybrides trois voies) se sont révélées caduques pour les hybrides commerciaux plus récents. Les sommes de températures et la précocité variétale ne peuvent expliquer la variabilité observée entre années dans le déclenchement de la floraison femelle. La protandrie, paramétrable dans le modèle en fonction de la densité de semis et du stress hydrique, ne paraît pas être une caractéristique génétique suffisamment stable pour les variétés étudiées car certaines, en fonction des années, ont pu être aussi protogynes.

Si des asynchronies de floraison de un à trois jours ont été considérées par certains auteurs comme ayant des répercussions mineures vis-à-vis du taux final d'OGM dans la récolte (Della Porta et al., 2008 ; Palaudelmas et al., 2012), des décalages de plus de trois jours ont montré leur efficacité dans la diminution du risque de pollinisation croisée (Della Porta et al., 2008). Une meilleure représentation du phénomène s'avère donc prioritaire dans MAPOD®. Une première étape a consisté à modifier le code du logiciel afin de pouvoir utiliser directement les dates et durées de floraison quand elles étaient disponibles (Cf. 2.8).

Ensuite, dans les études de coexistence postérieures, les conséquences de ces résultats ont été prises en compte dans la définition des cas à tester (situations à risques vis-à-vis de la synchronisation des floraisons) et dans l'interprétation des sorties de simulations.

Enfin, une base pluriannuelle de données de suivis de dynamiques de floraison a été établie grâce à des observations faites de 2006 à 2010 par le GEVES et l'IRTA[40]. Elle reste à valoriser.

Cette phase de validation a aussi démontré la nécessité d'améliorer le modèle pour la prévision de la pollinisation en bordure de champ, notamment afin de pouvoir tester avec précision l'effet d'un détourage (cas du maïs doux par exemple, cf. § 1.3) ou d'une zone tampon. Une collaboration avec des équipes développant des modèles physiques de dispersion a été mise en place afin d'améliorer la prise en compte des turbulences et autres phénomènes de bordure (Cf. 2.8). Ces travaux, initiés lors du projet GCOM2AP, sont toujours en cours.

Outre des effets de turbulence, une autre explication des surestimations observées consisterait dans la présence d'un décalage de floraison entre la bordure et le reste du champ qui pourrait être dû à des hétérogénéités (tassement par exemple) ce qui a conduit à réfléchir au suivi de dynamiques de floraison au sein d'hétérogénéités dans des champs de maïs (projet GCOM2AP) et à l'introduction de modifications dans le code en permettant de les individualiser dans les parcelles (Cf. 2.8).

[40] IRTA : *Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries* ; Institut de recherche basé en Catalogne

Table 14 : Dispositifs multiparcelles utilisés pour l'évaluation du modèle MAPOD®

Lieu *Type de climat* Référence	**Années**	**Description**	**Mesures effectuées**
Uithuizen (NL, Groningen) **Eerste Exloërmond (NL, Drenthe)** **Tweede Exloërmond (NL, Drenthe)** **Lelystad (NL, Flevoland)** **Schaarsbergen (NL, Gelderland)** **Tholen (NL, Zeeland)** *Océanique* (Van de Wiel *et al.*, 2009)	2007	Une parcelle carrée d'un hectare semée en maïs Bt MON810 et quatre parcelles réceptrices de même taille situées de chaque côté du champ émetteur à 25 m semées avec une variété quasi isogénique ; sol nu ou cultures diverses dans les discontinuités (3 lieux) Une parcelle carrée d'un hectare semée en maïs Bt MON810 et quatre parcelles réceptrices de 0.25 ha situées de chaque côté du champ émetteur à 250 m semées avec une variété quasi isogénique ; sol nu ou cultures diverses dans les discontinuités (3 lieux)	Taux de pollinisation croisée dans les champs non-OGM (Analyse PCR) Dates de début floraison mâle et femelle Dynamiques de floraison mâle et femelle (pas de temps : trois jours) Quantité journalière de pollen produite (mesure par ensachage et pesée) Itinéraire technique Climat journalier de la plus proche station météo (entre 0 et 6 km des essais).
Foixà (Espagne, Catalogne) *Méditerranéen* (Messeguer *et al.*, 2006)	2004 à 2008	Entre 48 et 56 parcelles OGM et non-OGM suivies chez des agriculteurs suivant les années (Voir détails en Annexe 3)	Taux de pollinisation croisée dans les champs non-OGM (Analyse PCR) Dates de début floraison mâle et femelle (sauf 2008) Dynamiques de floraison mâle et femelle Densités de semis Climat journalier de la plus proche station météo (environ sept kilomètres des zones de prélèvement)

3.5 Confrontation à des données recueillies dans des dispositifs pluriparcellaires

Beckie et Hall (2008) ont souligné la difficulté de modéliser des situations multisources et encore plus celle de trouver des jeux de données adéquats afin d'effectuer une procédure de validation. L'évaluation de MAPOD a été réalisée grâce à deux jeux de données : le premier comportant les résultats d'essais réalisés aux Pays-Bas, le second regroupant des mesures effectuées pendant plusieurs années en Catalogne par l'IRTA dans des conditions réelles de coexistence, notamment dans le cadre du projet européen SIGMEA et du projet ANR GCOM2AP (Cf. Table 14). Pour des raisons de non-validité de MAPOD en cas de fort stress hydrique (Voir note 32), seules ces dernières ont servi à estimer la qualité prédictive du modèle à grande échelle ainsi que la capacité à prendre des décisions de classement d'une récolte par rapport à un seuil grâce aux sorties de simulations.

3.5.1 Présentation des données

Parcellaire

Les données d'observation ont été acquises dans la zone de Foixà sur cinq années, de 2004 à 2008. Sur l'ensemble de cette période, 33 variétés de maïs ont été utilisées, dont 13 étaient transgéniques. Les champs échantillonnés l'ont été en fonction des champs OGM avoisinants mais aussi en fonction des décalages existants à la floraison afin de représenter une gamme variée de situations de coexistence (Messeguer *et al.*, 2006). Une vue de la zone et la répartition des parcelles transgéniques selon les différentes années sont fournies dans l'Annexe 3. Les données météorologiques ont été recueillies par l'IRTA dont la station expérimentale est à proximité de la zone de Foixà (7 km de distance).

Échantillonnages pour les analyses PCR

Chaque année, des parcelles de maïs conventionnel ont été échantillonnées afin d'estimer le taux de pollinisation croisée grâce à une analyse PCR : sept parcelles en 2004, cinq en 2005, cinq en 2006, sept en 2007 et trois en 2008. En fonction des parcelles et des années, l'échantillonnage (trois à dix épis par point) a été fait d'après un plan « standard », suivant le contour, en transect ou selon un plan stratifié (Cf. Figure 29). Pour une même parcelle une année donnée, il peut y avoir jusqu'à trois de ces différents plans d'échantillonnage superposés. Le nombre de mesures par parcelle varie donc de six à soixante (voir Annexe 3.3 pour plus de détails). Pour chaque parcelle, une tesselation de Voronoï[41] a été effectuée en prenant les points d'échantillonnage comme germe. Une moyenne par parcelle du pourcentage de génome OGM a été calculée en pondérant la valeur PCR de chaque échantillon par la surface du polygone de Voronoï qui lui correspondait.

[41] Un diagramme de Voronoï est une partition du plan euclidien R^2, générée à partir d'un ensemble E de points, appelés *sites* ou *germes*. À chaque germe g_1 est associé un élément p_1 de cette partition, définie par le sous-ensemble des points du plan qui sont plus proches de g_1 que de tous les autres germes de E. La partition ainsi construite est constituée d'autant de polygones que de germes. Ces polygones, appelés *polygones de Voronoï* sont de forme convexe. Leurs arêtes sont donc constituées des points à égale distance de deux germes (Le Ber *et al.*, 2010). Voir la Figure 42 pour un exemple.

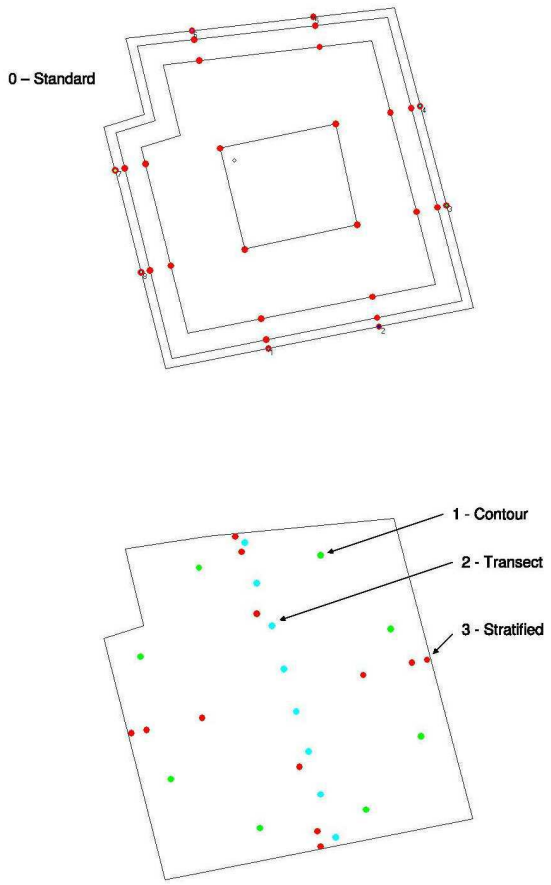


Figure 29 : Plans d'échantillonnage utilisés pour les prélèvements dans la zone de Foixà

Table 15 : Pourcentage moyen d'OGM mesuré par analyse PCR par parcelle. Les valeurs en gras correspondent aux pourcentages supérieurs à 0,9 %

Année	Champ	%	Année	Champ	%	Année	Champ	%
2004	3120	0.083	2005	3115	0.149	2007	3103	0.174
	3122	0.001		3122	0		3192	**0.968**
	3194	0.008		3801	0.002		3540	0.551
	3802	0.074	2006	3105	0.847		3800	0.018
	4017	**1.723**		3192	0.359		4017	**2.823**
	4030	**1.584**		4017	0.253		4196	**1.51**
	4033	0		4030	0.248	2008	3117	0.518
2005	3024	**1.08**		4040	0.295		4016	0.058
	3114	**1.821**	2007	3101	0.093		4017	0.565

Simulations

Comme dans le cas de l'étude avec les parcelles de maïs waxy, différentes variantes de MAPOD® ont été testées. Les simulations ont été réalisées en effectuant des combinaisons entre l'utilisation :

- de deux courbes de dispersion : NIG0, courbe d'origine de MAPOD® et NIG1, courbe issue de la collaboration entre statisticiens et physiciens lors du projet GCOM2AP afin de mieux prendre en compte les caractéristiques du vent ;
- de trois courbes de dynamiques de floraison : celle incluse dans MAPOD et deux variantes, Dyn2 et Dyn3, obtenues dans un précédent projet de recherche (Paul, 2009). L'objectif étant de ne plus avoir de situations où les soies sont réceptives alors qu'il n'y a plus d'émission de pollen dans le champ (Cf. 3.2), les pourcentages journaliers d'émission ont été modifiés et la durée de floraison rallongée de deux jours (Cf. Figure 30 pour une comparaison avec la dynamique incluse dans MAPOD®).

En fonction des données de terrain collectées sur la zone et du type de dynamique de floraison, six cas ont été testés :

- **Sim 1** : les dates des floraisons mâle et femelle sont calculées par le modèle à partir de la date de semis et de la précocité de la variété. La dynamique de floraison est celle incluse dans l'algorithme de MAPOD®.

  NB : calculs pour toutes les années car toutes les données d'entrée sont disponibles (27 simulations, correspondant à autant de mesures, cf. Table 15)
- **Sim 2** : la date de floraison mâle correspond aux 50 % de floraison observés par l'IRTA lors de passages tous les deux à trois jours sur la zone de Foixà. La date de floraison femelle est estimée grâce à la protandrie calculée en fonction de la densité de levée et du stress hydrique avant floraison (Cf. Table 5 et Annexe 3). La dynamique de floraison est celle du modèle.

  NB : les simulations ont été faites sur les données de 2004 à 2007 car les observations n'ont pas été réalisées en 2008 ; 24 simulations)
- **Sim 3** : la date de floraison mâle correspond au début de floraison (premiers panicules émetteurs) observé dans les champs OGM et non-OGM quand l'information est disponible (soit 16 parcelles en tout sur 50 en 2006 et 11 sur 48 en 2007) et au "50 % de floraison" pour les autres parcelles. La date de floraison femelle est estimée grâce à la protandrie calculée en fonction de la densité de levée et du stress hydrique avant floraison (Cf. Table 5 et Annexe 3). La dynamique de floraison est celle du modèle.

  NB : calculs pour 2006 et 2007 seulement (12 simulations, cf. Table 15)
- **Sim 4D2** : les dates de floraison mâle et femelle sont calculées par le modèle à partir de la date de semis et de la précocité de la variété. La dynamique de floraison correspond à Dyn2 (Figure 30).

  NB : calculs pour toutes les années car toutes les données d'entrée sont disponibles (27 simulations)

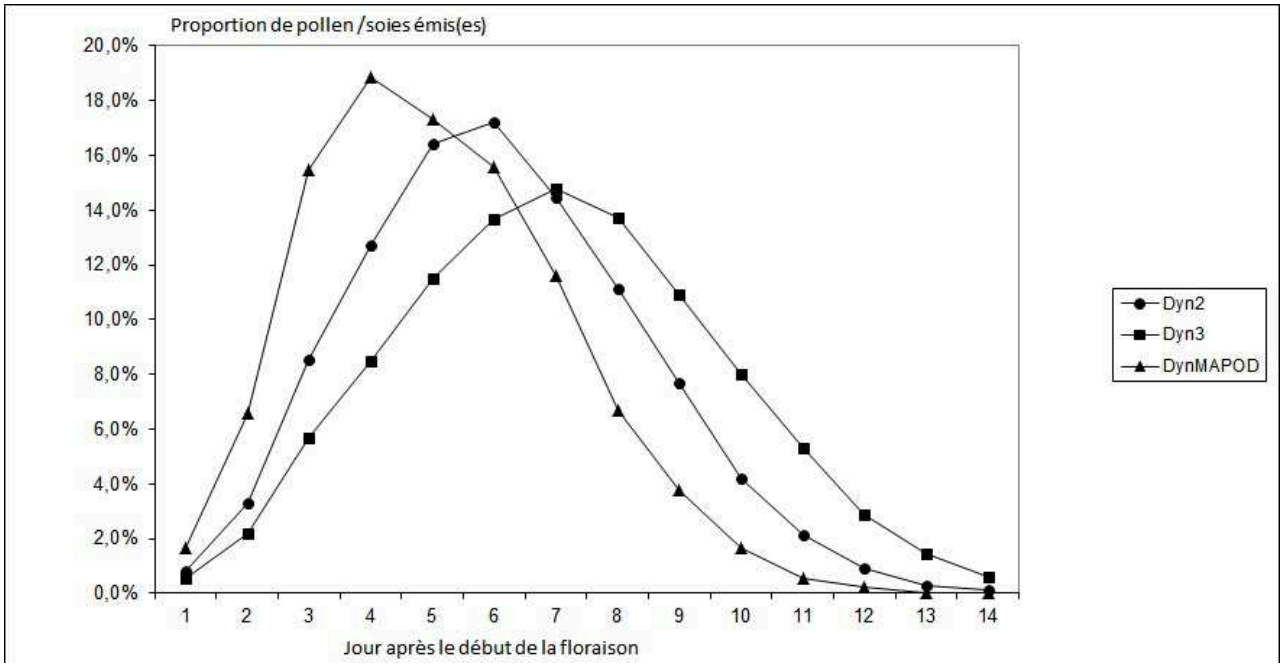


Figure 30 : Dynamiques de floraison Dyn 2 et Dyn 3 (Paul, 2009) en comparaison avec la dynamique interne de MAPOD®.

Table 1 : Répartition entre catégories pour les différentes séries de simulations et les observations PCR

		Sim1		Sim2		Sim3		Sim4D2		Sim4D3		Sim5	
Seuil		**nig0**	**nig1**	**nig0**	**nig1**	**nig0**	**nig1**	**nig0**	**nig1**	**nig0**	**nig1**	**nig0**	**nig1**
0,9 %	VP	3	5	6	7	2	2	3	6	5	6	7	6
	VN	17	12	14	13	6	3	18	16	18	16	8	7
	FP	4	8	3	4	3	6	2	4	2	4	12	13
	FN	3	2	1	0	1	1	4	1	2	1		1
0,1 %	VP	15	16	15	15	10	10	14	15	16	16	17	16
	VN	6	6	7	6	1	1	7	6	7	7	2	1
	FP	4	4	2	3	1	1	3	4	3	3	8	9
	FN	2	1					3	2	1	1		1

VP : vrai positif ; VN : vrai négatif ; FP : faux positif ; FN : faux négatif

	Total des taux mesurés par PCR	
Seuil	**inférieurs au seuil**	**supérieurs au seuil**
0.9 %	20	7
0.1 %	15	12

- **Sim 4D3** : les dates des floraisons mâle et femelle sont calculées par le modèle à partir de la date de semis et de la précocité de la variété. La dynamique de floraison correspond à Dyn3 (Figure 30).

  NB : calculs pour toutes les années (27 simulations)
- **Sim 5** : seul le module de dispersion est utilisé, le module de floraison est déconnecté.

  NB : calculs pour toutes les années

Les sorties de MAPOD® sont des taux de grains GM qui ont été convertis en pourcentage de génome GM de manière à être comparables aux mesures PCR. La conversion a été faite en utilisant la relation adaptée à la zone de Foixà et mise en évidence par Pla *et al.* (2006) :

$$\%GenomeGM = 0.5085 \times [100 \times propGrainGM] - 0.0206$$

3.5.2 Méthodes d'analyse de la qualité des prédictions réalisées avec MAPOD®

Qualité de prédiction des pourcentages de présence fortuite

La qualité de prédiction des pourcentages de présence fortuite a été réalisée en comparant les sorties de MAPOD® aux mesures de PCR (observations) dans chaque parcelle.
Pour chaque simulation, la mesure de l'erreur de prédiction du modèle a été effectuée en calculant le RMSE, le RRMSE et le biais[42] (Wallach *et al.*, 2006) sur l'ensemble des données, c'est-à-dire deux, quatre ou cinq années selon les cas.

Qualité de prédiction du dépassement des seuils de 0.1 % ou de 0.9 % de présence fortuite

Les sorties de simulations de MAPOD® peuvent servir d'indicateurs afin de déterminer si la récolte d'un champ peut être classée non-OGM ou pas. Afin d'évaluer la qualité de MAPOD en tant qu'outil d'aide à la décision permettant de classer les parcelles par rapport à un seuil de présence fortuite à la récolte, des analyses ROC[43] ont été réalisées (Makowski & Monod, 2011).
Pour les 27 champs échantillonnés, les mesures PCR (y) ont été divisées en deux groupes suivant que leurs valeurs étaient inférieures à un seuil y_t (en l'occurrence ici, 0.9 % et 0.1 % ; voir Table 16). On considère ensuite, pour chaque champ, Y comme la valeur d'une simulation obtenue avec un des six modèles. Chaque valeur de Y a été comparée avec un seuil de décision Y_t. Les résultats ont été utilisés pour déterminer le taux de vrais positifs (TVP), c'est-à-dire le nombre de champs pour lesquels $Y > Y_t$, dans le sous-groupe défini par $y > y_t$ divisé par le nombre total de parcelles dans ce sous-groupe) et le taux de vrais négatifs (TVN : nombre de champs pour lesquels $Y \leq Y_t$, dans le sous-groupe défini par $y < y_t$ divisé par le nombre total de parcelles dans ce sous-groupe). TVP et TVN sont des estimations de $P(Y > YT \mid y > yT)$ et $P(Y \leq YT \mid y \leq yT)$ et sont dénommés respectivement « sensibilité » et « spécificité ». Une courbe ROC pour un modèle est une représentation graphique de la

[42] RMSE : Root Mean Square Error ; RRMSE : Relative Root Mean Square Error
[43] ROC : Receiver Operating Characteristic

Table 17 : Valeurs de RMSE pour chaque type de simulation et chacune des deux courbes de dispersion

Courbe	NIG0				NIG1			
	RMSE	**RRMSE**	**Biais**	**Biais relatif**	**RMSE**	**RRMSE**	**Biais**	**Biais relatif**
Sim 1	0.75	128.1 %	-0.095	-16.29 %	0.90	154.6 %	-0.347	-59.27 %
Sim 2	0.95	160.4 %	-0.321	-54.91 %	1.29	218.0 %	-0.731	-124.84 %
Sim 3	1.47	194.0 %	-0.409	-69.89 %	1.62	226.4 %	-0.818	-139.70 %
Sim 4D2	0.57	97.4 %	0.069	11.73 %	0.74	126.8 %	-0.228	-38.99 %
Sim 4D3	0.55	94.5 %	0.058	9.91 %	0.82	140.6 %	-0.283	-48.43 %
Sim 5	1.33	226.5 %	-0.950	-162.29 %	2.31	394.5 %	-1.751	-299.11 %

Table 18 : P-value pour le test de Kruskal-Wallis sur les rangs des taux de pollinisation croisée pour chaque type de simulation effectuée

	NIG0	**NIG1**
Sim 1	0.76171	0,302208
Sim 4D2	0,82177	0,515812
Sim 4D3	0,67118	0,46147
Sim 5	0,302208	4,27E-05

Les simulations 2 et 3 n'ont pas été considérées, compte tenu d'un nombre de données inférieur (24 et 12) à celui des autres simulations (27).

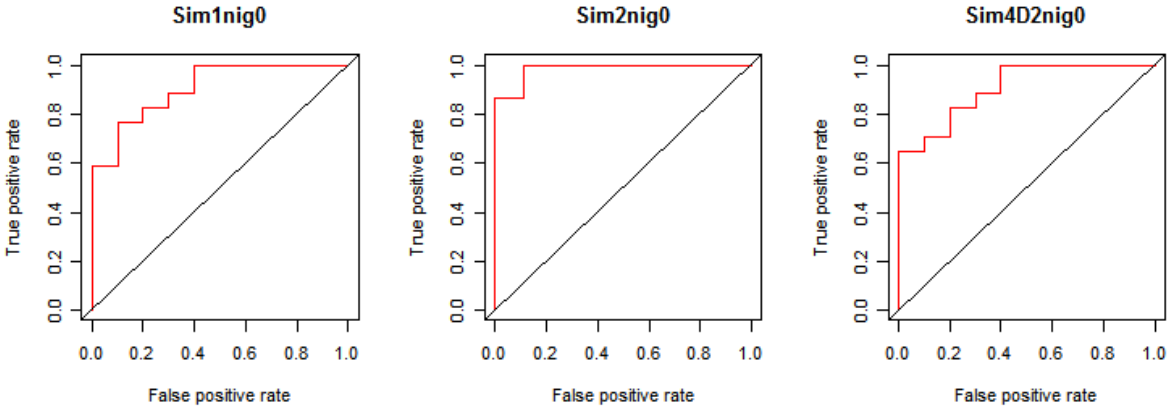


Figure 31 : Courbes ROC pour des simulations réalisées avec MAPOD® et deux de ses variantes

sensibilité en fonction de '1 – spécificité'[44] pour un seuil y_t donné (Cf. Figure 31 et Annexe 4 pour des exemples). TVP et TVN sont calculés en faisant varier le seuil de décision (Y_t) dans la gamme de ses valeurs possibles. L'utilisation de plusieurs valeurs de Y_t permet de prendre en compte un biais éventuel dans les prédictions du modèle.
Plus la courbe ROC passe par des valeurs de forte sensibilité et de forte spécificité, meilleur est le modèle, ce qui se traduit par une aire sous la courbe (AUC) plus importante. La valeur AUC = 0.5 correspond à un modèle aléatoire ; la valeur AUC = 1 correspond à un modèle « parfait » c'est-à-dire qui permet toujours de prendre la bonne décision.

Deux seuils y_t ont été considérés dans un premier temps :

- 0.9 %, seuil légal d'étiquetage ;
- 0.1 %, seuil de définition du « sans OGM » (Cf. Table 1).

Cependant, dans le jeu de données de l'IRTA, la répartition entre valeurs inférieures ou supérieures au seuil de décision varie selon que ce seuil est égal à 0.1 ou à 0.9 %. Dans ce dernier cas, il y a déséquilibre entre le nombre de champs dont le taux d'OGM dépasse 0.9 % et ceux pour lesquels il est inférieur. Compte tenu du faible nombre de données disponibles (27), l'analyse ROC a seulement été réalisée pour le seuil de 0.1 % pour lequel les effectifs de chaque catégorie sont du même ordre de grandeur (Cf.

Table 16).

3.5.3 Résultats

Qualité de prédiction des pourcentages de présence fortuite

Le détail des données, des résultats de simulations ainsi que les graphiques de résidus sont présentés en Annexe 4 et dans la Table 17.

L'analyse de biais montre que pour la majorité des simulations, à l'exception des simulations 4D2 et 4D3 (avec la courbe NIG0), il y a surestimation du taux d'OGM par rapport à celui qui a été mesuré par PCR et que celle-ci est plus importante avec la courbe de dispersion NIG1 que NIG0. Toutes les simulations incluant une dynamique de floraison (Sim 1, Sim 2, Sim 3, Sim 4D2 et Sim 4D3) présentent une erreur de prédiction plus faible que la simulation sans dynamique de floraison (Sim 5). L'utilisation des deux autres courbes de dynamiques de floraison (Dyn2 et Dyn3) a permis d'améliorer les prédictions par rapport à la dynamique de floraison de MAPOD®, mais ces deux possibilités sont apparues comme à peu près équivalentes (Table 17).

Cependant, la qualité prédictive de MAPOD® à l'échelle du paysage s'avère médiocre (Cf. RRMSE dans la Table 17) alors que c'était le bon ordre de grandeur qui était simulé pour des dispersions champ à champ (Cf. § 2.4). La comparaison des données mesurées et simulées montre que pour certaines des situations, ce sont les simulations 5, avec synchronisme des floraisons, qui sont les plus proches des mesures de terrain (champs 3802 en 2004, 3105 et 4040 en 2006 et 4017 en 2007, Cf. Annexe 4) et que l'utilisation des dates de 50 % floraison mesurées peut améliorer la qualité de la prédiction.

[44] C'est-à-dire en fonction du taux de faux positifs qui traduit la probabilité de déclarer avec le modèle qu'une parcelle dépasse le seuil de décision sachant qu'en fait elle ne le dépasse pas.

Table 19 : Valeurs d'AUC des analyses ROC

Seuil PCR	**0.1 %**	
Courbe de dispersion	**NIG0**	**NIG1**
Sim1	0.91	0.88
Sim2	0.99	0.99
Sim3	1.00	1.00
Sim4D2	0.91	0.91
Sim4D3	0.91	0.90
Sim5	0.80	0.69

Pour Sim2 et Sim3, les AUC sont données à titre indicatif, vu le nombre de données inférieur à celui des autres simulations.

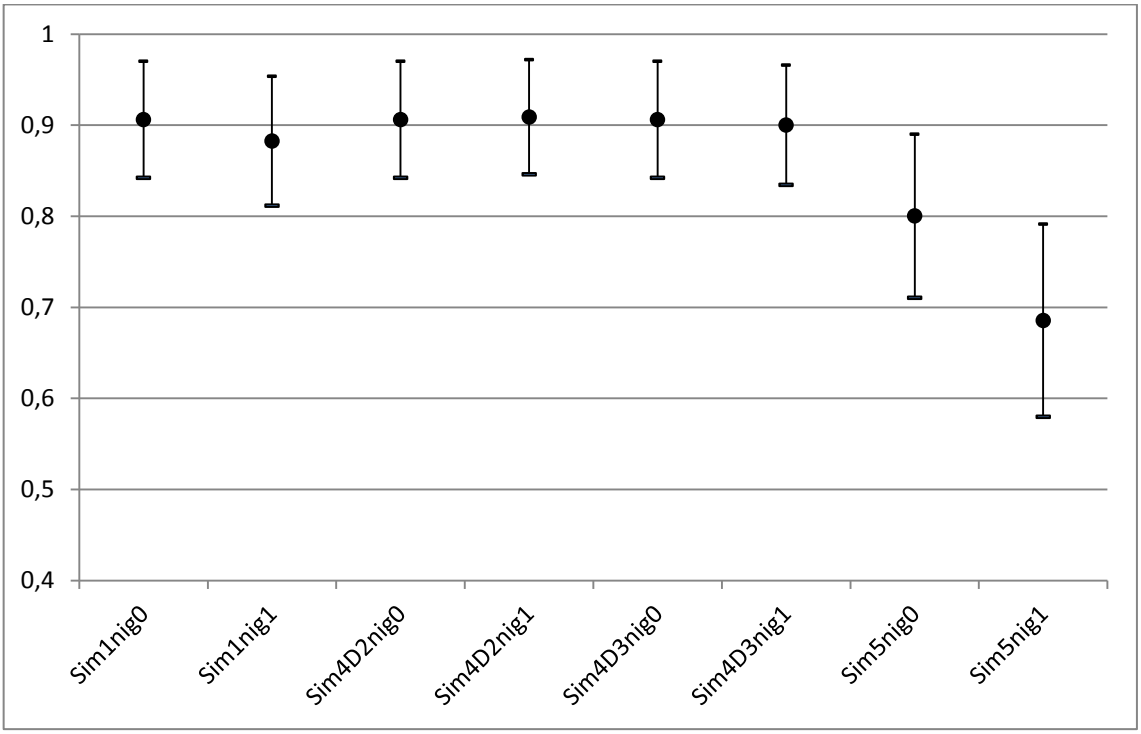


Figure 32 : Comparaison des valeurs d'AUC pour les simulations ayant le même effectif (27 parcelles).

Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus lors de l'évaluation du module de floraison (Cf. § 3.2) qui soulignaient la difficulté de prédire le début floraison ce qui était notamment dû à la protandrie, celle-ci n'étant pas stable entre années pour certaines variétés.

Pour 2005, il convient de revenir sur le fait que le protocole de broyage avant PCR n'a pas été le même que pour les autres années d'expérimentation. Pour 2004, 2006, 2007 et 2008, les épis prélevés au champ ont été broyés, la farine a été homogénéisée puis l'échantillon a été prélevé pour l'analyse PCR. En 2005, un seul épi parmi ceux récoltés a été broyé. Compte tenu de la variabilité qui peut être observée entre épis proches, un tel type d'échantillonnage pourrait expliquer des valeurs aberrantes comme celles observées pour la parcelle 3115 cette année-là alors que les parcelles à faible taux (3122 et 3801), dont la variabilité inter-épis est faible, sont correctement simulées (Cf. Annexe 4).

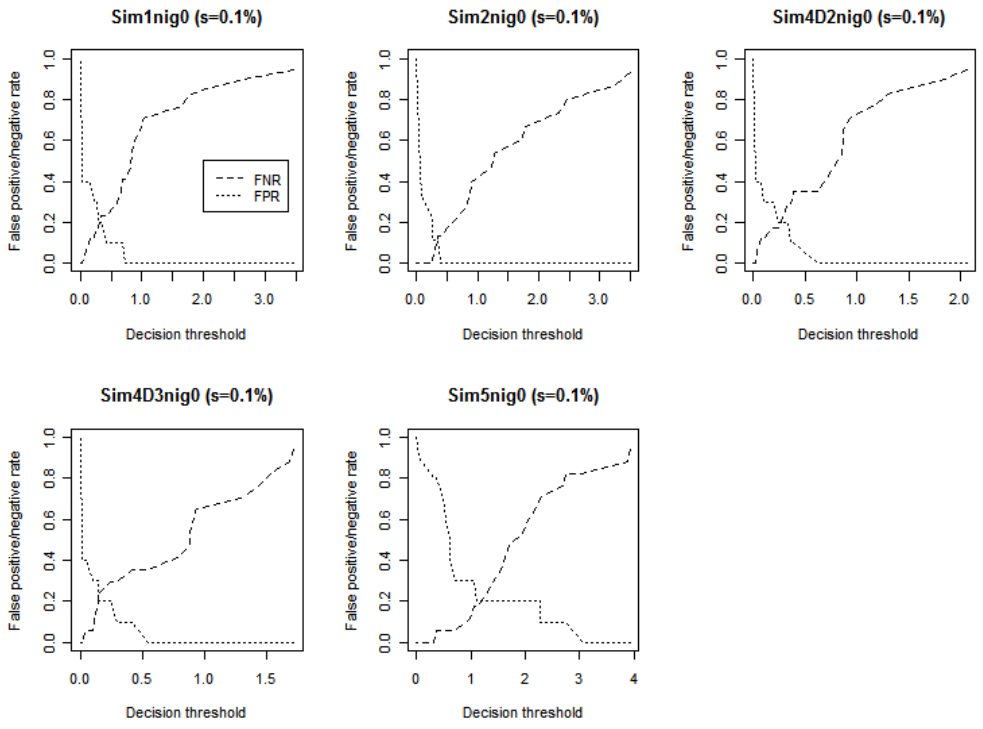
L'étape suivante a consisté à vérifier si MAPOD® classait correctement les situations selon le risque de pollinisation efficace. Un test de Kruskal-Wallis a donc été effectué pour déterminer les corrélations entre les rangs de chaque série de simulations et ceux des mesures PCR. Les résultats sont présentés dans la Table 18. Les simulations utilisant la courbe de dispersion initiale du modèle et le module de floraison permettent de classer le mieux les situations en fonction du risque.

Ceci était un préalable pour déterminer si MAPOD®, malgré les erreurs de prévision, pouvait permettre de prendre des décisions correctes vis-à-vis du respect d'un seuil, ce qui a été testé grâce à une analyse ROC, réalisée avec la librairie ROCR (Sing *et al.*, 2009 ; R Development Core Team, 2011).

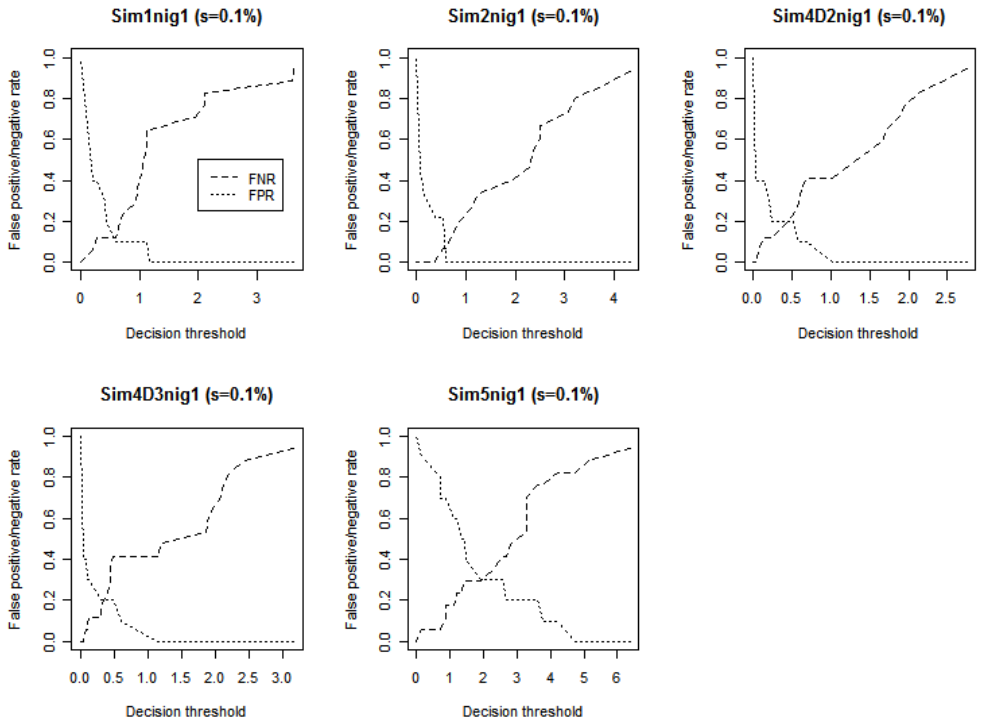
Qualité de prédiction de dépassement d'un seuil

Les graphiques des courbes ROC et les p-valeurs des comparaisons deux à deux des courbes sont présentés dans l'Annexe 4. Les valeurs d'AUC des analyses ROC sur les différentes simulations étaient comprises entre 0.69 et 1 (Table 19). Elles sont toutes significativement différentes du modèle aléatoire (AUC = 0.5) mais seule la simulation Sim5NIG1 est significativement différente des autres (Figure 32). Les valeurs des AUC montrent de ce fait que MAPOD® discrimine de façon satisfaisante les situations selon le seuil de 0.1 %. Les courbes ROC (Cf. Annexe 4.4) restent cependant éloignées du point idéal (1, 1).

La Figure 33 présente les taux de faux positifs (TFP) et de faux négatifs (TFN) en fonction du seuil de décision (Y_t). Plus le seuil est élevé, plus la spécificité (1 – TFP) augmente et plus la sensibilité (1- TFN) diminue. TFP et TFN traduisent deux types de risques antagonistes dans la prise de décision. L'analyse ROC permet, entre autres, de choisir le seuil de décision (Y_t) en fonction de ce que l'on accepte pour ces deux types de risques. Ainsi, ces graphes permettent d'identifier les seuils qui conduisent à des taux faibles de faux positifs et négatifs, c'est-à-dire à une règle de décision fondée sur les simulations de MAPOD® qui soit à la fois spécifique et sensible. À partir des résultats obtenus précédemment, il a été choisi de se focaliser sur les simulations réalisées en utilisant la courbe de dispersion NIG0 et le module de floraison du modèle.



A : avec la courbe NIG0



B : avec la courbe de dispersion NIG1

Figure 33 : Graphes des taux de faux positifs et de faux négatifs en fonction des seuils de décision pour les simulations réalisées

L'objectif était d'avoir une spécificité et une sensibilité élevées, c'est-à-dire supérieures ou égales à 0.8 pour s'assurer de la qualité de la décision prise avec le modèle (Makowski, *Comm. Pers*.). Le modèle Sim2NIG0 permet d'obtenir une sensibilité et une spécificité égales respectivement à 1 et à 0.87 pour un seuil de décision à 0.394. Il faut noter cependant que cette série de simulations ne comporte que 24 situations. Quand MAPOD® est utilisé (Sim1NIG0) ou sa variante avec une dynamique de floraison modifiée (SIM4dyn2) pour simuler les 27 cas du jeu de données de l'IRTA, les seuils de décision équivalent, respectivement, à 0.297 % et 0.394 % pour une spécificité qui vaut alors 0.82 et une sensibilité de 0.8.
En adaptant le seuil de décision, il est donc possible d'utiliser les sorties de ces différents modèles comme support d'un test permettant de classer les champs de maïs non-GM vis-à-vis du respect du seuil 0.1 % de présence fortuite.

3.6 Conclusions sur la qualité prédictive du modèle

Les conclusions sont assez différentes lorsqu'on s'intéresse à la qualité de MAPOD® pour prédire quantitativement un pourcentage de présence fortuite ou pour prédire qualitativement le classement des parcelles par rapport à un seuil PCR prédéfini.

Dans les deux cas, l'utilisation de la courbe de dispersion NIG0 semble conduire à de meilleurs résultats que l'utilisation de la courbe NIG1.

En termes de prédiction quantitative, l'utilisation d'une courbe de dynamique de floraison a permis de réduire le niveau d'erreur par rapport aux simulations en floraison synchrone. De plus, les deux courbes de dynamique de floraison Dyn2 et Dyn3 ont conduit, de façon équivalente, à de meilleurs résultats que la courbe interne de MAPOD®. Il est possible alors de supposer que c'est l'allongement de la durée de floraison de deux jours qui explique cet effet et non les différences dans la répartition des quantités de pollen émises quotidiennement.

Cependant, la qualité des prédictions reste faible et certaines des erreurs peuvent s'expliquer par une mauvaise prévision du synchronisme des floraisons de parcelles voisines, confirmant en cela les résultats obtenus lors de l'évaluation du module de floraison et la priorité à donner à la prévision des dates de début floraison dans de futurs travaux de modélisation.

En termes de prédiction qualitative pour une prise de décision vis-à-vis du respect d'un seuil de 0.1 %, en utilisant la courbe NIG0, il n'est pas apparu de différence significative entre les simulations avec ou sans dynamique de floraison.
Cependant, compte tenu des résultats obtenus précédemment, le calcul de seuils pour optimiser à la fois la spécificité et la sensibilité d'une règle de décision basée sur les sorties de simulations a été effectué sur les modèles utilisant un module de floraison.
Il en ressort qu'il est possible d'utiliser MAPOD® ou l'une de ses variantes pour prévoir le respect d'un seuil de présence fortuite de 0.1 % (mesuré par PCR) lorsque les précocités, les dates de semis (ou la date de 50 % floraison) et le climat jusqu'à la fin floraison sont connus. Ceci permet d'envisager un usage pour l'aide à la décision sur un bassin de collecte afin d'orienter les échantillonnages avant récolte et/ou les allotements dans des silos pour les

filières « sans OGM » (Cf. Table 1), ce qui n'a pas encore été réalisé lors des différentes utilisations du modèle décrites dans le chapitre suivant.

Enfin, ces conclusions seront à confirmer sur d'autres jeux de données car les résultats d'une analyse ROC dépendent de l'échantillon considéré (Makowski, *Com. Pers.*). L'augmentation du nombre de mesures dans des champs d'agriculteurs pourrait aussi permettre de tester la capacité des modèles à discriminer les situations vis-à-vis du seuil de 0.9 % (Cf. le problème d'effectifs évoqué plus haut). Elle permettrait en outre de poursuivre les analyses sur la qualité de prédiction des taux d'OGM dans les récoltes.

Utilisations du modèle

Table 20 : Effet du détourage sur le taux moyen de présence fortuite pour un champ de maïs non-OGM adjacent à un champ de maïs OGM de même taille (2 ha)

Largeur de détourage	**Estimation de la diminution du taux de présence fortuite**
6 m	- 20 %
10 m	- 25 %
12 m	- 32 %
20 m	- 41 %

Le détourage d'une parcelle consiste à récolter séparément les bordures de parcelles en face d'un champ OGM, pour lesquelles la pollinisation croisée est la plus forte, afin de réduire la présence d'OGM dans la récolte finale. L'impact de cette mesure est significatif pour des parcelles adjacentes ou peu éloignées l'une de l'autre (Angevin et al., 2002). Une largeur de 6 m s'est avérée techniquement et économiquement la plus efficace (Bock et al., 2002). Ceci a été confirmé ensuite par des essais (Langhof et al., 2010).

4 Utilisations du modèle

Comme évoqué ci-dessus, MAPOD® a été conçu lors de l'étude « Pertinence et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM » (2001). Les premières utilisations qui en ont été faites visaient à évaluer, dans le cadre de cahiers des charges de plus en plus complexes, la faisabilité de la coexistence et l'efficience de mesures techniques (Meynard & Le Bail, 2001 ; Angevin *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2006). Ces résultats sont présentés dans le premier paragraphe de ce chapitre. Par la suite, dans le cadre de collaborations pluridisciplinaires, les usages de MAPOD® se sont diversifiés, notamment lors de couplages avec d'autres modèles.

4.1 Utilisation du modèle pour les études de coexistence

Le modèle a d'abord été utilisé pour tester l'efficacité pour la coexistence de mesures individuelles et de combinaison de pratiques en suivant les deux composantes de l'isolement reproducteur (Ireland *et al.*, 2006) :

- **biologique** (date et durée de floraison, densité de pollen émis, quantité totale de pollen émis, ratio mâle/femelle en production de semences) ;
- **physique,** c'est-à-dire les facteurs limitant la capacité du pollen à entrer dans le champ récepteur : distance entre champs, orientation et tailles relatives des champs émetteur et récepteur.

Dans la suite des recherches, les conséquences de la structuration des paysages agricoles sur la faisabilité de la coexistence ainsi que l'efficacité de différentes stratégies de gestion ont été testées grâce au modèle (Messéan *et al.*, 2009 ; Le Bail *et al.*, 2010).

L'objectif de la première étude sur la coexistence réalisée avec MAPOD® (Meynard *et al.*, 2001) était de tester des mesures individuelles que pourrait mettre en place un agriculteur cultivant des variétés non-OGM pour limiter les risques de présence fortuite d'OGM dans sa récolte. La possibilité de respecter différents niveaux de seuils a été testée :

- 1 %, seuil légal d'étiquetage à l'époque ;
- 0.1 %, seuil de quantification avec les méthodes PCR ;
- 0.01 %, (traces) seuil de détection avec les méthodes PCR (AFNOR, 2000).

Une série de simulations a consisté à estimer les flux de pollen **entre un champ émetteur et un champ récepteur**, en faisant varier leur taille et leur forme ainsi que les conditions de vent (intensité plus ou moins forte pour représenter le contexte de plusieurs régions de production de maïs). L'effet des distances entre parcelles et celui des décalages de floraison ont été simulés séparément puis en combinaison. Des exemples de mesures de coexistence sont donnés dans le paragraphe 2.5 et la Table 7. Il ressortait de ces résultats la nécessité d'adapter les règles techniques en fonction du contexte climatique (vent et possibilité de cultiver des variétés de précocités différentes).
Ensuite, différents niveaux d'adoption de variétés OGM (de 2.5 % à 20 %) **dans un bassin de collecte de 600 ha** ont été simulés selon trois contextes de vent et deux scénarios d'allocation des parcelles d'OGM (parcelles groupées en un bloc *vs* parcelles de cinq hectares uniformément dispersées).

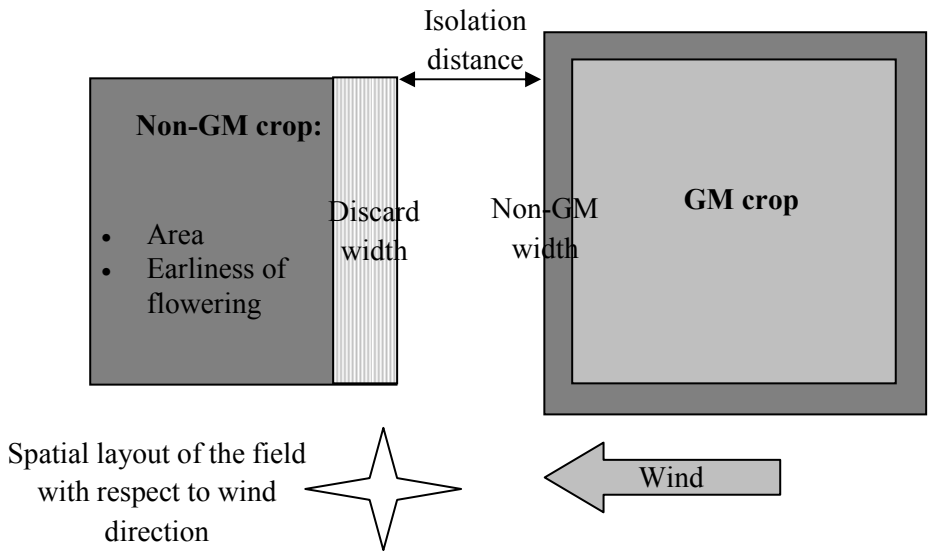


Figure 34 : Mesures de coexistence testées avec MAPOD®

Encadré 3 : Description des situations et mesures de coexistence étudiées par simulation avec MAPOD®

Les simulations ont été réalisées en utilisant l'intensité moyenne du vent d'une zone productrice de maïs en Poitou-Charentes et en en faisant varier la direction selon cinq angles représentatifs des vents pendant la période de floraison. Les surfaces des parcelles réceptrices (2 ha, 3 ha, 5 ha, 7.5 ha, 10 ha, 12.5 ha, 15 ha) ont été choisies en fonction de la distribution des tailles de champ observée dans cette région (95 % des champs font en effet moins de 15 ha). La parcelle OGM émettrice avait quant à elle une surface de 15 ha, ce qui correspondait donc à une situation potentiellement à risque.

Table 21 : Baisse du taux de pollinisation croisée due à la présence d'une zone tampon autour de la parcelle de maïs OGM

Direction du vent		**La parcelle non-OGM est sous le vent de la parcelle OGM**			**La parcelle non-OGM est contre le vent de la parcelle OGM**		
Largeur de la zone tampon		**9 m**	**12 m**	**18 m**	**9 m**	**12 m**	**18 m**
Distance entre les deux parcelles	0 m	-35 %	-42 %	-50 %	-60 %	-65 %	-71 %
	20 m	-17 %	-21 %	-30 %	-21 %	-25 %	-35 %
	50 m	-14 %	-17 %	-24 %	-16 %	-20 %	-28 %
	100 m	-11 %	-14 %	-21 %	-12 %	-15 %	-22 %
	Plus de 150 m	-9 %	-12 %	-18 %	-9 %	-12 %	-18 %

Les résultats obtenus ont mis en évidence l'effet du regroupement des parcelles OGM qui diminue le risque de pollinisation croisée et l'impossibilité de respecter le seuil de 0.01 % dans les conditions définies pour les simulations. La recommandation émise pour respecter ce seuil a donc été une séparation régionale complète des variétés OGM et non-OGM.

Cette première utilisation de MAPOD® pour l'aide à la décision a été immédiatement suivie par la participation à une expertise commanditée par l'Institut de Prospective de la Commission européenne (IPTS) avec un cahier des charges assez similaire (Angevin *et al.*, 2002 ; Bock *et al.*, 2002)[45]. Après avoir estimé des différentes sources potentielles de mélanges entre le semis et la récolte (Cf. § 1.2), il s'agissait de déterminer, pour différentes régions de production de maïs en Europe, quelles mesures individuelles (distances d'isolement, décalage de floraison, détourage ; pour cette dernière mesure, voir Table 20) un agriculteur cultivant des variétés non-OGM ou biologiques devrait mettre en place pour respecter les seuils de 0.1 % et 1 % selon plusieurs scénarios d'introduction de variétés OGM et plusieurs systèmes de production (OGM, mixte OGM et conventionnel, conventionnel, biologique). Afin de représenter la diversité des régions de production européennes, tant du point de vue du contexte pédoclimatique, des pratiques que des paysages agricoles, des « fermes-types » ont été définies. Cette méthodologie a permis de tester la faisabilité des mesures au champ (décalage de floraison selon la gamme de variétés disponibles ; distances d'isolement en fonction de la structure du parcellaire) mais aussi de prendre en compte d'autres sources de mélanges entre grains OGM et non-OGM liées à l'organisation du travail (répartition des périodes de pointe plus susceptibles d'aboutir à des erreurs de manipulation) et les risques associés au matériel (en propriété ou partagé). Il est ressorti de cette étude :

- qu'un diagnostic global préalable de l'exploitation agricole (parcellaire, équipement, organisation du travail) était nécessaire pour hiérarchiser les risques de mélanges. En l'occurrence, pour certaines fermes, ce n'est pas la dissémination au champ qui représente la source majeure de présence fortuite d'OGM dans les récoltes ;
- que, pour être efficaces, la plupart des solutions techniques mises en place au champ requièrent une coordination entre agriculteurs voisins ;
- que le respect des taux les plus faibles nécessiterait le recours à des contrats comme ceux qui existaient déjà pour certaines filières ségrégées (cahier des charges pour le choix des variétés, règles d'allocation des cultures ; Cf. 1.3).

Par ailleurs, des problèmes méthodologiques ont été soulevés, qui concernaient l'extrapolabilité des résultats obtenus à d'autres régions de production et les relations/échanges aux frontières des paysages définis comme entrées du modèle.

Cette étude a été complétée par la suite lors d'une nouvelle expertise pour l'IPTS (Messéan *et al.*, 2006) dont le cahier des charges prenait alors en compte les recommandations sur la coexistence émises en 2003 (CE, 2003a) stipulant que c'était l'agriculteur qui introduisait l'innovation qui devait mettre en place les mesures de coexistence vis-à-vis de ses voisins[46].

[45] Voir aussi le résumé exécutif de l'ensemble de l'étude en Annexe 5 (Bock *et al.*, 2002)
[46] Voir aussi le résumé exécutif de l'ensemble de l'étude en Annexe 6 (Messéan et *al.*, 2006)

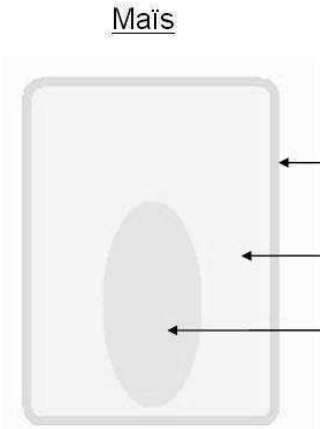
Encadré 4 : Lecture des tables de décision

L'étude menée avec le modèle MAPOD® à l'échelle parcellaire a tenu compte d'un certain nombre d'hypothèses de travail :

- Les variétés OGM et non-OGM produisent la même quantité de pollen par plante.
- La fertilité pollinique entre OGM et non-OGM est équivalente.
- Il n'y a pas d'obstacles physiques entre les parcelles OGM et non-OGM.

Les tables suivantes présentent de façon synthétique l'effet de différentes mesures de coexistence et les possibilités de les combiner afin de respecter un niveau de présence fortuite d'OGM donné. La gamme de taux d'OGM proposée, qui varie de « 0 » à 0,9 %, permet ainsi de prendre en compte différentes hypothèses relatives aux deux autres grandes sources de mélanges identifiées : le matériel (3 niveaux : 0, 0,1 et 0,4 %) et le taux d'impuretés dans les semences (3 niveaux : 0,1, 0,3 et 0,5 %). On procède de façon additive pour déterminer le niveau de mélange cumulé toutes sources confondues (semences, matériel, pollinisation croisée). Les résultats de Njontie *et al.* (2011) qui visaient à évaluer expérimentalement les conséquences chez le maïs de l'introduction de grains OGM dans la parcelle par l'intermédiaire d'impuretés variétales dans le lot de semences justifient cette démarche. Ils montrent en effet que le pourcentage final d'OGM dans la récolte dû à cette source spécifique équivaut au niveau initial d'impuretés GM mesuré dans les semences.

Par exemple, la Table 23 traite le cas d'une parcelle non-OGM située sous le vent d'une parcelle OGM, l'OGM étant hétérozygote. En supposant que le matériel est dédié (0 % de mélanges dus au matériel) et que les semences contiennent 0,3 % de grains OGM, on considère que pour respecter le seuil de 0,9 %, la présence fortuite maximale due à la pollinisation croisée est de 0,6 %. Avec une parcelle non-OGM d'une surface inférieure à 5 ha, ceci est possible sans décalage de floraison ni mise en place de zone tampon : une distance d'isolement de 100 mètres entre les deux parcelles est alors nécessaire. Dans le cas de deux parcelles adjacentes, il faut implanter une zone tampon de 18 mètres autour de la parcelle OGM et assurer un décalage de floraison de deux jours. Un décalage de floraison de quatre jours (60 degrés-jours) peut aussi permettre de respecter ce pourcentage d'OGM.



Origine	♀	♂
Tégument (2n) 3 %	2	0
Endosperme (3n) 49 %	2	1
Embryon (2n) 48 %	1	1

Figure 35 : Contribution des gamètes parentaux au génome pour chacun des tissus de la graine de maïs (adapté de Holst-Jensen* et al.*, 2006[47] in Le Ny* et al.*, 2011)

[47] Les valeurs relatives à la proportion des tissus dans les grains sont données à titre indicatif, ce caractère variant dans une certaine mesure en fonction de l'interaction génotype – environnement (Trifa & Zhang, 2004).

Ceci a abouti :

- À évaluer l'efficacité **des mesures individuelles** proposées par les États membres en préalable à la mise en place de leur réglementation (par exemple l'effet d'une zone tampon, cf. Figure 34 et Table 21) ;
- Mais aussi, suite aux résultats obtenus en 2002, à tester des **combinaisons de ces pratiques** de façon à pouvoir s'adapter aux contraintes climatiques et structurelles (caractéristiques du parcellaire) de différentes régions de production ;
- Enfin, à estimer **la faisabilité de la coexistence à une échelle spatiale**, qui prenne en compte l'assolement réel en maïs dans une région de production et selon deux scénarios d'introduction des variétés OGM (10 % et 50 % de la sole de maïs).

Au cours de cette étude, nous avons aussi collecté les références disponibles à l'époque sur les mélanges liés à l'utilisation du matériel et pris en compte les hypothèses de présence d'impuretés variétales OGM dans des lots de semences non-OGM (0,1 %, 0, 3 % et 0.5 %). En effet, une autre partie de ce travail traitait des contraintes techniques pour le respect de chacun de ces seuils dans les semences (Messéan *et al.*, 2006) afin d'aider au choix du seuil légal dans les lots commercialisés.

Pour les productions de maïs de consommation, ces simulations ont montré que les zones tampons, comme vu précédemment pour le détourage, étaient efficaces si les parcelles émettrice et réceptrice étaient séparées de moins de 50 m (Table 21). Ceci a été corroboré depuis par des essais en Allemagne (Rühl *et al.*, 2011). Par ailleurs, là encore comme pour le détourage, cette pratique peut trouver ses limites si les champs sont de petite taille, d'où la nécessité de tester des combinaisons de mesures.

Les résultats, exprimés en pourcentage de grains OGM dans la récolte non-OGM, ont été présentés sous forme de tables d'aide à la décision afin de prendre en compte non seulement les seuils à respecter en fonction des contraintes de matériel, de pureté des semences et de débouchés (Cf. Encadré 4) mais aussi les différentes combinaisons de pratiques et les conditions de vent (Table 22 et Table 23[48]). Ces tables montrent que la faisabilité au champ de la coexistence dépend du seuil à respecter dans la récolte et de l'importance des autres sources de mélanges (Encadré 4). S'il s'avère possible de respecter le seuil de 0.9 % exigé dans l'alimentation animale et ce, même dans des conditions défavorables de vent (Table 23), le seuil de 0,1 %, exigé dans certaines filières agro-alimentaires (Raveneau, 2005) nécessiterait, dans ces mêmes conditions, un isolement minimal de 300 m et des semences pures (Table 23).
Enfin, sur cette base, pour des filières telles que l'agriculture biologique, qui revendiquent une absence totale d'OGM dans leurs productions, la coexistence à l'échelle locale s'avère techniquement impossible dans la plupart des cas.

Par ailleurs, la faisabilité technique devient plus complexe dans le cas de maïs homozygote, tous les grains de pollen portant alors le transgène (Cf. Annexe 7.3 et Annexe 7.4), ce qui peut se rapprocher des situations des variétés à gènes empilés (Paul *et al.*, 2012).

[48] Des tables similaires ont été établies pour la production de semences : voir les annexes 7.1 et 7.2.

Table 22 : Table de décision déterminant les distances d'isolement (en m) nécessaires pour garder le taux de présence fortuite d'OGM dû à la pollinisation croisée en deçà d'un seuil défini (en % de grains). Parcelle non-OGM contre le vent de la parcelle OGM (cas favorable). Parcelle OGM de 15 ha, semée avec une variété hétérozygote pour le transgène.

Surface du champ non-OGM	Décalage de floraison	zone tampon non-OGM	Taux de pollinisation croisée (en % de grains)										
			0.9%	0.8%	0.7%	0.6%	0.5%	0.4%	0.3%	0.2%	0.1%	0.05%	0.01%
< 5 ha	0 jour	0 m	0	0	0	0	0	20	20	20	50	100	300
		9 m						0	0	0	20		
		12 m											
		18 m											
	30 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	20	20	50	200
		9 m								0	0		
		12 m										20	
		18 m											
	60 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	100
		9 m									0	0	
		12 m											
		18 m											
	90 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9 m											0
		12 m											
		18 m											
5 ha < x < 10 ha	0 jour	0 m	0	0	0	0	0	0	20	20	20	100	300
		9 m							0	0		50	
		12 m											
		18 m									0		
	30 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	200
		9 m									0		150
		12 m											
		18 m										0	
	60 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100
		9 m										0	50
		12 m											
		18 m											
	90 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9 m											0
		12 m											
		18 m											
> 10 ha	0 jour	0 m	0	0	0	0	0	0	0	20	20	50	200
		9 m								0	0	20	
		12 m											
		18 m											
	30 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	150
		9 m									0	0	
		12 m											
		18 m											100
	60 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		9 m											
		12 m											
		18 m											20
	90 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9 m											0
		12 m											
		18 m											

Voir aussi la Figure 34.

NB : Les décalages de floraison sont exprimés en degrés-jours (° jours dans la table), calculés suivant la formule présentée dans l'équation 1 du paragraphe 2.3. Dans les cas étudiés, un jour durant la période de floraison représente environ 15 degrés-jours.

La recommandation de la Commission du 4 octobre 2004 (CE, 2004), qui indique que le pourcentage d'ADN génétiquement modifié constitue l'unité de quantification des OGM[49], a conduit à adapter ces tables (Le Ny *et al.*, 2011) grâce à un facteur de conversion entre pourcentage de grains et analyse PCR qui tient compte de la structure génétique de l'espèce (Cf. Figure 35) et de la nature de la construction génétique introduite. Dans le cas d'un maïs Bt, hétérozygote pour le transgène, les tables présentées dans les Annexe 7.5 et 7.6, montrent qu'il est alors plus facile techniquement de respecter les différents seuils. Cependant, au niveau local, dans des conditions de vent défavorables, les seuils les plus faibles (PCR négative) ne peuvent être respectés sauf à recommander des combinaisons de mesures de coexistence complexes à mettre en œuvre.

L'étude de l'efficacité des mesures champ à champ ne traite que partiellement de la coexistence en conditions réelles de culture, où il peut y avoir de multiples sources OGM plus ou moins éloignées du champ récepteur et où des contraintes paysagères peuvent limiter la mise en place de certaines pratiques (distances d'isolement dans les paysages à forte densité de maïs, zone tampon dans des champs de petite taille, comme évoqué plus haut).

L'étude pour l'IPTS a donc été complétée par des simulations sur quatre zones de production de maïs de la région Poitou-Charentes organisées en îlots en fonction des possibilités d'irrigation (Messéan *et al.*, 2006, Annexe 6 et Figure 15). Elles différaient par :

- Leur surface totale,
- Le pourcentage de maïs,
- Le nombre de champs les composant et leur taille,
- Le nombre d'agriculteurs cultivant des champs dans chaque zone.

Deux pourcentages de variétés de maïs OGM ont été testés, 10 et 50 %, selon plusieurs scénarios d'introduction afin de simuler plusieurs types de coexistence (Figure 36) :

- Les parcelles d'OGM sont allouées aléatoirement dans la sole de maïs[50] ;
- Des agriculteurs utilisent des variétés OGM sur quelques parcelles d'un îlot (îlot mixte) ;
- Le ou les agriculteurs qui cultive(nt) un îlot décide(nt) : de ne pas semer de maïs GM (présence d'un débouché rémunérateur, par exemple) ou, au contraire, ne cultive(nt) que ce type de variétés (dans le cas d'une forte pression de pyrales).

[49] Ce pourcentage est défini comme le « nombre de copies d'ADN génétiquement modifié rapporté au nombre de copies d'ADN spécifique du taxon cible, exprimé en pourcentage et calculé sur la base des génomes haploïdes ».

[50] Les données de base étaient les déclarations PAC fournies à l'époque par l'IPSC d'Ispra et l'AUP - ex ONIC.

Table 23 : Table de décision déterminant les distances d'isolement (en m) nécessaires pour garder le taux de présence fortuite d'OGM dû à la pollinisation croisée en deçà d'un seuil défini (en % de grains). Parcelle non-OGM sous le vent de la parcelle OGM (cas critique). Parcelle OGM de 15 ha, semée avec une variété hétérozygote pour le transgène.

Surface du champ non-OGM	Décalage de floraison	zone tampon non-OGM	Taux de pollinisation croisée (en % de grains)										
			0.9%	0.8%	0.7%	0.6%	0.5%	0.4%	0.3%	0.2%	0.1%	0.05%	0.01%
< 5 ha	0 jour	0 m	50	50	50	100	100	100	150	200	300	X	X
		9 m				50							
		12 m	20										
		18 m		20			50		100	150			
	30 jours	0 m	20	20	20	20	50	50	100	150	200	400	X
		9 m	0	0			20			100			
		12 m			0							300	
		18 m				0			50				
	60 jours	0 m	0	0	0	0	0	20	20	50	100	200	X
		9 m						0				150	
		12 m							0	20			
		18 m											
	90 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50	200
		9 m									0	20	
		12 m											150
		18 m											
5 ha < x < 10 ha	0 jour	0 m	20	20	50	50	50	100	100	150	300	X	X
		9 m			20	20						400	
		12 m	0										
		18 m		0			20	50					
	30 jours	0 m	0	0	20	20	20	50	50	100	200	300	X
		9 m			0	0	0	20			150		
		12 m							20				
		18 m						0					
	60 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	20	100	150	X
		9 m								0	50		
		12 m											
		18 m											400
	90 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	150
		9 m										0	
		12 m											
		18 m											
> 10 ha	0 jour	0 m	20	20	20	20	50	50	100	150	300	400	X
		9 m	0	0	0		20			100	200		
		12 m				0							
		18 m					0	20	50				
	30 jours	0 m	0	0	0	0	20	20	20	50	150	300	X
		9 m					0	0					
		12 m											
		18 m							0		100	200	
	60 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	20	50	100	400
		9 m								0	20		
		12 m											
		18 m											
	90 jours	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150
		9 m											100
		12 m											
		18 m											

Voir aussi la Figure 34.

NB: Les décalages de floraison sont exprimés en degrés-jours (° jours dans la table), calculés suivant la formule présentée dans l'équation 1 du paragraphe 2.3. Dans les cas étudiés, un jour durant la période de floraison représente environ degrés-jours.

Comme pour les simulations champ à champ, différentes directions de vent ont été utilisées. Afin de prendre en compte les autres sources de mélanges, trois hypothèses de partage des équipements ont été formulées (possession, partage avec nettoyage et partage qui correspondaient respectivement à des risques estimés à 0, 0.1 et 0.4 %). Des simulations ont d'abord été réalisées, sans mise en place de pratiques de coexistence, pour effectuer un diagnostic des différentes situations.

Il s'est avéré que, **pour la coexistence entre îlots**, le seuil de 0.9 % (en nombre de grains) pourrait être respecté, quel que soit le taux initial d'OGM dans les semences (0.1 %, 0.3 % ou 0.5 %) si le matériel était dédié ou correctement nettoyé. Dans les configurations spatiales considérées, il s'avérait que les distances entre champs émetteurs et récepteurs étaient suffisamment grandes pour limiter le risque de pollinisation croisée. Néanmoins, le seuil de 0.1 % ne pourrait être atteint qu'avec des semences pures et en ayant du matériel dédié.

Pour les **îlots mixtes**, cette phase de diagnostic a permis de montrer que le seuil de 0,9 % ne serait pas toujours atteignable, notamment dans le cas de petits champs ou pour ceux adjacents à une parcelle OGM (Figure 15). Quant au seuil de 0.1 %, il serait difficile à respecter sauf dans quelques parcelles, en faisant l'hypothèse de lots de semences purs et avec du matériel dédié ou parfaitement nettoyé, ce qui apparaît difficilement faisable.

Par ailleurs, comme constaté précédemment, c'est plus le type d'allocation des parcelles d'OGM (dispersé ou groupé) qui influait sur les taux de pollinisation croisée que le pourcentage d'adoption des variétés.

L'étape suivante a consisté à tester l'effet des zones tampons (uniquement dans le cas de la coexistence intra-îlots compte tenu des distances entre parcelles) et des décalages de floraison (tout type de coexistence). Si les zones tampons s'avèrent efficaces pour réduire les pourcentages d'OGM dans les récoltes en dessous de 0.9 %, elles doivent cependant être combinées avec des décalages de floraison dans les situations les plus à risques et ne suffisent pas pour assurer moins de 0.1 % d'OGM dans les récoltes. Les décalages de floraison permettent de respecter, suivant leur ampleur (deux à six jours), les seuils étudiés quand ils sont considérés indépendamment des autres sources de mélange. Ils sont cependant difficiles à mettre en œuvre sans coordination entre voisins et ne sont pas envisageables dans les régions où les gammes de précocité sont faibles.

Des deux études prospectives réalisées pour l'IPTS, il est ressorti des questions méthodologiques génériques. Le nombre de parcellaires disponibles à l'époque pour ce type d'étude étant limité, la **variabilité** des taux de présence fortuite calculés par le modèle en fonction des caractéristiques des parcelles et de leur organisation spatiale n'a pu être estimée. Par exemple, il n'était pas possible de simuler les flux sur des paysages ayant des caractéristiques moyennes voisines (taille des parcelles, distances entre les barycentres de champs…) mais avec des gammes de variations différentes pour donner plus de **généricité** aux recommandations, ce qui a de nouveau soulevé le problème de **l'extrapolabilité** des résultats obtenus pour certaines régions à d'autres contextes de production. La difficulté résidait notamment dans la détermination d'indicateurs pertinents de la structure d'un paysage

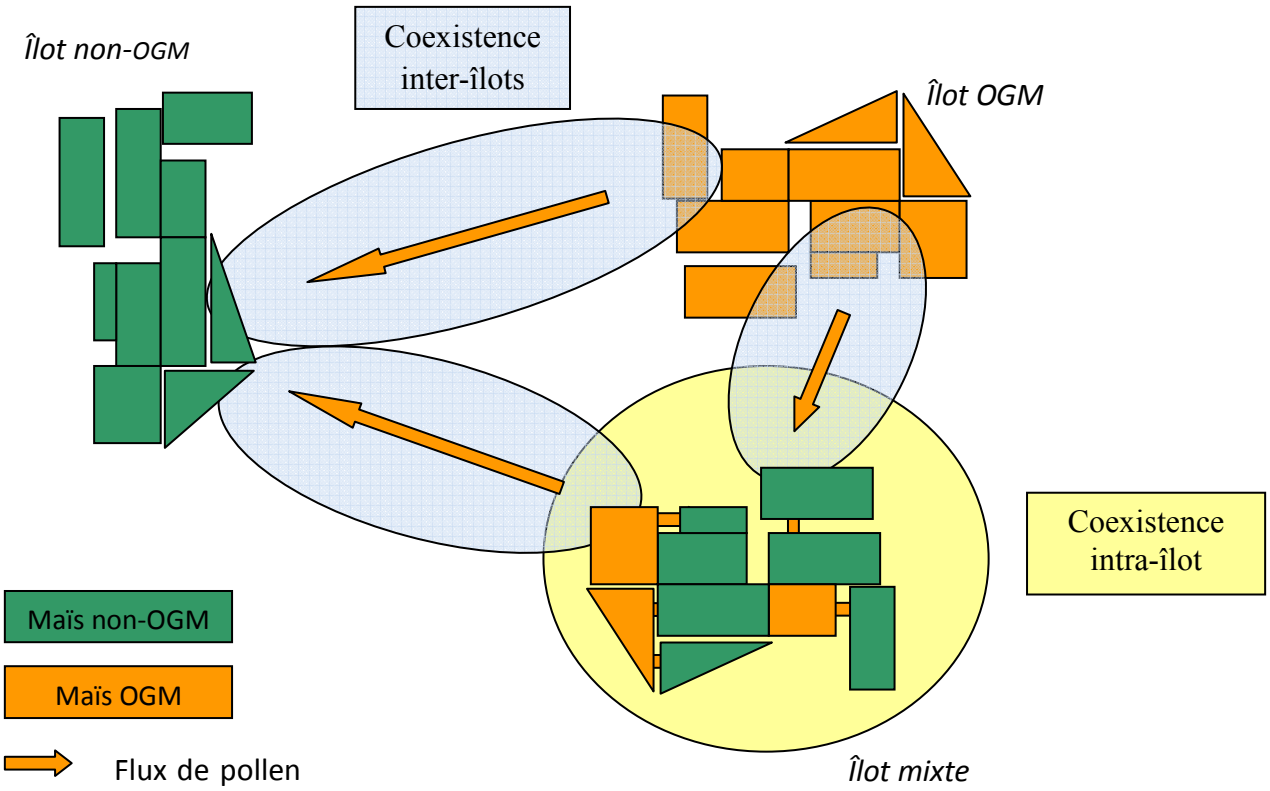


Figure 36 : Scénarios spatialisés de coexistence suivant le type d'adoption des variétés OGM

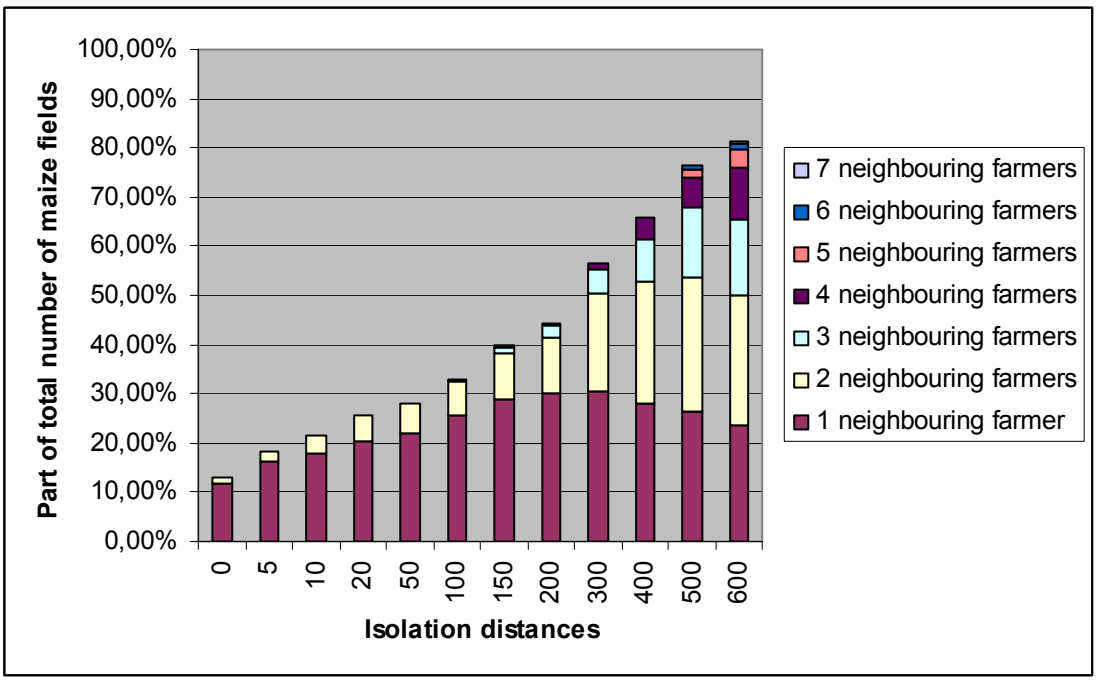


Figure 37 : Part de la surface totale en maïs en Poitou-Charentes requérant une coordination entre agriculteurs lors de la mise en culture de variétés transgéniques, en fonction de la distance d'isolement (Source : Messéan* et al.*, 2006).

agricole qui pouvaient permettre de le classer, au regard de précédents travaux, selon le risque de pollinisation croisée.

Ces thèmes ont été traités par différentes approches méthodologiques fondées sur l'utilisation de MAPOD® dans les projets de recherche « Impact des OGM »[51] et SIGMEA (Lavigne *et al.*, 2008 ; Viaud *et al.*, 2008 ; Le Bail *et al.*, 2010). Certains de ces résultats sont présentés dans le paragraphe 4.4.

Par ailleurs, les résultats ont été obtenus dans le cadre d'expertises à des fins de décision publique. Les mesures qui sont proposées ont été sélectionnées en fonction de leur efficacité pour réduire les flux de gènes et permettre de respecter des seuils. La **faisabilité** de leur mise en œuvre n'a pas été évaluée, ni leur **acceptabilité par les agriculteurs**. Or, dans certains cas, la mise en place des pratiques peut requérir une coordination entre voisins. Seule une étude simple a été réalisée pour estimer la difficulté d'une gestion commune à partir des données des déclarations PAC mises à disposition lors de l'expertise pour la région Poitou-Charentes. À l'aide d'un SIG, le nombre d'exploitants possédant des parcelles à moins d'une distance « d » du bord d'une parcelle semée en maïs a été évalué (Cf. Figure 37).

Ces différents constats ont été pour partie à l'origine du projet européen SIGMEA qui visait à éclairer les pouvoirs publics sur les impacts des OGM en agriculture. Pour ce faire, un des objectifs était de fournir une « boîte à outils » comportant :

- Une base de données collectant la majorité des résultats des essais de flux de gènes mis en place en Europe à des fins de connaissances des phénomènes et d'aide à la modélisation ;
- Une plate-forme générique de modélisation des flux de gènes construite sur la base des modèles MAPOD® et GeneSys® (Colbach *et al.*, 2001b, a ; Angevin *et al.*, 2008) ;
- Un modèle d'allocation spatio-temporelle des cultures permettant d'alimenter la plate-forme lors du test de scénarios de coexistence dans différents contextes.

Ces outils devaient permettre d'analyser la faisabilité technique de la coexistence dans les principales régions européennes et de formuler des recommandations en termes de gestion et de gouvernance (Messéan *et al.*, 2009) pour l'aide à la décision publique. Comme mentionné par Beckie & Hall (2008), ils sont cependant difficilement utilisables par les agriculteurs et leurs conseillers pour estimer au moment du semis les risques de mélanges et adapter éventuellement les pratiques pour les limiter.
C'est dans ce but qu'a été conçu l'outil d'aide à la décision SMAC-advisor en partie grâce à des résultats de simulations obtenus avec MAPOD®.

[51] Financé de 2004 à 2006 par le Ministère de la Recherche

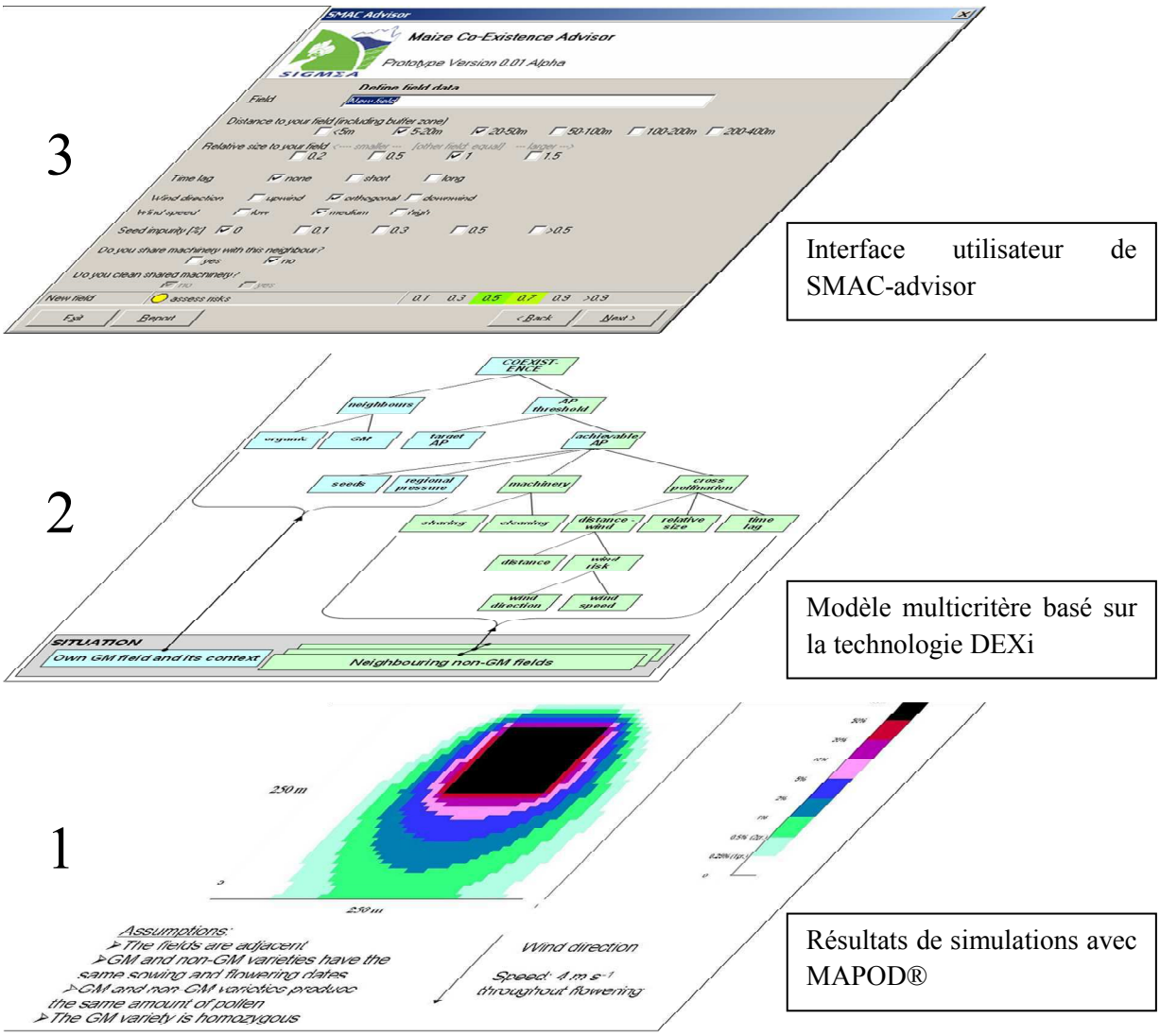


Figure 38 : Étapes de conception du logiciel SMAC-Advisor

4.2 Conception d'un outil d'aide à la décision

SMAC-advisor (Bohanec *et al.*, 2007 et Annexe 8) est un logiciel qui permet de déterminer au moment du semis d'un champ avec une variété OGM si la coexistence avec un champ voisin non-OGM est possible. À cette période de la culture, peu d'informations sont disponibles (notamment celles concernant le climat). L'objectif de l'outil n'est donc pas de calculer, comme peut le faire MAPOD®, un taux de pollinisation croisée dans la récolte mais d'estimer si le taux de présence fortuite défini par l'utilisateur en fonction de ses contraintes pourra être respecté ou si la mise en place de mesures de coexistence sera nécessaire (et suffisante).

Le logiciel requiert un minimum d'informations :

- Des éléments de contexte (présence d'une ferme en agriculture biologique dans un rayon d'un kilomètre, d'un autre champ de maïs OGM à moins de 300 m, seuil de présence fortuite à respecter, une estimation du « bruit de fond » en pollen OGM, position des champs par rapport au vent dominant et intensité de celui-ci) ;
- Une caractérisation du champ non-OGM voisin (distance entre les parcelles et leur taille relative, existence d'un décalage de floraison, pureté des lots de semences utilisés) ;
- Des renseignements sur le matériel (partage et nettoyage).

SMAC-advisor donne une estimation du taux de présence fortuite dans la récolte qu'il compare avec le seuil fixé par l'utilisateur. La faisabilité de la coexistence est indiquée selon un code couleur (de vert à rouge). Si le seuil est dépassé, il est possible de faire une nouvelle simulation pour tester l'impact de mesures de coexistence. Cette évaluation est aussi réalisable en cours de culture, quand des informations plus précises sont disponibles (existence d'un décalage de floraison par exemple).

Ce modèle hiérarchique qualitatif est fondé sur la technologie DEXi d'évaluation multicritère (Bohanec, 2003, 2011). Trois étapes ont été nécessaires pour sa mise au point (Figure 38).

- Une fouille de données dans la série de simulations (8960) réalisées au cours de la seconde expertise pour l'IPTS avec le modèle MAPOD®. Celles-ci couvrent une diversité de situations et avaient servi auparavant à la mise au point de tables de décision (Cf. Table 22 et Table 23) (Messéan *et al.*, 2006). Cette étape a permis de hiérarchiser les facteurs jouant le plus sur la pollinisation croisée et d'établir un arbre de décision sous DEXi en affectant des pondérations aux différents critères identifiés comme ayant un impact sur le taux final d'OGM dans la récolte.
- La définition d'une série de règles de décision obtenues à dires d'experts pour les autres sources potentielles de mélanges. Celles-ci ont permis de compléter l'arbre précédemment établi (Cf. Annexe 8, Figure 2).
- La programmation d'une interface utilisateur permettant de saisir simplement les informations nécessaires pour renseigner l'arbre de décision (Cf. Annexe 8, Figure 1).

Cet outil est toujours au stade du prototype et n'a été utilisé que sur quelques cas pour vérifier la cohérence de la modélisation. Il devra être testé sur des situations réelles de coexistence

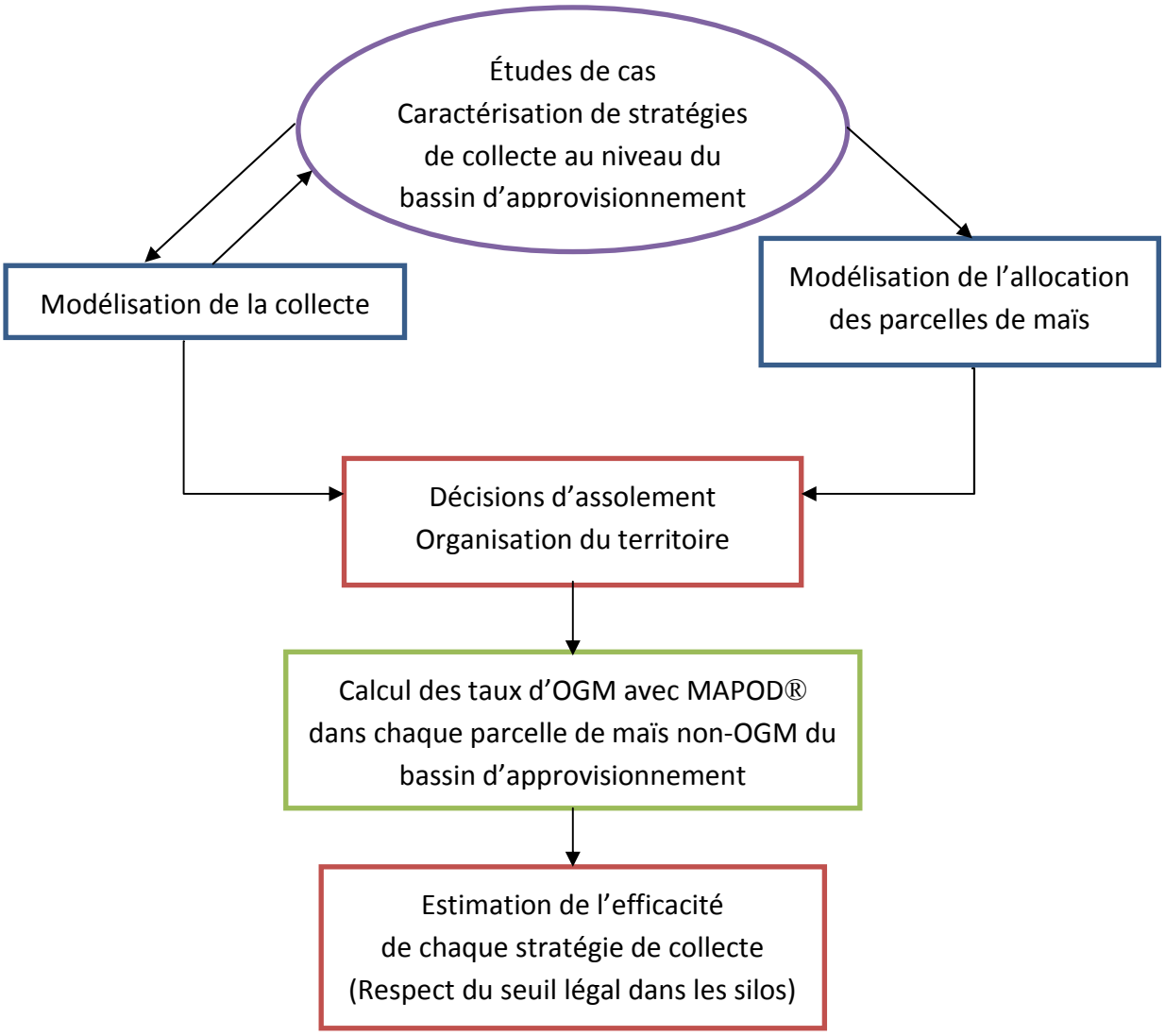
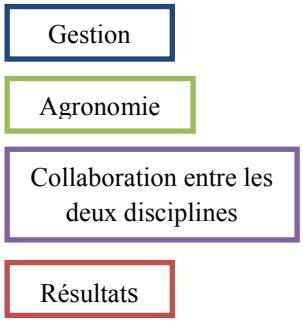


Figure 39 : Utilisation de MAPOD pour évaluer l'efficacité de séparation de collectes OGM et non-OGM (d'après Coléno* et al.*, 2007)

Légende :



pour lesquelles des estimations des taux auront été réalisées, en utilisant par exemple la base de données d'essais créée lors du projet SIGMEA (voir plus haut), ce qui permettrait de s'assurer de la validité des conseils fournis.

4.3 Couplage avec un modèle de gestion pour évaluer l'efficacité de stratégies de coexistence

La coexistence entre filières OGM et non-OGM peut poser des questions spécifiques de gouvernance. Comme évoqué précédemment, il peut s'agir de mettre en place une coordination afin de limiter l'absence de mélanges fortuits entre parcelles voisines. Il convient aussi de considérer les stratégies des entreprises de collecte-stockage visant à permettre la collecte des deux types de productions dans un même bassin d'approvisionnement. Meynard et Le Bail (2001) ont identifié les points critiques au sein de la filière de production. En maïs, par exemple, c'est l'étape du séchage qui constitue généralement un goulot d'étranglement dans la logistique des lots de grains. Trois stratégies de séparation des lots OGM et non-OGM ont été identifiées par ces auteurs à partir de filières ségrégées existantes (maïs waxy ou semence) :

- ✓ Un **isolement régional**, tel que celui pratiqué en Alsace depuis 1998. Il vise à éviter toute culture d'OGM dans le bassin d'approvisionnement. Une coordination entre tous les acteurs de la région interdit toute vente, implantation, collecte de semences d'OGM sur un territoire défini si possible "naturellement" isolé ;
- ✓ **L'utilisation des infrastructures des agriculteurs possédant leur matériel de séchage et de stockage**. La collecte des lots non-OGM est alors décalée dans le temps ;
- ✓ **La mise en place de contrats avec les agriculteurs** afin de coordonner leurs pratiques sur un bassin d'approvisionnement et optimiser l'utilisation des infrastructures de l'entreprise de collecte–stockage. Ces dernières peuvent alors être, soit dédiées à un type de production, soit être utilisées en respectant un planning pour le passage des lots pour un type de maïs et en étant soigneusement vidangées ensuite.

Cependant, ces résultats avaient été établis grâce à l'étude de filières ségrégées de faible volume, c'est-à-dire ne représentant environ que 10 % de la collecte totale de maïs, et ne pouvaient s'appliquer à une forte demande de produits non-OGM (Coléno *et al.*, 2007). Ce constat a abouti à la construction d'un projet pluridisciplinaire visant à évaluer la relation entre les modes de contrôle de gestion inter-firmes et l'organisation de la chaîne logistique amont dans les stratégies de séparation des filières[52]. Deux modèles ont été mis au point dans ce cadre :

- Un premier pour simuler la gestion des volumes collectés dans des organismes stockeurs afin de tester l'efficacité des stratégies de séparation des lots identifiées à l'aide d'études de cas et des précédents travaux (Meynard & Le Bail, 2001 ; Coléno, 2008) ;
- Un second fondé sur la maximisation des profits de l'agriculteur (Coléno *et al.*, 2009) qui comprenait des variables différenciant les productions OGM et non-OGM (prix des semences, rendement, prix des récoltes…) ainsi que celles permettant de prendre

[52] Financé par l'appel d'offres « Impact des OGM » du Ministère de la Recherche de 2004 à 2007.

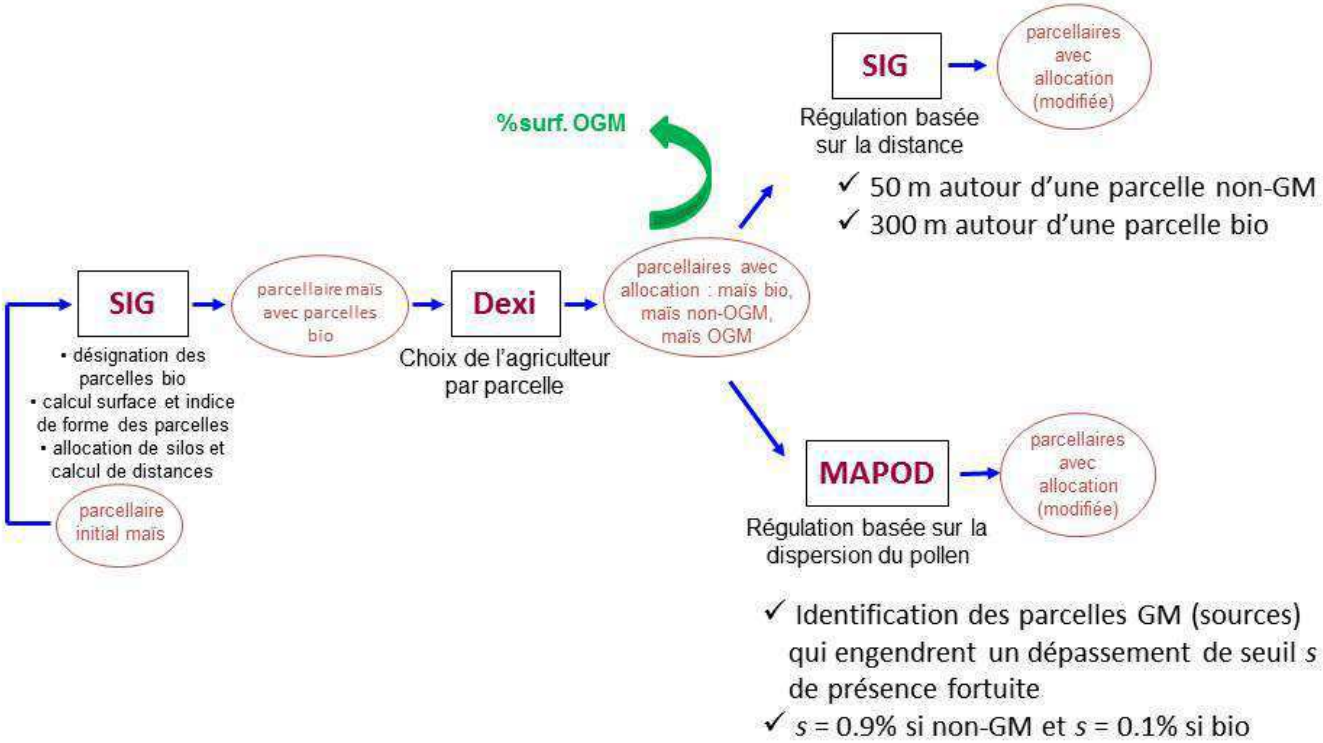


Figure 40 : Utilisation d'un modèle multicritère de choix d'allocation des agriculteurs pour tester deux stratégies de régulation de la coexistence (Ricci* et al.*, 2011)

en compte les stratégies des entreprises de collecte (coût du transport lié à la distance au silo, risque de perte de qualité des lots…).

Les sorties de ce dernier modèle sont des allocations de variétés de maïs OGM et non-OGM à l'échelle d'un bassin d'approvisionnement qui peuvent être visualisées grâce à un logiciel de SIG. Elles peuvent donc servir de données d'entrée pour MAPOD® grâce aux évolutions intégrées dans la plate-forme Landflow-gene (Cf. § 2.8). Le couplage entre les deux modèles a ainsi été effectué grâce à une compatibilité « sortie/entrée » (Figure 39). Les nouvelles fonctionnalités de MAPOD® comprenaient aussi la possibilité d'affecter une parcelle à un silo permettant en cela d'estimer les taux de présence fortuite d'OGM due à la pollinisation croisée dans un ou plusieurs silos sur un bassin d'approvisionnement.

Sur une zone de 100 km² sur laquelle sont implantés quatre silos, des allocations de culture ont été simulées selon trois scénarios de gestion :

- ✓ Une stratégie d'**isolement temporel** des collectes : chaque type de récolte est livré dans le silo le plus proche mais dans un créneau de temps défini (Risques de perte de qualité) ;
- ✓ Une stratégie **d'isolement spatial** : chaque séchoir et chaque silo sur la zone de collecte sont dédiés avant le semis à un type de maïs de façon à ce que l'agriculteur puisse choisir son type de variété en tenant compte du produit qui sera collecté près de sa parcelle et du prix du transport éventuel vers un autre silo pouvant accepter sa récolte (Risques de concurrence entre organismes stockeurs). Cette seconde stratégie a été étudiée selon deux hypothèses de travail : présence d'un organisme stockeur (OS) sur le bassin d'approvisionnement ou de deux OS entrant en compétition.

Les résultats des simulations réalisées avec MAPOD® grâce à ces allocations ont été comparés à ceux obtenus avec une répartition aléatoire des parcelles de maïs OGM et non-OGM[53], ce qui permettait de représenter le cas où le choix de l'agriculteur n'est pas contraint par une stratégie de gestion de l'OS. Pour chaque allocation, l'effet de la direction du vent a été testé selon trois scénarios de vents dominants pendant la floraison.
Il s'avère que la stratégie d'isolement temporel aboutit à la constitution de zones uniformes de collecte de maïs soit OGM soit non-OGM, selon les hypothèses de prix et de climat. Le choix de l'isolement spatial conduit à la mise en place de maïs OGM ou non-OGM autour des silos assurant la collecte de chacune de ces variétés. Le taux de présence fortuite due à la pollinisation croisée dans les lots récoltés dépend de la taille de la zone non-OGM et de la direction du vent dominant. Les résultats détaillés, notamment ceux sur l'impact de stratégies concurrentes chez les OS (Coléno *et al.*, 2009), sont présentés dans l'Annexe 9.

Vu les hypothèses retenues pour réaliser les simulations, qui ne prennent pas en compte les possibilités de décalages de floraison entre variétés par exemple, cette étude consiste plus en une évaluation en relatif de l'efficacité des différentes stratégies qu'à une évaluation du taux réel d'OGM qui pourrait être mesuré dans les silos pour ces différentes situations. Cependant, ce couplage reste une approche originale, qui permet de prendre en compte les conséquences de stratégies de gestion sur l'organisation spatiale des différentes variétés dans le paysage.

[53] En faisant l'hypothèse d'un taux de 60 % de variétés OGM dans la sole de maïs comme obtenu dans le scénario « isolement spatial sans concurrence », dix répétitions ont été effectuées.

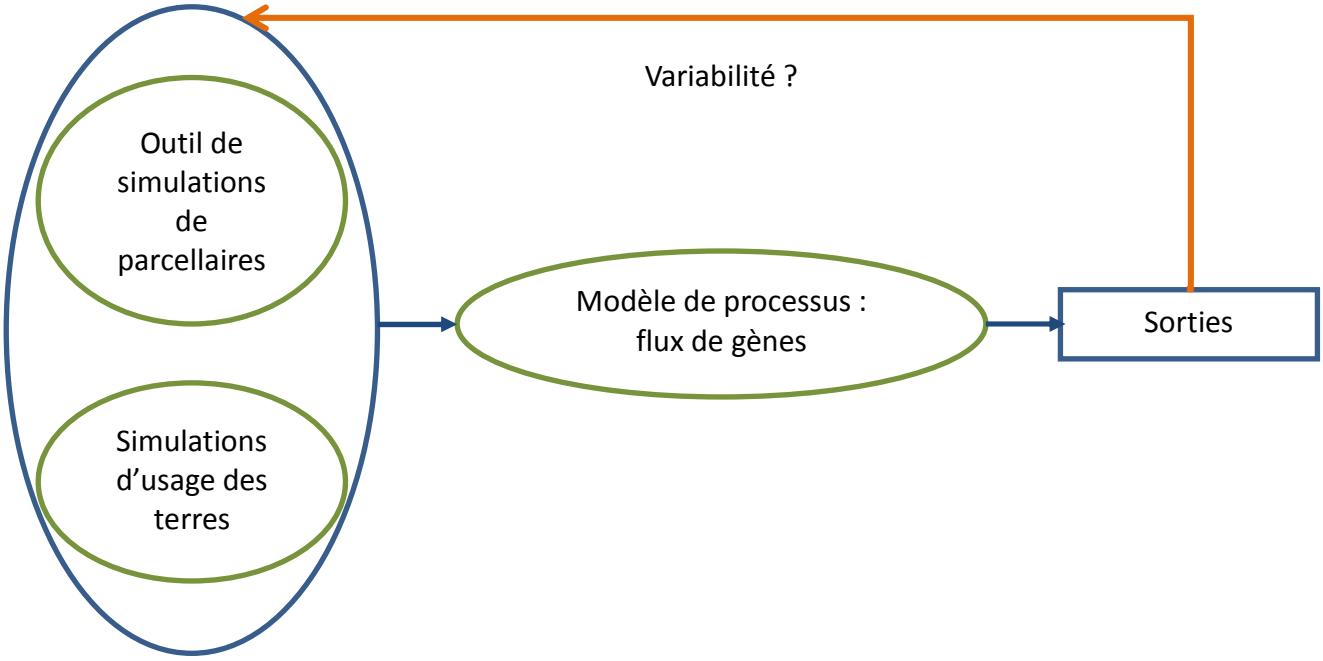


Figure 41 : Couplage de MAPOD® pour l'étude de l'impact caractéristiques des parcelles et de leur organisation spatiale sur les sorties du modèle de flux de gènes (Adamczyk* et al., *2011)

Il reste néanmoins que le modèle de choix de l'agriculteur, fondé sur la maximisation économique, sensible au différentiel de prix entre les productions, aboutissait à la création de zones homogènes, peu réalistes au regard des critères de choix d'allocation des agriculteurs. En effet, en 2007, dans certaines zones, ce sont les parcelles au plus fort potentiel qui ont été semées avec des variétés transgéniques (DRAF Aquitaine et Midi-Pyrénées, 2007).

La question s'est alors posée d'une meilleure prise en compte de critères agronomiques (pression du ravageur, type de sol), techniques (accès aux intrants, partage du matériel…) mais aussi sociaux (contexte régional vis-à-vis des OGM, par exemple). L'amélioration du modèle de choix d'allocation des cultures s'est déroulée lors du projet MASCOTE (Cf. Table 8). Un modèle d'évaluation multicritère, fondé sur la technologie DEXi (Bohanec, 2011), a été mis au point à partir des résultats précédemment obtenus et de ceux d'enquêtes réalisées chez des agriculteurs cultivant du maïs dans des zones à forte adoption de maïs OGM en 2007 (Cf. Figure 2) mais aussi auprès de coopératives (Fargue-Lelièvre *et al.*, 2009 ; Hannachi *et al.*, 2009). Les allocations simulées par ce modèle permettent de tester non seulement l'impact de scénarios de gouvernance de coopératives mais aussi celui de choix stratégiques des agriculteurs. Les premières simulations montrent l'importance des stratégies de coopératives au travers du nombre de silos alloués à chaque production ainsi que celle du pourcentage de culture de maïs biologique (qui exclut la culture du maïs OGM dans un rayon de 300 m).

Les travaux se poursuivent afin de comparer l'effet d'une régulation de la coexistence basée sur des règles rigides (distances d'isolement) telle que préconisée par plusieurs auteurs et réglementations (Devos *et al.*, 2007 ; Devos *et al.*, 2008 ; CE, 2009) par rapport à celui d'une régulation mise en place en fonction de l'estimation du processus de flux de gènes par un modèle (Cf. Figure 40 et Ricci *et al.*, 2011).

4.4 Utilisation pour l'étude de l'effet des paysages sur les processus de flux

Comme indiqué précédemment, les études sur la coexistence ont soulevé des questions méthodologiques liées à la variabilité des résultats obtenus avec MAPOD® et à leur extrapolabilité. Le nombre de parcellaires disponibles à l'époque étant limité, un projet a été initié en 2002 afin de pouvoir modéliser les paysages agricoles. L'objectif était de pouvoir disposer d'un grand nombre de parcellaires « réalistes », répondant aux caractéristiques de paysages agricoles existants tout en pouvant faire varier de manière contrôlée les facteurs connus comme affectant le processus de pollinisation croisée (taille et forme des parcelles, densité de chaque culture… Cf. § 1.4), ce qui a permis en définitive de tester l'impact de la variabilité de ces paramètres spatiaux sur les processus de flux (Cf. Figure 41).

Plusieurs étapes se sont déroulées en parallèle (Lavigne *et al.*, 2006) :

- Recherche des descripteurs pertinents pour caractériser les paysages en tenant compte des caractéristiques du phénomène étudié ;
- Analyse de sensibilité des modèles de flux GeneSys® et MAPOD® aux paramètres spatiaux (Colbach *et al.*, 2005 ; Viaud *et al.*, 2008) ;
- Conception du générateur de paysages agricoles GenExP (Adamczyk *et al.*, 2007 ; Le Ber *et al.*, 2009) ;
- Couplage avec les modèles de flux pour des études spécifiques (Lavigne *et al.*, 2008 ; Colbach *et al.*, 2009).

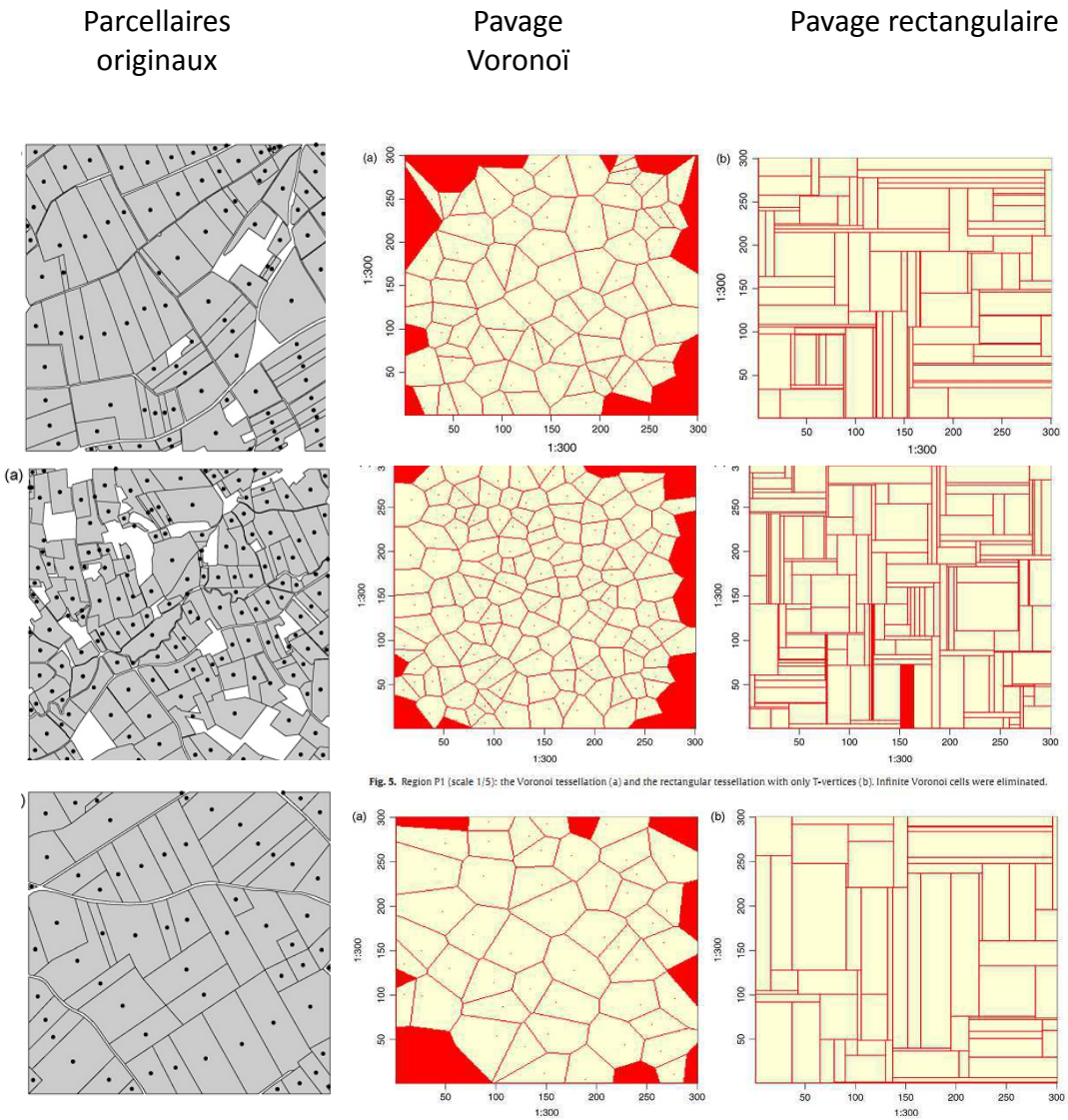


Figure 42 : Types de paysages et de pavages utilisés dans l'étude avec GenExP (Le Ber* et al.*, 2009)

Analyse de sensibilité

Les processus de flux de gènes entre champs sont connus et, dans ce cadre, de nombreux essais ont montré que le pollen de maïs était transporté sur de courtes distances (quelques centaines de mètres) même si des phénomènes de dispersion à longue distance avaient pu être constatés (Cf. § 1.2 et 1.4). D'autres études ont montré l'influence de la distance entre champs émetteurs et récepteurs, de leur forme et de leur taille (Bateman, 1947a ; Raynor *et al.*, 1972 ; Langhof *et al.*, 2010 ; Rühl & Langhof, 2011). Enfin, certaines ont précisé l'importance de l'agencement spatial des parcelles les unes par rapport aux autres (Damgaard & Kjellsson, 2005 ; Klein *et al.*, 2006b). La situation est plus complexe à étudier à l'échelle de paysages, compte tenu du faible nombre de jeux de données d'expérimentation disponibles (Cf. note 20). Un modèle spatialement explicite tel que MAPOD®, qui prend aussi en compte les pratiques agricoles, les caractéristiques des variétés et le climat, permet de réaliser une étude de sensibilité des sorties du modèle à des paramètres spatiaux (Crosetto *et al.*, 2000) et de déterminer ceux qui ont le plus d'influence sur le résultat des simulations (Jager *et al.*, 2005). Lors de cette analyse, le paysage agricole a été considéré comme une donnée d'entrée en tant que telle, ce qui a permis de déterminer son impact sur les sorties de MAPOD® mais aussi ses interactions avec les autres variables du modèle. La diversité des paysages agricoles résultait de combinaisons entre des parcellaires contrastés de régions françaises de production et des variations de pourcentages et d'allocations de variétés de maïs OGM et non-OGM (2880 scénarios en tout). Les résultats obtenus par Viaud *et al.* (2008) sont détaillés en Annexe 10.

Couplage avec GenExP

Par ailleurs, toujours dans une optique d'étude de l'impact des caractéristiques des parcelles et de leur agencement sur les taux de pollinisation croisée calculés par MAPOD®, une étude spécifique a été menée en couplant MAPOD® et le générateur de paysages GenExP (Adamczyk *et al.*, 2007 ; Le Ber *et al.*, 2009). Les sorties de GenExP se présentent en effet sous un format SIG compatible avec MAPOD®. Il s'agit là encore d'un couplage « sortie/entrée » qui a été mis en œuvre et non d'un couplage informatique des deux logiciels.

Dans un premier temps, il s'est agi de déterminer si le choix de la méthode de simulation des parcellaires influait sur les sorties du modèle de flux de gènes. À partir de paysages existants, des parcellaires ont été générés par deux méthodes de tesselations (Voronoï et rectangulaires, cf. Figure 42) et des simulations réalisées ensuite avec MAPOD® pour les trois types de paysages. Pour les paysages initiaux considérés, il s'avère que ce sont les tesselations de Voronoï qui permettaient de générer les paysages les plus « réalistes » vis-à-vis de la prédiction des risques de pollinisation croisée et de dépassement de seuils d'OGM dans les récoltes (Le Ber *et al.*, 2009). Les tesselations rectangulaires produisaient des parcelles longues et étroites, dont les tailles variaient plus fortement que celles dans les paysages originaux, aboutissant alors à une surestimation des taux de pollinisation croisée lors du couplage avec MAPOD®. Cela était cohérent avec les résultats de l'analyse de sensibilité qui montraient que les caractéristiques telles que la profondeur et la largeur des parcelles, qui avaient été identifiées à l'échelle des essais champ à champ comme influant sur le taux de pollinisation (Damgaard & Kjellsson, 2005 ; Klein *et al.*, 2006a ; Palaudelmas *et al.*, 2012), étaient de moindre importance dans un paysage multisources et multirécepteurs (Viaud *et al.*, 2008).

Dans un second temps, comme suggéré lors de l'analyse de sensibilité, l'impact du choix de la fonction de dispersion, qui peut plus ou moins prendre en compte la dispersion à longue distance, a été évalué. Enfin, l'usage de paysages générés par GenExP a permis de comparer les taux de pollinisation obtenus en considérant des couples de parcelles « émetteur/récepteur » et ceux calculés pour les mêmes parcelles réceptrices si l'ensemble des sources de pollen présentes sur le paysage étaient prises en compte (Lavigne *et al*., 2008). Les résultats de ces recherches sont présentés dans l'Annexe 11.

Dans les deux cas mentionnés ci-dessus, c'est la sensibilité du modèle MAPOD® à des paramètres spatiaux et non directement celle du processus de pollinisation croisée chez le maïs qui a été testée. Il convient donc d'être prudent dans l'interprétation des résultats obtenus. Cependant, les différentes situations de configuration et d'organisation des parcellaires ont été simulées en faisant varier conjointement, dans des gammes connues, d'autres variables et paramètres du modèle (*e.g.* : intensité et direction du vent, caractéristiques variétales ; Viaud *et al.*, 2008). Les caractéristiques paysagères auxquelles le modèle est sensible sont en interaction avec ces paramètres, ce qui permet de faire ressortir quelques éléments pour l'établissement de règles de coexistence à l'échelle du paysage. Si la distance au plus proche champ OGM est la variable spatiale la plus explicative du taux d'OGM dans un champ conventionnel, celui-ci dépend aussi de la pollinisation à moyenne et longue distance. Les distances d'isolement établies le plus souvent à partir d'essais champ à champ pourraient alors s'avérer insuffisantes, notamment en cas d'augmentation du taux d'OGM dans la sole de maïs. Ces travaux ont été complétés par la suite par ceux de Le Bail *et al*. (2010).

4.5 Conclusion sur les différents types d'utilisation

Les utilisations de MAPOD® décrites ci-dessus montrent que le modèle permet de tester l'efficacité de mesures de coexistence tant au niveau de la parcelle, du paysage agricole, que du bassin d'approvisionnement de coopérative. Il simule en effet les taux de pollinisation croisée mais détermine aussi le risque de dépasser un seuil donné à l'échelle d'une parcelle, d'un groupe de parcelles ou d'un silo de collecte. La hiérarchisation de situations en fonction de ce risque est alors possible. Par ailleurs, MAPOD® a, dans des études plus théoriques, permis d'analyser l'influence des caractéristiques du paysage sur le processus de flux de gènes. Ces deux types d'usage sont consommateurs en données d'entrée et en temps de calcul. À cause de ces contraintes, l'utilisation du modèle est difficilement envisageable pour des agriculteurs et leurs conseillers. Un outil du type de SMAC–Advisor est plus approprié. Il a en effet été conçu pour un contexte de décision différent (prévision des semis) où peu de données sont disponibles. Fondé sur des simulations de MAPOD®, il peut être réactualisé au fur et à mesure de la réalisation d'études de coexistence et prendre ainsi en compte une diversité de situations agro-climatiques plus grande que des outils reposant uniquement sur des données d'essais (voir § 1.5.3).

Discussion

A theory has only the alternative of being right or wrong;
A model can have a third possibility, it can be right and be irrelevant.

Manfred Eigen (1973)

Some models have a fourth alternative, they can be wrong, misleading and irrelevant.

Jonathan Gressel (2005)

Essentially, all models are wrong, but some are useful;
the practical question is how wrong do they have to be to not be useful

George E. P. Box (1987)

5 Discussion

Plusieurs questions récurrentes se posent lors de l'établissement de règles d'isolement entre cultures et plus généralement lors les études de faisabilité de la coexistence à l'échelle de paysages agricoles :

- Quel est l'intérêt d'utiliser un modèle plutôt que d'exploiter des résultats d'essais ?
- Quelle échelle de travail choisir ? Le champ ou d'autres échelles de décision (groupe de parcelles, exploitation agricole, bassin de collecte…) ?
- Quel type de modélisation privilégier : une approche robuste et générale ou une approche décrivant précisément les phénomènes étudiés ?
- Comment évaluer les performances et la pertinence des modèles ?
- Peut-on utiliser un modèle comme MAPOD® pour conseiller les agriculteurs ?

Les trois premières questions ont été abordées dans le paragraphe exposant la problématique de cette thèse car elles ont orienté la conception de MAPOD® et les choix de modélisation. Les résultats obtenus lors de ce travail de recherche apportent des compléments de réponse mais permettent aussi d'éclairer les derniers questionnements. Ce chapitre revient donc en premier lieu sur la pertinence des choix méthodologiques ayant présidé à la mise au point du modèle au regard des objectifs fixés initialement. Puis les résultats d'évaluation seront analysés tant du point de vue du fonctionnement et des améliorations potentielles de MAPOD® que des limites qui ont pu être identifiées pour leur interprétation. Enfin, c'est l'utilisation de MAPOD® pour l'aide à la décision qui sera discutée.

Choix méthodologiques

Les objectifs de l'expertise pendant laquelle MAPOD® a été initialement mis au point sont clairement résumés dans son titre : « Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ » (Meynard & Le Bail, 2001), ceci dans le but d'estimer la pertinence et la faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM.
Pour la première partie de l'étude, c'est le choix de la modélisation conceptuelle fondée sur des résultats d'enquêtes qui a été fait (Le Bail *et al.*, 2001 ; Le Bail & Valceschini, 2004). Pour la seconde, c'est le souci d'opérationnalité qui a guidé la stratégie de modélisation. Il s'agissait de disposer d'un outil permettant de fournir des recommandations techniques à l'échelle du champ ou du groupe de parcelles et, de là, de proposer des scénarios de gestion.

Comme indiqué précédemment le phénomène de flux de gènes avait déjà été étudié en agriculture, notamment pour l'établissement de règles d'isolement en production de semences[1] (Cf. § 1.4). Cependant, si les résultats obtenus et publiés à l'époque renseignaient sur certains des processus sous-jacents, ils ne permettaient pas de traiter complètement la question posée. En particulier, les essais pour tester des pratiques, principalement des distances d'isolement, avaient été réalisés dans des contextes climatiques différents de ceux où est cultivé le maïs en Europe, ce qui rendait difficile l'extrapolation des recommandations émises. Ces acquis ainsi que ceux sur le déroulement de la floraison du maïs ont été mobilisés

[1] Les expérimentations dont les résultats sont regroupés dans la base de données établie lors du programme européen SIGMEA (Cf. § 1.4) sont postérieures à la mise au point de MAPOD®.

lors de la construction de MAPOD®. On rappelle que celui-ci devait répondre au cahier des charges suivant :

- Utiliser des données facilement accessibles : données enregistrées par les agriculteurs (date de semis, variétés…) ;
- Prendre en compte explicitement l'effet des pratiques agricoles et de l'agencement des parcelles pour pouvoir proposer des changements d'itinéraires techniques et/ou d'allocations des cultures ;
- Fonctionner dans la diversité des contextes pédoclimatiques où est cultivé le maïs en France ;
- Permettre de tester de multiples situations et scénarios, c'est-à-dire requérir des temps de calcul raisonnables.

La construction de MAPOD® dans le cadre d'une expertise pour la décision publique[55] et non d'un projet de recherche a déterminé la méthode de travail mais aussi orienté la stratégie de modélisation. Ainsi, des données existantes issues de publications ou de bases de données comme celles du GEVES ont été utilisées et il n'y a pas eu, dans un premier temps, de mise en place d'expérimentations spécifiques. La précision et le domaine de validité du modèle dépendaient donc de ces jeux de données initiaux et de leurs limites (le type de matériel génétique restreint aux hybrides trois voies dans les suivis floraison précis du GEVES, par exemple). Par ailleurs, du point de vue de l'aide à la décision, c'était l'estimation d'un nombre de grains OGM dans une récolte non-OGM qui était recherchée. En effet, il s'agissait de classer des lots par rapport à un seuil déclenchant ou non l'étiquetage des produits, et de déterminer dans ce cadre les contextes à risque (Meynard *et al.*, 2001). Le modèle devait donc pouvoir simuler la pollinisation efficace et pas uniquement la dispersion du pollen.

Si on analyse l'ensemble de ces lignes directrices, le modèle à concevoir était à mi-chemin entre un modèle statistique permettant de prendre des décisions dans un contexte donné et un modèle mécaniste reproduisant précisément tous les phénomènes en jeu et permettant des extrapolations pour des situations non expérimentées sans avoir à ré-estimer l'ensemble de ses paramètres (Colbach & Debaeke, 1998 ; Lavigne *et al.*, 2004 ; Colbach, 2010). Comme indiqué dans le paragraphe 2.6, le choix s'est porté sur un modèle de dispersion quasi mécaniste existant (Klein, 2000 ; Klein *et al.*, 2003), qui ne prend en compte que les phénomènes majeurs de la pollinisation croisée chez le maïs. L'effet des pratiques sur les paramètres de cette courbe (notamment celui reflétant la pression pollinique entre variétés OGM et non-OGM) a été analysé grâce à la littérature existante, ce qui a abouti à la mise au point du module de floraison et à l'adaptation de la courbe de dispersion au pas de temps journalier.

Ce travail de modélisation a associé des écologues, des statisticiens et des agronomes, ce qui a eu des conséquences sur le choix de l'échelle spatiale dans le modèle. MAPOD® est en effet un modèle spatialement explicite, tel que ceux développés en écologie pour évaluer l'impact des changements dans un paysage sur la dynamique de populations et pour tester des scénarios de gestion (Dunning *et al.*, 1995). Les « patchs d'habitat » ont été remplacés par des

[55] C'est-à-dire sur une courte durée et avec des contraintes strictes pour la date de rendu des résultats.

parcelles agricoles. Il est donc possible de simuler des dispositifs champ à champ mais aussi des paysages réalistes comportant plusieurs sources de pollen et, de là, les conséquences de changement d'allocation des cultures. Cette approche à l'échelle du paysage reste peu courante en agronomie et ne se rencontre que dans peu de modèles de flux de gènes (Colbach *et al.*, 2001b ; Richter & Seppelt, 2004 ; Sester *et al.*, 2008 ; Middelhoff *et al.*, 2011) et commence à se développer pour la gestion de la durabilité de résistances variétales (Lô-Pelzer *et al.*, 2010 ; Papaïx *et al.*, 2011). Elle est cependant considérée comme difficile à mettre en œuvre (Beckie & Hall, 2008). Elle requiert en effet de choisir les échelles de travail temporelle et spatiale adéquates pour les processus étudiés mais aussi de considérer comment les décisions concernant les systèmes de culture sont effectuées.

Concernant l'échelle temporelle, c'est le pas de temps journalier qui a été retenu car celui-ci permet de représenter les phénomènes cruciaux lors de la floraison (pic d'émission du pollen et des soies, par exemple). Ce choix résulte aussi d'un compromis entre le gain de précision qu'aurait permis l'utilisation de données horaires de direction et d'intensité de vent et les coûts afférents, que ce soit pour leur acquisition (coût financier) ou en temps de calcul supplémentaire. Dans les simulations réalisées par la suite lors de l'évaluation, ce choix s'est avéré justifié, pour un contexte climatique donné, dans la majorité des cas testés (Cf. § 3.3). Par ailleurs, d'autres auteurs ont constaté que l'échelle de temps horaire pouvait elle-même ne pas être suffisante pour rendre compte des conséquences de coups de vent sur la pollinisation croisée (Langhof *et al.*, 2008).

Le principe directeur de la conception de MAPOD® relève de « l'économie » : utilisation de données existantes pour la modélisation et limitation de la complexité de l'algorithme si ce n'est pas justifié par un réel gain de précision. Un modèle spatialement explicite prenant en compte l'effet des systèmes de culture reste néanmoins consommateur en données d'entrée. La recherche d'un équilibre entre représentation des phénomènes et « faisabilité » des simulations a abouti à des simplifications, notamment *via* le **choix des données d'entrée** et donc selon leur plus ou moins grande facilité d'acquisition.

Par exemple, ceci a conduit à opter pour l'utilisation de températures de l'air plutôt que de celles du sol pour déterminer le début de la floraison femelle. Les résultats de l'évaluation et ceux d'autres auteurs ont montré que pour certains types de sol, ce choix peut conduire à une mauvaise estimation de ce stade. L'optique des premiers travaux menés pour résoudre ce problème reste cependant de continuer à utiliser les données les plus facilement accessibles en modifiant le mode de calcul des sommes de températures selon le type de sol en fonction de sa capacité de réchauffement. C'est aussi dans cette optique d'accessibilité des données nécessaires aux simulations que s'est faite l'amélioration de l'estimation des quantités de pollen produites par les différentes variétés, données auxquelles le modèle est sensible (Romary, 2005). L'idée première lors de la construction était de pouvoir rentrer directement un nom de variété plutôt qu'un ensemble de caractéristiques variétales grâce à la mise en place d'une base de données associée qui contiendrait les données nécessaires au fonctionnement du modèle : précocité, hauteurs des panicules et des épis, quantité de pollen produite par plante. Si les premières caractéristiques étaient disponibles grâce aux bases de données du GEVES et aux instituts techniques agricoles, les références sur le potentiel

pollinique des variétés étaient rares. Des expérimentations ont été mises en place et ont fourni des mesures des quantités produites pour une gamme de variétés mais elles ont surtout permis d'établir un modèle mettant en relation ces quantités et des éléments architecturaux. Ceux-ci sont mesurables lors des procédures d'inscription (Ricci *et al.*, 2012) et peuvent s'obtenir plus facilement que des mesures de quantité de pollen, qui étaient jusqu'alors une donnée d'entrée de MAPOD®.

C'est aussi **l'état des connaissances** lors de la conception qui a conduit à certains postulats pour la construction du modèle.

Le ***module de dispersion*** dans MAPOD® est fondé sur l'utilisation d'une fonction de dispersion individuelle (fdi), qui permet de calculer la probabilité qu'un grain émis dans un point localisé en (0,0) tombe et féconde une soie située en un point (x,y) du plan. (Cf. § 2.3). À la différence des modèles empiriques, cette fonction dépend peu du dispositif expérimental utilisé pour la mettre au point et permet de rendre compte de l'influence de la taille et de la forme des champs sur les flux de gènes que ce soit de champ à champ ou entre plusieurs parcelles d'un paysage agricole (Klein, 2000 ; Klein *et al.*, 2003).
Cette fonction de dispersion avait été mise au point à partir de résultats d'essais de taille limitée et pour des dispositifs continus (Klein, 2000). Comme déjà évoqué, le modèle repose donc sur deux hypothèses fortes :

- Les discontinuités des paysages (routes, haies, autres cultures…) sont prises en compte en les remplaçant par des zones de maïs totalement stérile ;
- La courbe de dispersion reste la même à courte et longue distance.

Ces hypothèses ont été formulées suite à l'analyse d'un essai comportant du sol nu entre du maïs bleu émetteur (à 75 % homozygote pour le marqueur) et une variété réceptrice jaune (isogénique de la variété bleue, homozygote à 100 % pour le marqueur jaune). Des grains bleus ont été observés jusqu'à une distance de 500 m de la source (Klein, 2000). La comparaison entre les comptages de grains bleus par épi et les proportions simulées avec la fonction de dispersion établie pour les dispositifs continus était assez satisfaisante, au moins dans les premiers mètres après la discontinuité. Ensuite, la décroissance prédite semblait trop lente par rapport aux observations (Klein, 2000). L'évaluation du module de dispersion réalisée avec des résultats d'essais dans lesquels les discontinuités étaient semées avec des espèces de hauteurs différentes a montré que l'utilisation de cette courbe permettait, à l'échelle de la parcelle, une estimation des taux de pollinisation dans le bon ordre de grandeur mais avec une mauvaise représentation du patron de dissémination (Cf. § 2.6 et § 3.1). Ce constat a débouché par la suite sur une collaboration entre statisticiens et des physiciens lors du projet GCOM2AP, pour l'amélioration de la prise en compte des hétérogénéités sous la forme d'une modification de la distance calculée entre la source et la cible à partir des résultats des expérimentations numériques menées avec des modèles physiques (Jarosz *et al.*, 2004 ; Foudhil *et al.*, 2005 ; Dupont & Brunet, 2006b). Ces travaux sont toujours en cours.

L'hypothèse relative à la longue distance a été émise car, dans un premier temps, l'objectif de MAPOD® était de pouvoir tester l'efficacité de pratiques à l'échelle du champ et entre groupes de parcelles. À cette échelle, c'est la forme de la courbe dans les premiers mètres à

partir de la source qui est la plus importante (Beckie & Hall, 2008). Par ailleurs, pour cet usage, la confrontation des simulations avec les taux comptés sur les épis dans l'essai cité plus haut montrait qu'elle était acceptable (Klein, 2000). Des travaux ultérieurs sur colza ont démontré qu'à l'échelle du paysage, ce postulat n'était pas toujours valable et que la dispersion à longue distance était mieux représentée par des fonctions « à queue lourde » (Devaux *et al.*, 2007 ; Devaux *et al.*, 2008).
Une comparaison a donc été effectuée lors du projet « Impact des OGM » (Voir Table 8, § 4.4 et Annexe 11) entre la fonction de dispersion NIG, utilisée dans MAPOD® et la fonction 2Dt (Distribution de Student bivariée, paramétrée grâce aux mêmes résultats d'essais que NIG). Ces courbes ne diffèrent qu'à très courte et très longue distances. La fonction 2Dt présente une plus forte probabilité que NIG d'évènements de pollinisation à longue distance mais une moindre occurrence à des distances intermédiaires de la source. À l'échelle d'un paysage et d'une multitude de sources, elle n'assure pas une meilleure représentation de la pollinisation croisée à longue distance que NIG (Lavigne *et al.*, 2008), ce qui résulte de l'interaction entre la probabilité de disperser à chaque distance à partir d'un émetteur et de la présence de sources de pollen à chacune de ces distances (Adams & Birkes, 1991).
La piste de la modification du module de dispersion par changement de la fdi, comme cela a pu être le cas pour GeneSys®-colza grâce aux travaux de Devaux *et al.* (2007 & 2008), reste à approfondir.

Une autre possibilité pour améliorer la prise en compte de la pollinisation à longue distance consiste, là encore, à bénéficier des résultats obtenus avec certains modèles de transport du pollen. Ceux-ci permettent de calculer, à l'échelle régionale, des concentrations de pollen dans les différentes couches atmosphériques et ainsi de caractériser le « bruit de fond », c'est-à-dire le pollen en suspension dans l'atmosphère et pouvant retomber, viable, à de grandes distances du point d'émission (Brunet *et al.*, 2009). À terme, l'idée serait de paramétriser le « bruit de fond » en fonction des conditions météorologiques et de la localisation des parcelles de maïs à l'échelle du paysage pour pouvoir l'introduire dans MAPOD®. Dans le cadre des utilisations du modèle, ceci serait nécessaire pour déterminer précisément la faisabilité de la coexistence pour des seuils très bas tels que ceux demandés en agriculture biologique ou dans certaines filières agro-alimentaires (Raveneau, 2005).

Le ***module de floraison*** repose aussi sur plusieurs hypothèses liées aux données utilisées à l'époque de la construction de MAPOD® :

- La similitude de forme entre les courbes de dynamique des floraisons mâle et femelle ;
- L'utilisation d'une durée de floraison fixe pour toutes les variétés, quelles que soient les conditions climatiques ;
- L'utilisation de la protandrie pour le calcul de la date de floraison mâle à partir de la date de floraison femelle.

La dynamique de floraison incluse dans MAPOD® est une combinaison entre la distribution de dates de début floraison obtenue à partir d'observations dans les essais au champ du GEVES et une dynamique intra-plante issue des résultats présents dans la littérature et de

dires d'experts. L'analyse initiale des données du GEVES avait montré que la mise à fleur de l'ensemble des plantes suivies dans un essai pouvait varier, notamment entre contextes pédoclimatiques[56]. Cependant, compte-tenu des limites de la base de données existante (quatre séries de données pour une variété témoin de DHS en deux lieux sur deux ans), le choix a été fait de fixer la durée de floraison en choisissant la distribution de début floraison la plus étalée entre les deux lieux d'expérimentation, c'est-à-dire celle observée à Guyancourt. Cette hypothèse est conservatrice. En effet, en augmentant le risque de pollinisation croisée, elle conduit à préconiser des décalages de floraison plutôt trop longs que trop courts.
Des travaux ultérieurs valorisant les observations du GEVES ont confirmé la pertinence de la première hypothèse mais pas celle de la seconde (Cf. § 3.2). Des travaux complémentaires ont donc été entrepris pour modéliser le pourcentage de plantes atteignant le début floraison en fonction du temps, exprimé en sommes de températures. Aucun modèle prédictif simple n'a pu être mis au point (Gauffreteau, 2003). Par la suite, des essais spécifiques ont été mis en place au GEVES dans lesquels des mesures de quantité de pollen produites journellement ont été effectuées par piégeage passif[57] (Cf. § 3.2). L'objectif était de modéliser directement, grâce à une approche statistique, la dynamique d'émission du pollen par les plantes au cours de la floraison[58]. Ce sont des intégrales de fonctions de type bêta qui représentaient le mieux le phénomène sur un intervalle de temps indicé par des sommes de températures (Guérineau, 2007). Cependant, la confrontation de ces modèles avec les résultats d'une seconde année de collecte a montré qu'ils avaient un caractère plus explicatif que prédictif du phénomène et ne pourraient donc pas être intégrés dans MAPOD®.

Ces travaux ont néanmoins mis clairement en évidence les différences variétales quant à la production de pollen. Les expérimentations ont donc été poursuivies en adaptant le protocole de capture de façon à mesurer la quantité totale de pollen produite. Les résultats obtenus ont permis de modéliser ces quantités en fonction des caractéristiques architecturales de la panicule, dont la majorité est mesurée dans les procédures d'inscription (Ricci *et al.*, 2012).

La dernière hypothèse sous-jacente au module de floraison résulte de l'analyse de la littérature et du choix concernant l'accessibilité des données de MAPOD® : c'est l'utilisation de la date de floraison femelle et de la protandrie pour le calcul de la date de floraison mâle. Comme indiqué précédemment (Cf. § 3.2), ce mode de calcul est remis en cause par :

- l'évolution du matériel génétique, qui aboutit à des variétés qui peuvent être soit protandres, soit protogynes soit alternatives, en fonction des années ;
- par la variabilité des sommes de températures nécessaires à la mise à fleur femelle d'une année sur l'autre, ce qui remet en cause le mode de calcul de la date de floraison femelle dans le modèle.

D'autres auteurs ont eu à faire face à des difficultés similaires lors de la mise au point du module de floraison de CERES-Maize (Lizaso *et al.*, 2007). Dans le modèle CERES modifié, la progression du nombre de plantes arrivant à floraison mâle est calculée en fonction de

[56] En l'occurrence entre le Magneraud (Charente Maritime) et Guyancourt (Yvelines).
[57] Le piégeage passif, par pot, permet de calculer des quantités de pollen émises par unité de surface réceptrice.
[58] Pour des raisons de faisabilité technique, une étude similaire n'a pu être réalisée pour caractériser la dynamique d'émission des soies.

sommes de températures en base 8°C. L'émission de pollen est déclenchée quand la feuille drapeau est déployée et la date de floraison femelle est ensuite calculée grâce à la protogynie/protandrie suivant les variétés. La présence d'une concentration minimale de pollen au niveau des soies pour assurer la pollinisation est intégrée. Le nombre de soies par épi, la quantité de pollen produite par panicule, les durées totales des floraisons mâle et femelle sont des données d'entrée, pour lesquelles des gammes de variation sont fournies par les auteurs.

Une première piste de recherche pour tester certaines des hypothèses d'amélioration émises lors de l'évaluation de MAPOD® réside dans l'utilisation de bases de données existantes :

- ✓ Celles du GEVES dans lesquelles les dates de début floraison sont enregistrées et pas uniquement celles comportant des suivis complets de floraison comme c'était le cas jusqu'à présent. Pour la plupart des sites d'expérimentation, des données météorologiques recueillies à proximité sont disponibles ainsi qu'une caractérisation du type de sol, ce qui permettrait de travailler sur la prévision de ce stade crucial dans MAPOD® en essayant de mieux tenir compte du contexte pédoclimatique.
- ✓ Celle établie lors du projet GCOM2AP grâce aux suivis aux suivis réalisés au GEVES et à l'IRTA pendant cinq ans. Elle n'a pas été encore été totalement valorisée et comporte notamment des essais où les différences de floraison entre le champ et certaines hétérogénéités intra-parcellaires (bordures, zones tassées…) ont été enregistrées. Les taux de pollinisation ont été mesurés dans ces parcelles (Cf. § 3.5). Simuler ces situations avec MAPOD® et confronter les résultats obtenus aux mesures permettrait d'évaluer l'intérêt de la prise en compte de telles zones en regard du gain de précision de la prédiction du taux d'OGM dans la récolte.

Une seconde piste de recherche consiste à tester le module de floraison de CERES, ou, *a minima*, des équations de progression de la floraison, ceci grâce à la base de données floraison précédemment évoquée. L'intégration d'une quantité de pollen minimale pour la fécondation des soies au sein de l'algorithme de MAPOD® pourrait ensuite être envisagée sur le principe de ce qui existe dans CERES-Maize, suivie d'évaluations grâce aux données déjà utilisées auparavant (Cf. § 3.5).

MAPOD® repose sur des hypothèses fortes liées au contexte de sa construction. Il est fondé, en premier lieu, sur les résultats d'expérimentations préexistantes et de réseaux d'observation. Par la suite, différents types de données ont été utilisés pour son évaluation et l'amélioration des connaissances des processus qui sont représentés dans l'algorithme. Celles-ci étaient issues d'essais mis en place de façon spécifique mais aussi d'observation effectuées lors des procédures de DHS ou de suivis à grande échelle dans des zones de coexistence. En l'occurrence, la qualité prédictive du modèle et ses limites dépendent des données initiales et de la gamme de variation qu'elles recouvrent mais aussi de celles qui sont disponibles pour son évaluation (Lavigne *et al.*, 2004 ; Beckie & Hall, 2008 ; Bellocchi *et al.*, 2010). C'est ce dernier point qui sera discuté dans le paragraphe suivant.

.

Apports et limites de l'évaluation du modèle

L'objectif de l'évaluation de MAPOD® était de pouvoir associer un risque d'erreur aux résultats de simulation et d'indiquer le domaine d'application du modèle, c'est-à-dire préciser les utilisations pour lesquelles il était le plus approprié, tout en identifiant les voies possibles d'amélioration de l'algorithme. Compte tenu de la structure du modèle, ce processus s'est décomposé en une évaluation des modules le composant puis une estimation de la qualité de ses erreurs de prédiction, de classement et de décision.

Comme on l'a vu, le cahier des charges de construction de MAPOD® a défini les types de données nécessaires à son évaluation :

- Des données spatialisées fournissant le parcellaire et les allocations de culture de la zone à étudier (du champ à champ à la petite région agricole) ;
- Des relevés météorologiques ;
- Des descriptions des systèmes de culture ;
- Des mesures des taux de pollinisation croisée dans les parcelles de maïs réceptrices (par utilisation de marqueurs phénotypiques et comptage ou analyse PCR puis conversion en nombre de grains).

Même si c'est l'accessibilité qui a présidé au choix des données d'entrée dans le modèle, elles sont de natures différentes, ce qui a des conséquences sur l'exhaustivité et la qualité des informations utilisées pour l'évaluation de la qualité globale de MAPOD®.

En ce qui concerne **les parcellaires**, la gamme varie entre :

- Des essais champ à champ avec un émetteur et un récepteur de forme géométrique simple et une description précise de l'échantillonnage permettant une localisation des mesures effectuées (Cf. 2.4.1) ;
- Des essais champ à champ chez des agriculteurs avec des parcelles de forme diverse (le plus souvent dessinées sur le cadastre) et une localisation plus ou moins précise des échantillons dans le champ (Cf. 3.3) ;
- Des suivis dans une petite région agricole pour laquelle une photo satellite est disponible sous SIG et dans laquelle les points d'échantillonnage sont positionnés par GPS (Cf. § 3.5 et Annexe 3).

L'acquisition des **données météorologiques** reste une question récurrente pour l'évaluation des modèles biologiques. L'incertitude qui leur est relative peut être liée à la précision des capteurs ainsi qu'à la distance entre la station météorologique et le lieu d'expérimentation (Bellocchi *et al.*, 2010). Ce dernier point a été souligné lors de l'évaluation de MAPOD® (Cf. 3.3).

La description **du système de culture** est précise dans le cas d'essais champ à champ (variété, date et densité de semis…) mais le recueil d'informations devient plus complexe à l'échelle de la petite région agricole, à plus forte raison quand les résultats sont exploités plusieurs années après la mise en place d'un suivi. Dans le cas de la zone de Foixà, cela a abouti à faire des hypothèses sur les caractéristiques de variétés qui n'étaient pas renseignées (Cf. Annexe 3).

Enfin, pour **mesurer les taux de pollinisation**, les sources d'incertitude sont liées à l'échantillonnage pour lequel divers protocoles existent (Cf. § 3) et à la méthode de mesure en elle-même : comptage de grains sur des épis ou analyse PCR.

Pour la première méthode, les risques d'erreurs résident dans l'utilisation, dans le cas des hybrides, d'une constante pour le nombre total de grain par épi (établie en effectuant une moyenne sur un échantillon d'effectif variable). Pour la seconde, malgré la standardisation des pratiques, une étude a révélé un problème de reproductibilité entre laboratoires (Macarthur *et al.*, 2010). L'expérience a consisté à faire analyser par un ensemble de laboratoires des échantillons identiques de soja contenant au moins 1 % d'OGM. Il est apparu que les résultats de PCR oscillaient dans une gamme de 50 à 200 % de la concentration de référence. Il convient donc d'appliquer aux mesures PCR portant sur la quantification des OGM des marges d'erreur qui contiennent les variations liées à l'incertitude de la mesure et permettent de se prémunir des erreurs d'interprétation.

Pour les trois premiers types de données, la perte d'information peut être reliée au changement d'échelle, c'est-à-dire à la différence entre l'utilisation de données d'expérimentations pilotées et celles de suivis à grande échelle, chez des agriculteurs. Ce type d'évaluation peut alors être remis en cause, mais on peut aussi considérer que les résultats obtenus grâce à un réseau de parcelles agricoles peuvent fournir des tendances, tel que l'a fait Burris pour tester si les règles de production de semences établies de façon empirique permettaient de respecter des seuils de pureté mesurés avec une méthode plus précise (électrophorèse) que le comptage d'aberrants phénotypiques (Burris, 2001).

Concernant l'évaluation de la qualité prédictive de MAPOD®, il ressort des conclusions concordantes pour les confrontations avec des données issues d'expérimentations champ à champ instrumentées qui utilisaient un marqueur phénotypique : une prévision du taux de croisement dans le bon ordre de grandeur permettant une classification des situations à risque. L'utilisation des observations effectuées dans le réseau waxy chez des agriculteurs a permis de mettre en évidence la sensibilité du modèle aux décalages entre les floraisons et donc l'importance de la qualité de la prédiction du début de cette phase ainsi que de celle de la variabilité de sa durée, ce qui correspond, compte tenu des données disponibles, à une interprétation du type « tendance sur le fonctionnement du modèle ». Les simulations réalisées avec les informations collectées sur la zone de Foixà en Catalogne n'ont pas permis de corroborer les conclusions sur la qualité prédictive du modèle obtenues avec les dispositifs de petite taille. Cependant, les analyses ROC effectuées ont confirmé la capacité du modèle à classer les situations vis-à-vis d'un seuil.

Selon Dent & Blackie, cités par Kiniry & Jones (1986), l'évaluation est un processus à long terme grâce à laquelle la confiance dans le modèle augmente ou diminue suivant une suite des tests formels et informels.

Une des étapes suivantes consistera donc à reprendre les situations de coexistence champ à champ les mieux renseignées dans la zone de Foixà (en excluant celles de 2005[59]) afin d'essayer de déterminer d'où proviennent les erreurs dans les prédictions. Ces travaux pourront être complétés par l'utilisation des jeux de données collectés dans la base établie lors du projet européen SIGMEA. Elle comporte majoritairement des dispositifs champ à champ (avec différents types de marqueurs). Ces mesures permettront aussi de compléter les analyses ROC en augmentant l'effectif de l'échantillon. La poursuite de l'acquisition de données reste néanmoins nécessaire, elle pourrait se faire *via* les réseaux de suivi post-commercialisation des variétés OGM, tel que celui qui existe au Portugal. Dans un premier temps, cette collecte pourrait s'effectuer au sein des participants du projet européen PRICE (Cf. Table 8).

Apports d'un modèle de flux de gènes pour l'aide à la décision

Malgré les difficultés rencontrées (peu de jeux de données à grande échelle, informations manquantes…), il ressort de l'évaluation qu'il est possible d'estimer avec MAPOD® l'efficacité de mesures de coexistence dans des dispositifs champ à champ[60], tel que cela a été fait dans les études de coexistence présentées dans le paragraphe 4.

À l'échelle du paysage, deux utilisations sont envisageables :

- Dans une optique décisionnelle, afin de prévoir le respect d'un seuil défini dans une récolte non-OGM (Cf. § 3.5) ;
- Dans des études théoriques, en considérant des situations à risque dans lesquelles les floraisons sont synchrones afin d'étudier les facteurs affectant les processus de flux. Les résultats obtenus peuvent alors permettre d'affiner les recommandations issues des travaux de simulations pour des dispositifs parcelle à parcelle en fonction de variables spatiales qui influent à plus grande échelle (Lavigne *et al.*, 2008 ; Viaud *et al.*, 2008 ; Le Bail *et al.*, 2010).

Ces différents types d'utilisations montrent l'intérêt d'un modèle de flux de gènes pour l'aide à la décision par rapport à une approche reposant uniquement sur l'extrapolation de données obtenues dans des essais testant des mesures de coexistence.

D'autres auteurs ont évalué la faisabilité de la coexistence entre variétés OGM et non-OGM à l'échelle de paysages à l'aide de systèmes d'information géographique (Dolezel *et al.*, 2005 ; Devos *et al.*, 2007 ; Devos *et al.*, 2008). À partir d'une carte d'allocation des cultures, des *buffers* de la taille de la distance d'isolement correspondant à un seuil de pureté dans les récoltes sont mis en place autour de parcelles devant être cultivées avec des variétés OGM. Si le *buffer* contient des parcelles « non-OGM », la parcelle initiale doit être semée avec une variété conventionnelle. Cette méthode peut être mise en œuvre de façon prospective (comparaison de la faisabilité de la coexistence pour différentes régions) ou au moment du semis. Pour l'aide à la décision, elle a pour intérêt un coût minimal en données d'entrée et en

[59] Les mesures dans la zone de Foixà ont été toutes été réalisées par le même laboratoire à l'exception de celles de 2005.

[60] Pour les détourages et zones tampons, bien que le patron de dissémination soit mal simulé, des résultats d'expérimentation sont convergents avec ceux obtenus avec MAPOD® (Langhof et *al.*, 2010 ; Rühl *et al.*, 2011).

connaissances sur les phénomènes biologiques, puisque ceux-ci ne sont peu ou pas pris en compte. Les conséquences sont doubles :

- Ce processus itératif de modifications des intentions de semis peut aboutir, comme déjà évoqué, à un « effet domino », c'est-à-dire, *in fine*, à une réduction des choix possibles d'ensemencement pour les voisins (Demont *et al.*, 2008) ;
- L'utilisation de règles rigides, le plus souvent établies pour des situations à risques (Czarnak-Klos & Rodriguez-Cerezo, 2010), conduit à considérer que toutes les parcelles dans un rayon inférieur à une distance dépasseront le seuil de pureté exigé dans la récolte. Dans la réalité, les facteurs jouant sur les flux (climat, taille et forme des parcelles, décalages de floraison…) font que les parcelles ne sont pas toutes « à risque ». Les décisions prises avec la méthode des *buffers* ne respectent alors pas le principe de proportionnalité édicté dans les recommandations de la Commission européenne (CE, 2003a, 2010a)[61].

À la différence de cette approche fondée sur des mesures uniformes, MAPOD® permet de proposer des règles de décision adaptées à la diversité des situations pédoclimatiques, des paysages agricoles et des pratiques (Cf. § 4.1 et Annexe 7).
Ces règles ne prétendent pas à l'infaillibilité. Un système de compensation est prévu en cas de déclassement d'une parcelle non-OGM lorsque des mesures de coexistence ont été mises en place par le producteur d'OGM (Cf. § 1.1.2). Un compromis reste alors à trouver entre respect de la proportionnalité et risques de contentieux. Il convient cependant de souligner que la mise en œuvre de règles de décision dans une réglementation s'avère plus complexe que celle de mesures fixées (distances d'isolement, remplacement par des zones tampons) à l'échelle d'un pays (Messéan *et al.*, 2009 ; Czarnak-Klos & Rodriguez-Cerezo, 2010).

La flexibilité de MAPOD® ne réside pas uniquement dans sa capacité à tester l'efficacité de pratiques mais aussi de leurs combinaisons. En l'occurrence, l'échelle de travail varie de la zone intra-parcellaire au bassin de collecte permettant en cela de la souplesse dans le choix de la variable de sortie du modèle. Il peut s'agir du taux de pollinisation :

- dans une zone spécifique d'un champ (bordure…),
- dans une parcelle,
- dans un groupe de parcelles (un îlot sans OGM, par exemple),
- dans un silo.

De ce fait, les résultats obtenus avec MAPOD® peuvent intéresser plusieurs types de décideurs : des agriculteurs et leurs conseillers, pour les choix de pratiques de coexistence adéquates ; les coopératives pour la réalisation d'allotements « sans OGM » ; les pouvoirs publics pour déterminer la faisabilité de la coexistence en fonction des contextes agro-climatiques de différentes régions de production (Angevin *et al.*, 2002 ; Messéan *et al.*, 2009). En effet, MAPOD® est un modèle spatialement explicite qui prend en compte l'effet des techniques culturales sur le phénomène étudié. Il permet de simuler de nombreuses combinaisons « paysages x systèmes de culture », donc de prendre en compte la diversité

[61] Voir aussi le paragraphe 1.1.2

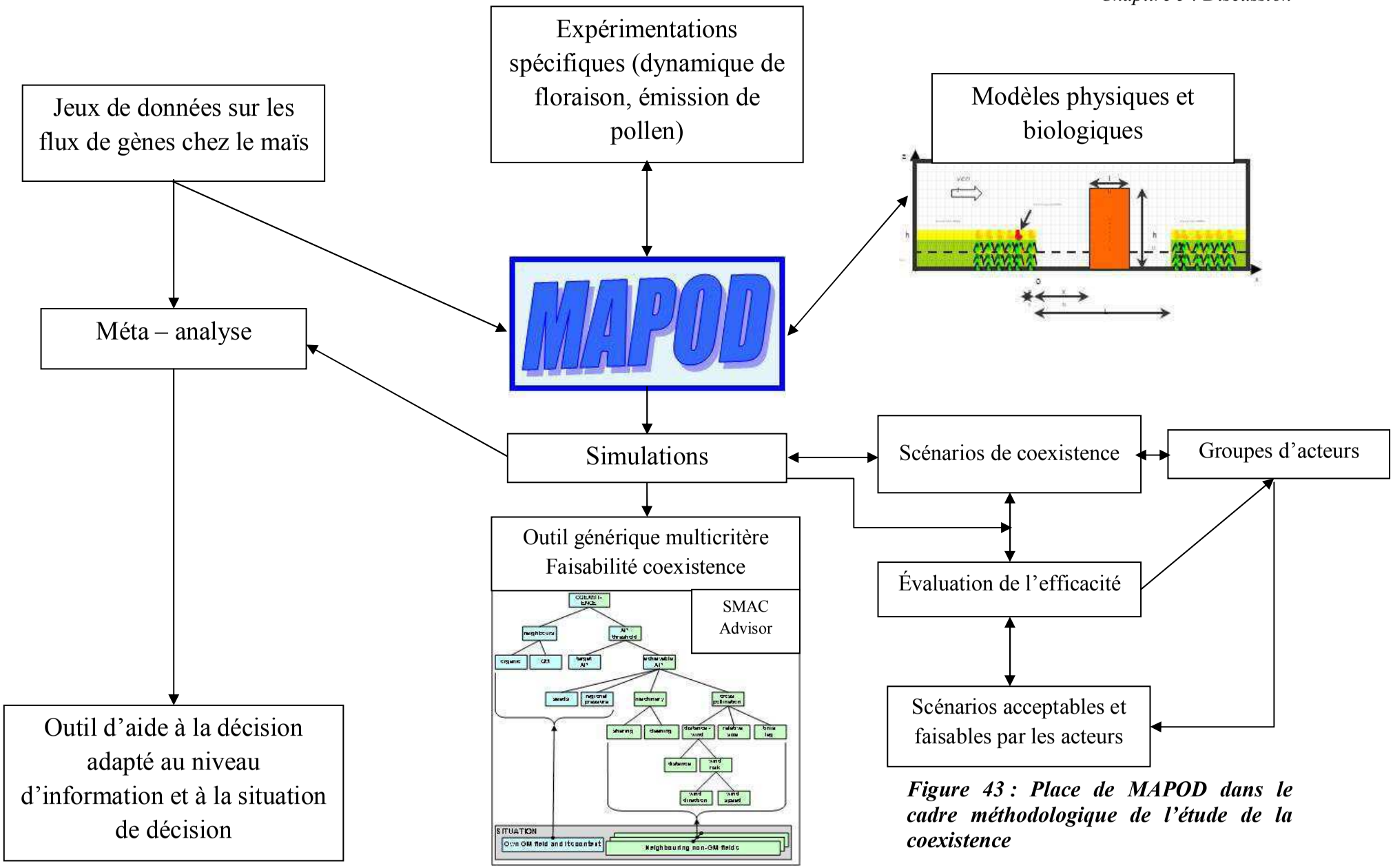


Figure 43 : Place de MAPOD dans le cadre méthodologique de l'étude de la coexistence

des contextes agricoles européens, ce que ne peuvent faire les modèles empiriques (Beckie & Hall, 2008 ; Colbach, 2009). Pour les phénomènes de flux, compte tenu des interactions entre les éléments du paysage et ceux des systèmes de culture, il n'est pas possible d'extrapoler les résultats d'études individuelles obtenus avec ce type de modèle à d'autres régions (Colbach, 2009). Pour dépasser cette limite, il est en revanche envisageable de réaliser de nombreuses simulations de situations existantes ou prospectives, en multipliant les parcellaires avec des systèmes de culture contrastés (Angevin *et al.*, 2002 ; Colbach *et al.*, 2009).

Bien que conçu dans une optique d'opérationnalité, MAPOD® requiert un certain nombre de données d'entrée qui ne sont pas toutes disponibles au moment où les agriculteurs prennent leurs décisions. Par ailleurs, les simulations nécessitent un certain temps de saisie et de calcul. Ce sont donc des résultats de simulations, et non directement le modèle, qui peuvent être utilisés pour l'élaboration de recommandations dans des groupes d'agriculteurs et de conseillers. C'est dans ce but qu'ont été construites les règles de décision présentées dans les tables 22 et 23 et dans l'Annexe 7 ainsi que l'outil SMAC-Advisor (Cf. § 4.2). Dans le même ordre d'idée, c'est un méta-modèle dérivé de MAPOD® qui a été utilisé lors du projet européen SIGMEA pour l'animation de groupes d'agriculteurs et de conseillers[62]. Le rôle de ces groupes était d'établir des scénarios de coexistence qui soient techniquement efficaces mais aussi faisables et acceptables par les acteurs. Les simulations testant les mesures de coexistence proposées par les participants ne pouvaient être réalisées lors des réunions pour des raisons de temps de calcul, elles l'ont donc été entre une réunion de propositions de pratiques et une de discussion des scénarios. C'est un méta-modèle programmé sous R qui permettait de mobiliser ces résultats en fonction des demandes des acteurs.

Les utilisations de MAPOD® pour l'aide à la décision sont donc diverses, de par les types de décideurs qui peuvent être visés mais aussi par le mode de diffusion des résultats obtenus (études, règles de décision, outil d'aide à la décision ou méta-modèle). Il s'insère en cela dans un cadre plus générique d'étude de la coexistence que celui de la question initialement posée sur la maîtrise de la dissémination au champ des transgènes (Cf. Figure 43). Outre la diversification des usages du modèle et la mise au point d'outils spécifiques, MAPOD® bénéficie d'une dynamique qui vise à l'augmentation des connaissances sur les phénomènes modélisés. En effet, lors du processus de conception-évaluation, certains essais se sont avérés nécessaires pour améliorer le module de floraison et ont été mis en place au GEVES. Comme déjà évoqué, des collaborations ont été établies afin de profiter des acquis des modèles physiques de dispersion sur les effets des obstacles et la prise en compte de la déposition de pollen à longue distance. Enfin, un travail de méta-analyse engagé avec des statisticiens vise à utiliser les sorties des simulations de MAPOD® et des jeux de données d'essais sur les flux de gènes afin de créer une bibliothèque de modèles simples pouvant être mis à disposition sur un serveur web et adaptés au niveau d'information et à la situation de décision. Ils permettraient de tester la faisabilité de la coexistence au moment des intentions de semis (peu de données d'entrée disponibles) ou de gérer des allotements (utilisation après floraison, quand les données climatiques sont connues).

[62] http://www.inra.fr/sigmea/deliverables : voir les livrables du workpackage 7

Conclusion

Les approches visant à fournir des recommandations pour la coexistence de cultures de la même espèce se sont développées à l'occasion de l'introduction de variétés OGM dans les systèmes de culture européens. Elles sont de nature diverse : expérimentations, suivis à grande échelle, méta-analyse de jeux de données, modélisation orientée vers la connaissance des processus ou vers l'aide à la décision. Chacune présente ses atouts et ses limites.

Dans le cas de MAPOD®, le contexte initial de conception, une étude pour l'aide à la décision publique, a grandement orienté les choix méthodologiques ayant présidé à la construction du modèle par une équipe pluridisciplinaire. L'algorithme repose sur des résultats d'essais et de la littérature. C'est l'optique d'opérationnalité qui a conduit à préférer une modélisation quasi mécaniste. Le modèle a ensuite évolué de façon dynamique et non linéaire en fonction des expertises et projets de recherche dans lesquels MAPOD® a été mobilisé.

La procédure d'évaluation s'est faite au fur et à mesure de l'acquisition de nouvelles données et a permis de déterminer quels étaient les processus à approfondir, ce qui a abouti à la mise en place d'essais spécifiques afin de les étudier. Les résultats obtenus ont aussi débouché sur de nouvelles collaborations, notamment avec des physiciens, pour l'amélioration de la prise en compte de l'effet des obstacles et des phénomènes à longue distance.

Les utilisations du modèle se sont diversifiées au cours du temps. Les recommandations champ à champ ont évolué vers des règles de décision, celles-ci étant ensuite intégrées dans un outil présentant une interface conviviale à destination des agriculteurs et de leurs conseillers. Le test de la faisabilité de l'introduction de variétés OGM à l'échelle de régions agricoles et des modifications de pratiques qui seraient nécessaires a permis de travailler à l'élaboration de scénarios de coexistence. L'étape suivante a consisté non seulement à les soumettre à des acteurs mais aussi à mobiliser ceux-ci pour la conception de scénarios de gestion efficaces, techniquement faisables et acceptables par les agriculteurs. À une autre échelle de décision, MAPOD® a permis d'estimer l'efficacité de stratégies de gestion de la coexistence mises en place par des organismes de collecte et de stockage. Enfin, ces expertises ont souligné l'importance des caractéristiques du parcellaire sur les phénomènes en jeu, ce qui a débouché sur des études plus théoriques dont les résultats peuvent être mobilisés pour améliorer les recommandations basées sur des études champ à champ. La dynamique créée autour du modèle va donc plus loin que la réponse à la question initialement posée sur la maîtrise de la dissémination au champ des transgènes (Cf. Figure 43). Il y a eu en effet identification de questions de recherche aboutissant à de nouvelles collaborations mais aussi diversification des utilisations (études théoriques des processus, analyse de scénarios avec des acteurs).

Certains outils découlant de MAPOD® ont été conçus en fonction de l'information disponible au moment de la prise de décision car le modèle reste consommateur en données et ne s'adresse donc pas directement à des agriculteurs ou à leurs conseillers. Des recherches se poursuivent actuellement dans cette voie déjà un peu explorée avec la conception de SMAC-Advisor. Elles visent, à partir de données d'essais et de simulations réalisées avec MAPOD®, à établir plusieurs modèles bayésiens, en fonction de la gamme des données disponibles qui

permettraient d'estimer par exemple, la faisabilité de la coexistence dans une petite région agricole au moment des intentions de semis (projet européen PRICE).

Par ailleurs, d'une manière plus générique, les acquis issus du couplage de MAPOD® avec un modèle de gestion peuvent être remobilisés pour d'autres phénomènes de flux (spores par exemple). C'est l'un des objets du projet ANR GESTER qui étudie la gestion durable des résistances variétales chez le blé et le colza.

Le processus de conception-évaluation-utilisations de MAPOD® a été initié il y a une dizaine d'années en réponse à des questions pratiques posées dans le cadre de l'aide à la décision publique et s'est déroulé ensuite suivant une dynamique non linéaire (Cf. Figure 16). Il serait maintenant intéressant d'analyser les atouts et les inconvénients de cette approche vis-à-vis d'autres démarches, elles aussi orientées vers l'aide à la décision, mais qui ont procédé différemment (expertises collectives, méta-analyses…).

Bibliographie

Adamczyk, K., Angevin, F., Colbach, C., Lavigne, C., Le Ber, F., Mari, J.F., 2007. GENEXP, un logiciel simulateur de paysages agricoles pour l'étude de la diffusion de transgènes. *Géomatique,* 17, 469-487.

Adamczyk, K., Angevin, F., Colbach, N., Klein, E., Lavigne, C., Le Ber, F., Mari, J.F., Monod, H., 2011. Impact des caractéristiques du paysage sur les flux de gènes entre champs: deux utilisations possibles des parcellaires modélisés avec le logiciel GenExp-LandSiTes. Colloque PAYOTE, Rennes, 18 - 19 octobre 2011.

Adams, W.T., Birkes, D.S., 1991. Estimating mating patterns in forest tree populations. In: Fineschi, S., Malvolti, M., Cannata, F., Hattemer, H. (Eds.), Biochemical Markers in the Population Genetics of Forest Trees. SPB Academic Publishing, The Hague, pp. 157-172.

AFNOR, 2000. Détection et quantification des organismes végétaux génétiquement modifiés et produits dérivés. Partie 1 : lignes directrices et exigences. Standard XP V 03-020-1, 38 p.

Allen, R.G., Smith, M., Pereira, L.S., Perrier, A., 1994. An Update for the Calculation of Reference Evapotranspiration. *ICID Bulletin.,* 2, 35-92.

Allnutt, T.R., Dwyer, M., McMillan, J., Henry, C., Langrell, S., 2008. Sampling and modeling for the quantification of adventitious genetically modified presence in maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 56, 3232-3237.

Aly, A.M., Hassan, A.R., 1999. Foraging preference of honey bees for pollen of some maize varieties in middle Egypt. *Shashpa* 125-136.

Angevin, F., Colbach N., Meynard, J.M., Roturier, C., 2002. Analysis of necessary adjustements of farming practices. *In* Bock, A.-K., Lheureux, K., Libeau-Dulos, M., Nilsagard H., Rodriguez-Cerezo, E., Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture, 145 p. http://www.jrc.es/projects/co_existence/Docs/coexreportipts.pdf

Angevin, F., Gauffreteau, A., Klein, E., Lavigne, C., 2006. Modélisation de la dispersion du pollen : application à la gestion des cultures de maïs à l'échelle du parcellaire et de la région agricole. Rapport scientifique de fin de contrat, Appel d'offres CTPS, 57 p.

Angevin, F., Klein, E.K., Choimet, C., Gauffreteau, A., Lavigne, C., Messéan, A., Meynard, J.M., 2008. Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: The MAPOD model. *European Journal of Agronomy,* 28, 471-484. DOI: 10.1016/j.eja.2007.11.010

Angevin, F., Klein, E.K., Choimet, C., Meynard, J.M., de Rouw, A., Sohbi, Y., 2001. Modélisation des effets des systèmes de culture et du climat sur les pollinisations croisées chez le maïs. Pertinence économique et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM, pp 21-36.

Anklam, E., Gadani, F., Heinze, P., Pijnenburg, H., Eede, G.v.d., 2002. Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products. *European Food Research and Technology,* 214, 3-26.

Arritt, R.W., Clark, C.A., Goggi, A.S., Sanchez, H.L., Westgate, M.E., Riese, J.M., 2007. Lagrangian numerical simulations of canopy air flow effects on maize pollen dispersal. *Field Crops Research,* 102, 151-162.

Aylor, D.E., 2004. Survival of maize (*Zea mays*) pollen exposed in the atmosphere. *Agricultural and Forest Meteorology.,* 123, 125-133.

Aylor, D.E., Schultes, N.P., Shields, E.J., 2003. An aerobiological framework for assessing cross-pollination in maize. *Agricultural and Forest Meteorology,* 119, 111-129.

Balique, B., 2008. Dynamique de floraison et d'émission du pollen chez le maïs. INRA, Mémoire de stage AgroParisTech, 58 p.

Bannert, M., Stamp, P., 2007. Cross-pollination of maize at long distance. *European Journal of Agronomy,* 27, 44-51.

Bannert, M., Vogler, A., Stamp, P., 2008. Short-distance cross-pollination of maize in a small-field landscape as monitored by grain color markers. *European Journal of Agronomy,* 29, 29-32.

Bassetti, P., Westgate, M.E., 1993. Water deficit affects receptivity of maize silks. *Crop Science,* 33, 279-282.

Bassetti, P., Westgate, M.E., 1994. Floral asynchrony and kernel set in maize quantified by image analysis. *Agronomy Journal,* 86, 699-703.

Bateman, A.J., 1947a. Contamination in seed crops I: Insect pollination. *Journal of Genetics,* 48, 257-275.

Bateman, A.J., 1947b. Contamination in seed crops II: wind pollination. *Heredity,* I, 235-246.

Bateman, A.J., 1947c. Contamination in seed crops III: Relation with isolation distances. *Heredity,* I, 303-336.

Beckie, H.J., Hall, L.M., 2008. Simple to complex: modelling crop pollen-mediated gene flow. *Plant Science,* 175, 615-628.

Beckingham, C., 2007. Commodity growing guides - Sweet corn. NSW governement (Aus). http://www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/horticulture/vegetables/commodity/sweet-corn

Bellocchi, G., Rivington, M., Donatelli, M., Matthews, K., 2010. Validation of biophysical models: issues and methodologies. A review. *Agronomy for Sustainable Development,* 30, 109-130.

Bitocchi, E., Nanni, L., Rossi, M., Rau, D., Bellucci, E., Giardini, A., Buonamici, A., Vendramin, G.G., Papa, R., 2009. Introgression from modern hybrid varieties into landrace populations of maize (*Zea mays* ssp. mays L.) in central Italy. *Molecular Ecology,* 18, 603-621.

Bock, A.-K., Lheureux, K., Libeau-Dulos, M., Nilsagard, H., Rodriguez-Cerezo, E., 2002. Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission, 145 p.

http://www.jrc.es/projects/co_existence/Docs/coexreportipts.pdf

Bohanec, M., 2003. Decision support. In: Mladenić, D., Lavrač, N., Bohanec, M., Moyle, S. (Ed.), Data mining and decision support: Integration and collaboration. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 23-35.

Bohanec, M., 2011. DEXi: Program for Multi-Attribute Decision Making, User's Manual, Version 3.03. Jožef Stefan Institute, Ljubljana, 60 p. http://www-ai.ijs.si/MarkoBohanec/dexi.html

Bohanec, M., Messéan, A., Angevin, F., Žnidaršič, M., 2007. SMAC Advisor: A Decision-Support Tool on Maize Co-Existence. Third international conference on Coexistence between Genetically Modified and non GM based supply chains, Sevilla, 20-21 November 2007, pp. 119-122.

Bolanos, J., Edmeades, G.O., 1993. 8 Cycles of Selection for Drought Tolerance in Lowland Tropical Maize.1. Responses in Grain-Yield, Biomass, and Radiation Utilization. *Field Crops Research,* 31, 233-252.

Bolanos, J., Edmeades, G.O., 1996. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. *Field Crops Research,* 48, 65-80.

Bonneuil, C., Joly, P.B., Marris, C., 2008. Disentrenching experiment - The construction of GM-crop field trials as a social problem. *Science Technology & Human Values,* 33, 201-229.

Boyat, A., Kaan, F., Panouillé, A., 1990. Adaptation de 4 types variétaux de maïs aux fortes densités de peuplement. *In*: Picard, D. (Ed.), Physiologie et production du maïs INRA, pp. 335-343.

Boyat, A., Ramdoyal, K., Kaan, F., Panouille, A., 1984. Crop density and prolificacy. In: Gallais, A. (Ed.), Physiologie du maïs. INRA, Royan, pp. 199-204.

Brisson, N., Mary, B., Ripoche, D., Jeuffroy, M.H., Ruget, F., Nicoullaud, B., Gate, P., Devienne-Barret, F., Antonioletti, R., Durr, C., Richard, G., Beaudoin, N., Recous, S., Tayot, X., Plenet, D., Cellier, P., Machet, J.M., Meynard, J.M., Delecolle, R., 1998. STICS: a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances. I. Theory and parameterization applied to wheat and corn. *Agronomie,* 18, 311-346.

Brisson, N., Ruget, F., Gate, P., Lorgeou, J., Nicoullaud, B., Tayot, X., Plenet, D., Jeuffroy, M.H., Bouthier, A., Ripoche, D., Mary, B., Justes, E., 2002. STICS: a generic model for simulating crops and their water and nitrogen balances. II. Model validation for wheat and maize. *Agronomie,* 22, 69-92.

Brunet, Y., Dupont, S., De Luca, M., Pinty, J.-P., Escobar, J., Delage, S., Tulet, P., Lac, C., Foueillassar, X., 2009. Mesoscale dispersal of pollen and implications for gene flow. Fourth international conference on coexistence between genetically modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains, Melbourne (Aus), 10-12 November 2009.

Burris, J.S., 2001. Adventitious pollen intrusion into hybrid maize seed production fields. 56th Annual Corn and Sorghum Research Conference, Chicago http://www.amseed.com/govt_statementsDetail.asp?id=69

Byrne, P.F., Fromherz, S., 2003. Can GM and non-GM crops coexist? Setting a precedent in Boulder County, Colorado, USA. *Food Agriculture and Environment,* 1, 258-261.

Carcova, J., Uribelarrea, M., Borras, L., Otegui, M.E., Westgate, M.E., 2000. Synchronous pollination within and between ears improves kernel set in maize. *Crop Science,* 40, 1056-1061.

Castellazzi, M.S., Matthews, J., Angevin, F., Sausse, C., Wood, G.A., Burgess, P.J., Brown, I., Conrad, K.F., Perry, J.N., 2010. Simulation scenarios of spatio-temporal arrangement of crops at the landscape scale. *Ecological modelling and software,* 25, 1881-1889.

CE, 2001a. Directive 2001/18/CE du Parlement Européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil. Journal officiel des Communautés européennes, 17/04/2001, vol. 44, L106, 2001/18/CE, pp 1-38.

CE, 2001b. Scientific committee on plants: Opinion concerning the adventitious presence of GM seeds in conventional seeds (Opinion adopted by the Committee on 7 March 2001). 20 p.

CE, 2002. Directive 2002/53/CE du Conseil du 13 juin 2002 concernant le catalogue commun des variétés des espèces de plantes agricoles. Journal officiel des Communautés européennes, 20/07/2002, vol. 45, L193, 2002/53/CE, pp 1-11.

CE, 2003a. Commission recommendations of 23 July 2003 on guidelines for the development of national strategies and best practices to ensure the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic farming, 2003/556/EC (notified under document number C(2003) 2624). Official Journal of the European Union, 29/07/2003, vol. 46, L189, pp 36-47.

CE, 2003b. Regulation (EC) N° 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically food and feed. Official Journal of the European Union,18/10/2003, vol. 46, L268, pp1–23.

CE, 2003c. Regulation (EC) N° 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 03 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. Official Journal of the European Union, 18/10/2003, vol. 46, L268, pp 24-28.

CE, 2004. Commission recommendation of 4 October 2004 on technical guidance for sampling and detection of genetically modified organisms and material produced from genetically modified organisms as or in products in the context of Regulation (EC) No 1830/2003. Official Journal of the European Union, 24/11/2003, vol. 47, L348, pp 18–26.

CE, 2007a. Décision de la Commission du 25 avril 2007 concernant le retrait du marché du maïs Bt176 (SYN-EV176-9) et des produits qui en sont dérivés [notifiée sous le numéro C(2007) 1804]. Journal officiel des Communautés européennes, 05/05/2007, vol. 50, L117, pp 14-16.

CE, 2007b. Règlement (CE) no 834/2007 du Conseil du 28 juin 2007 relatif à la production biologique et à l'étiquetage des produits biologiques et abrogeant le règlement (CEE) no 2092/91. Official Journal of the European Union, 20/07/2007, vol. 50, L189, pp 1-23.

CE, 2009. Report from the Commission to the council and the European parliament on the coexistence of GM crops with conventional and organic farming. European Commission, SEK(2009) 408, 12 p + annexes.

CE, 2010a. Commission recommendation of 13 July 2010 on guidelines for the development of national co-existence measures to avoid the unintended presence of GMOs in conventional and organic crops (notified under document number C(2010) 4822). Official Journal of the European Union, vol. 53, C200, pp 1-5.

CE, 2010b. OGM : les États membres assumeront l'entière responsabilité de la présence de ces cultures sur leur territoire. IP/10/321, Communiqué de presse, 3 p.

CE, 2011a. Commission regulation (EU) n° 619/2011 of 24 June 2011 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed as regards presence of genetically modified material for which an authorisation procedure is pending or the authorisation of which has expired Official Journal of the European Union, 25/06/2011, L166, pp 9-15.

CE, 2011b. Commission staff document: Complementary considerations on legal issues on GMO cultivation raised in the opinions of the legal service of the Council of the European Union of 5 November 2010 and of the Legal service of the European Parliament of 17 November 2010, (Indicative list of grounds for Member states to restrict or prohibit GMO cultivation). SEC(2011) 184 final, 4p.

Colbach, N., 2009. How to model and simulate the effects of cropping systems on population dynamics and gene flow at the landscape level: example of oilseed rape volunteers and their role for co-existence of GM and non-GM crops. *Environmental Science and Pollution Research,* 16, 348-360.

Colbach, N., 2010. Modelling cropping system effects on crop pest dynamics: how to compromise between process analysis and decision aid. *Plant Science,* 179, 1-13.

Colbach, N., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J.M., 2001a. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. *Agriculture Ecosystems & Environment,* 83, 235-253.

Colbach, N., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J.M., 2001b. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. *Agriculture Ecosystems & Environment,* 83, 255-270.

Colbach, N., Debaeke, P., 1998. Integrating crop management and crop rotation effects into models of weed population dynamics: a review. *Weed Science,* 46, 717-728.

Colbach, N., Molinari, N., Meynard, J.M., Messéan, A., 2005. Spatial aspects of gene flow between rapeseed varieties and volunteers. *Agronomy for Sustainable Development,* 25, 355-368.

Colbach, N., Monod, H., Lavigne, C., 2009. A simulation study of the medium-term effects of field patterns on cross-pollination rates in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Ecological Modelling,* 221, 662-672.

Coléno, F.C., 2008. Simulation and evaluation of GM and non-GM segregation management strategies among European grain merchants. *Journal of Food Engineering,* 88, 306-314.

Coléno, F.C., Angevin, F., Le Bail, M., Nakhla, M., 2007. Évaluer la relation entre modes de contrôle de gestion inter-firmes et organisation de la chaîne logistique amont dans les stratégies de séparation des filières OGM et non-OGM. Rapport scientifique du Programme ACI IMPACT des OGM 2004-2007, 35 p.

Coléno, F.C., Angevin, F., Lécroart, B., 2009. A model to evaluate the consequences of GM and non-GM segregation scenarios on GM crop placement in the landscape and cross-pollination risk management. *Agricultural Systems,* 101, 49-56.

Collectif, 2007. Task 2.3 Gene flow – understanding the processes 44 p. http://www.inra.fr/sigmea/deliverables

CPVO, 2001. Protocol for Distinctness, Uniformity and Stability tests, *Zea mays* L. Community Plant Variety Office, TP 2/2- final, 35 p.

Crosetto, M., Tarantola, S., Saltelli, A., 2000. Sensitivity and uncertainty analysis in spatial modelling based on GIS. *Agriculture Ecosystems & Environment,* 81, 71-79.

Cruz de Carvalho, P., Quedas, F., Rocha, F., 2008. Manual de boas praticas de coexistência para a cultura do milho. Direcçao-Geral de Agricultura et Desenvolvimento Rural, 31 p.

Czarnak-Klos, M., Rodriguez-Cerezo, E., 2010. Best practices documents for coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming. 1. Maize crop production. JRC Scientific and Technical reports, Eur 24509 EN - 2010, 70 p. http://ecob.jrc.ec.europa.eu/documents.html

Damgaard, C., Kjellsson, G., 2005. Gene flow of oilseed rape (*Brassica napus*) according to isolation distance and buffer zone. *Agriculture Ecosystems & Environment,* 108, 291-301.

Dattée, Y., Angevin, F., Messéan, A., 2009. Coexistence between GM and non-GM based agricultural supply chains Colloque scientifique sur les OGM organisé par les Académies des Sciences de France et du Canada, Ottawa (Can), 22-23 Septembre 2009.

Della Porta, G., Ederle, D., Bucchini, L., Prandi, M., Verderio, A., Pozzi, C., 2008. Maize pollen mediated gene flow in the Po valley (Italy): source-recipient distance and effect of flowering time. *European Journal of Agronomy,* 28, 255-265.

Demont, M., Daems, W., Dillen, K., Mathijs, E., Sausse, C., Tollens, E., 2008. Regulating coexistence in Europe: Beware of the domino-effect! *Ecological Economics,* 64, 683-689.

Derieux, M., Bonhomme, R., 1982. Heat unit requirements for maize hybrids in Europe. Results of the European FAO sub-network. I. Sowing-silking period. *Maydica,* 27, 59-77.

Derieux, M., Bonhomme, R., 1990. Heat units requirements of maize inbred lines for pollen shedding and silking: results of the European FAO network. *Maydica,* 35, 41-46.

Devaux, C., Klein, E.K., Lavigne, C., Sausse, C., Messean, A., 2008. Environmental and landscape effects on cross-pollination rates observed at long distance among French oilseed rape (*Brassica napus)* commercial fields. *Journal of Applied Ecology,* 45, 803-812.

Devaux, C., Lavigne, C., Austerlitz, F., Klein, E.K., 2007. Modelling and estimating pollen movement in oilseed rape (*Brassica napus*) at the landscape scale using genetic markers. *Molecular Ecology,* 16, 487-499.

Devos, Y., Reheul, D., Thas, O., Clercq, E.M.d., Cougnon, M., Cordemans, K., 2007. Implementing isolation perimeters around genetically modified maize fields. *Agronomy for Sustainable Development,* 27, 155-165.

Devos, Y., Thas, O., Cougnon, M., De Clercq, E.M., Cordemans, K., Reheul, D., 2008. Feasibility of isolation perimeters for genetically modified maize. *Agronomy for Sustainable Development,* 28, 195-206.

Dietiker, D., Oehen, B., Ochsenbein, C., Westgate, M.E., Stamp, P., 2011. Field Simulation of Transgenic Seed Admixture Dispersion in Maize with a Blue Kernel Color Marker. *Crop Science,* 51, 829-837.

DiFazio, S.P., 2002. Measuring and modelling gene flow from hybrid poplar plantations: implications for transgenic risk assessment. Oregon State University, PhD thesis, 244 p. http://www.fsl.orst.edu/tgerc/dif_thesis/difaz_thesis.pdf

Dolezel, D., Pascher, K., Grabherr, G., 2005. Regionality as a key parameter for co-existence of genetically modified maize with conventional and organic maize. GMCC 05, Montpellier, 14 - 15 November 2005, pp. 203-206.

DRAF Aquitaine et Midi-Pyrénées, 2007. Culture du Maïs génétiquement modifié en 2007. Bilan des enquêtes conduites par les Directions régionales de l'agriculture et de la forêt - Service Régional de la Protection des Végetaux- des régions Aquitaine et Midi-Pyrénées. 22 p + annexes.

Du Plessis, D.P., Dijkhuis, F.J., 1967. The influence of time lag between pollen-shedding and silking on the yield of maize. *South African Journal of Agriculture,* 10, 667-674.

Dunning, J.B., Stewart, D.J., Danielson, B.J., Noon, B.R., Root, T.L., Lamberson, R.H., Stevens, E.E., 1995. Spatially Explicit Population Models: Current Forms and Future Uses. *Ecological Applications,* 5, 3-11.

Dupont, S., Brunet, Y., 2006a. Large-eddy simulation of forest edge flow with ARPS. 27th Conference on Agricultural and Forest Meteorology, 17th Symposium on Boundary Layers and Turbulence, 17th Conference on Biometeorology and Aerobiology, San Diego, USA, 22-25 May 2006.

Dupont, S., Brunet, Y., 2006b. Simulation of turbulent flow in an urban forested park damaged by a windstorm. Boundary-layer meteorology, 120, 1, 131-161.

Dupont, S., Brunet, Y., Jarosz, N., 2006. Eulerian modelling of pollen dispersal over heterogeneous vegetation canopies. *Agricultual and Forest Meteorology,* 141, 82-104.

Durand, R., 1969. Signification et portée des sommes de températures. *Bulletin Technique d'Information*, 185-190.

Ellstrand, N.C., Prentice, H.C., Hancock, J.F., 1999. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics,* 30, 539-563.

Emberlin, J., Adams-Groom, B., Tidmarsh, J., 1999. A report on the dispersal of maize pollen. University college of Worcester commissioned by the Soil Association, 22 p. http://www.soilassociation.org/web/sa/saweb.nsf/librarytitles/Briefing_Sheets02031999

Eurobarometer, 2006. Europeans and biotechnology in 2005: Patterns and trends. Eurobarometer 64.3, 85 p.

Eurostats, 2005. Agricultural statistics - Quaterly bulletin - Agriculture and Fisheries. 4 - November 2005, 77 p.

Fargue-Lelièvre, A., Coléno, F.C., Auguste, C., 2009. Analysing the repartition and coexistence means used in maize in France in 2007. Fourth international conference on coexistence between genetically modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains, Melbourne, 10-12 November 2009, 2 p.

Fonseca, A.E., Westgate, M.E., 2005. Relationship between desiccation and viability of maize pollen. *Field Crops Research,* 94, 114-125.

Fonseca, A.E., Westgate, M.E., Grass, L., Dornbos, D.L., Jr., 2003. Tassel morphology as an indicator of potential pollen production in maize. *Crop Management*, 1-13.

Foudhil, H., Brunet, Y., Caltagirone, J., 2005. A fine-scale k-epsilon model for atmospheric flow over heterogeneous landscapes. *Environmental Fluid Mechanics,* 5, 247-265.

Foueillassar, X., Fabié, A., 2007. Specific coexistence measures for sweet corn. Third international conference on Coexistence between Genetically Modified and non GM based supply chains, Sevilla, 20-21 November 2007, pp. 257-258.

Funk, T., Wenzel, G., Schwarz, G., 2006. Outcrossing frequencies and distribution of transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.) in the nearest neighbourhood. *European Journal of Agronomy,* 24, 26-34.

Gauffreteau, A., 2003. Modélisation de la dispersion de transgènes à l'échelle de paysages agricoles : contribution à la validation du modèle MAPOD et à l'élaboration d'un générateur de paysage aléatoire. Institut National Agronomique Paris-Grignon, Mémoire de fin d'études, 63 p + annexes.

Gay, P., 1983. Le cycle du maïs. *In* : Gallais, A. (Ed.), Physiologie du maïs. INRA, pp. 1-11.

Girardin, P., 1990. De l'ovule au grain de maïs mature. *In :* Physiologie et production du maïs, Pau - France, 13-15 novembre 1990, pp. 187-200.

Girardin, P., Tollenaar, M., Deltour, A., Muldoon, J., 1987. Temporary N starvation in maize (*Zea mays* L.): effects on development, dry matter accumulation and grain yield. *Agronomie.,* 7, 289-296.

Gliddon, C.J., 1999. Gene flow and risk assessment. Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops. Proceedings of a symposium held at Keele, UK on 12-14 April 1999. British Crop Protection Council, Farnham UK, pp. 49-56.

GNIS, 2003. Règlements techniques de la production, du contrôle et de la certification des semences. Tome 1 : Semences de grandes cultures certifiées, commerciales, mélanges. pp 83-104.

Goggi, A.S., Caragea, P., Lopez-Sanchez, H., Westgate, M., Arritt, R., Clark, C., 2006. Statistical analysis of outcrossing between adjacent maize grain production fields. *Field Crops Research,* 99, 147-157.

Goggi, A.S., Lopez-Sanchez, H., Caragea, P., Westgate, M., Arritt, R., Clark, C.A., 2007. Gene flow in maize fields with different local pollen densities. *International Journal of Biometeorology,* 51, 493-503.

Gomez-Barbero, M., Berbel, J., Rodriguez-Cerezo, E., 2008. Bt corn in Spain - the performance of the EU's first GM crop. *Nature Biotechnology,* 26, 384-386.

Guérineau, L., 2007. Dynamique de floraison et d'émission du pollen chez le maïs. Analyse statistique et modélisation sur différentes variétés. Ecole Nationale de la Statistique et de l'Analyse de l'Information, 21p + annexes.

Gustafson, D.I., Brants, I.O., Horak, M.J., Remund, K.M., Rosenbaum, E.W., Soteres, J.K., 2006. Empirical modeling of genetically modified maize grain production practices to achieve European Union labeling thresholds. *Crop Science,* 46, 2133-2140.

Hall, A.J., Lemcoff, J.H., Trapani, N., 1981. Water stress before and during flowering in maize and its effects on yield, its components, and their determinants. *Maydica,* XXVI, 19-38.

Halsey, M.E., Remund, K.M., Davis, C.A., Qualls, M., Eppard, P.J., Berberich, S.A., 2005. Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance. *Crop Science,* 45, 2172-2185.

Hannachi, M., Coléno, F.C., Assens, C., 2009. Collective strategies and coordination for the management of coexistence: the case studies of Alsace and western South of France. Fourth international conference on coexistence between genetically modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains, Melbourne, 10-12 November 2009, 2 p.

Haut Conseil des Biotechnologies, 2011. Avis en réponse à la saisine 100506-projet saisine HCB-coexistence sur la définition des conditions techniques relatives à la mise en culture, la récolte, le stockage et le transport des végétaux génétiquement modifiés. Comité scientifique, 46 p.

Heinemann, J.A., Sparrow, A.D., Traavik, T., 2004. Is confidence in the monitoring of GE foods justified? *Trends in Biotechnology,* 22, 331-336.

Herrero, M.P., Johnson, R.R., 1980. High temperature stress and pollen viability of maize. *Crop Science,* 20, 796-800.

Herrero, M.P., Johnson, R.R., 1981. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop Science,* 21, 105-110.

Holst-Jensen, A., De Loose, M., Van den Eede, G., 2006. Coherence between legal requirements and approaches for detection of genetically modified organisms (GMOs) and their derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 54, 2799-2809.

Hsu, S.Y., Peterson, P.A., 1991. The upper and lower florets of spikelets in maize. *Journal of Genetics and Breeding,* 45, 215-222.

Hüsken, A., Ammann, K., Messeguer, J., Papa, R., Robson, P., Schiemann, J., Squire, G., Stamp, P., Sweet, J., Wilhelm, R., 2007. A major European synthesis of data on pollen and seed mediated gene flow in maize in the SIGMEA project. Third International Conference on coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains, Seville, Spain, 20-21 November 2007, pp 53-56.

Hüsken, A., Prescher, S., Schiemann, J., 2010. Evaluating biological containment strategies for pollen-mediated gene flow. *Environmental Biosafety Research,* 9, 67-73.

Ibrahim, S.H., Selim, H.A., 1972. Honeybee activity in gathering pollen from corn plants *Zea mays*. *Agricultural Research Review (Cairo)*, 107-113.

Ingram, J., 2000. The separation distances required to ensure cross-pollination is below specified limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape. *Plant Varieties & Seeds,* 13, 181-199.

Ireland, D.S., Wilson, D.O., Jr., Westgate, M.E., Burris, J.S., Lauer, M.J., 2006. Managing reproductive isolation in hybrid seed corn production. *Crop Science,* 46, 1445-1455.

Jager, H.I., King, A.W., Schumaker, N.H., Ashwood, T.L., Jackson, B.L., 2005. Spatial uncertainty analysis of population models. *Ecological Modelling,* 185, 13-27.

James, C., 2006. Preview: Global Status of Commercialized Biotech/GM crops: 2005. ISAAA briefs n°34, 12 p.

James, C., 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011. ISAAA briefs n°43. http://www.isaaa.org/

Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., Foueillassar, X., Huber, L., 2005. Variations in maize pollen emission and deposition in relation to microclimate. *Environmental science and technology,* 39, 4377-4384.

Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., McCartney, A., Foueillassar, X., Huber, L., 2003. Field measurements of airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Agricultural and Forest Meteorology,* 119, 37-51.

Jarosz, N., Loubet, B., Huber, L., 2004. Modelling airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Atmospheric Environment,* 38, 5555-5566.

Jemison, J.M., Vayda, M.E., 2001. Cross pollination from genetically engineered corn: wind transport and seed source. *AgbioForum,* 4, 87-92.

Jones, C.A., Kiniry, J.R., 1986. CERES-Maize: a Simulation Model of Maize Growth and Development. Texas A & M Univ. Press, College Station, Templ, TX, 194 pp.

Jones, J.M., Brooks, J.S., 1950. Effectiveness and distance of border rows in preventing outcrossing in corn. *Oklahoma Agric. Exp. Sta. Tech. Bull.* T-38, 1–18.

Kiniry, J.R., Jones, C.A., 1986. Model Evaluation. *In*: Jones, C.A., Kiniry, J.R. (Eds.), CERES-Maize: a Simulation Model of Maize Growth and Development. Texas A & M Univ. Press, College Station, Templ, TX, pp. 113-144.

Klein, E., Lavigne, C., Foueillassar, X., Larédo, C., H, G.P., 2002. Effet d'une discontinuité du couvert végétal sur la dispersion du pollen de maïs. Séminaire de restitution de l'AIP "OGM et environnement", Paris, 30 avril 2002, pp 31-34, http://www.symposcience.org

Klein, E., Lavigne, C., Gouyon, P.-H., 2006a. Mixing of propagules from discrete sources at long distance: comparing a dispersal tail to an exponential. *BMC Ecology,* 6, 3. doi:10.1186/1472-6785-6-3

Klein, E.K., 2000. Estimation de la fonction de dispersion du pollen. Application à la dissémination de transgènes dans l'environnement. Université Paris XI – Orsay, Thèse de doctorat, 80 p + annexes.

Klein, E.K., Lavigne, C., Foueillassar, X., Gouyon, P.H., Laredo, C., 2003. Corn pollen dispersal: Quasi mechanistic models and field experiments. *Ecological Monographs,* 73, 131-150.

Klein, E.K., Lavigne, C., Picault, H., Michel, R., Gouyon, P.H., 2006b. Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology,* 43, 141-151.

Langhof, M., Hommel, B., Hüsken, A., Njontie, C., Schiemann, J., Wehling, P., Wilhelm, R., Rühl, G., 2010. Coexistence in maize: isolation distance in dependence on conventional maize field depth and separate edge harvest. *Crop Science,* 50, 1496-1508.

Langhof, M., Hommel, B., Hüsken, A., Schiemann, J., Wehling, P., Wilhelm, R., Rühl, G., 2008. Coexistence in maize: do non-maize buffer zones reduce gene flow between maize fields? *Crop Science,* 48, 305-316.

Lavigne, C., Angevin, F., Adamczyk, K., Benoit, M., Colbach, N., Klein E.K., Le Bail, M., Le Ber, F., Mari, J.F., Messéan, A., Meynard, J.M., Mignolet, C., Monod, H., Sausse, C., 2006. Modélisation de la dispersion de transgènes à l'échelle de paysages agricoles. Rapport final du projet "impact des OGM" du Ministère de la recherche, 13 p.

Lavigne, C., Devaux, C., Deville, A., Garnier, A., Klein, E.K., Lecomte, J., Pivard, S., Gouyon, P.H., 2004. Potentials and limits of modelling to predict the impact of transgenic crop in wild species. *In*: de Nijs, H.C.M., Bartsch, D., Sweet, J. (Eds.), Introgression from genetically modified plants into wild relatives. CABI publishing, pp. 351-364.

Lavigne, C., Klein, E.K., Mari, J.M., Le Ber, F., Adamczyk, K., Monod, H., Angevin, F., 2008. How do genetically modified (GM) crops contribute to background levels of GM pollen in an agricultural landscape? *Journal of Applied Ecology,* 45, 1104-1113.

Lavigne, C., Klein, E.K., Vallee, P., Pierre, J., Godelle, B., Renard, M., 1998. A pollen-dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theoretical and Applied Genetics,* 96, 886-896.

Le Bail, M., Lécroart, B., Gauffreteau, A., Angevin, F., Messéan, A., 2010. Effect of the structural variables of landscapes on the risks of spatial dissemination between GM and non-GM maize. *European Journal of Agronomy,* 33, 12-23.

Le Bail, M., Meynard, J.M., Angevin, F., 2001. Proposition de stratégies de ségrégation au champ et en entreprise de collecte-stockage. Rapport du groupe 3 du programme de recherche "Pertinence économique et faisabilité d'une filière 'sans utilisation d'OGM' ". INRA – FNSEA, pp. 5-21.

Le Bail, M., Valceschini, E., 2004. Efficacité et organisation de la séparation OGM/non-OGM. *Economies et sociétés,* 38, 489-505.

Le Ber, F., Lavigne, C., Adamczyk, K., Angevin, F., Colbach, N., Mari, J.F., Monod, H., 2009. Neutral modelling of agricultural landscapes by tessellation methods – Application for gene flow simulation. *Ecological Modelling,* 220, 3536-3545.

Le Ny, F., Angevin, F., Coléno, F., Lecomte, J., Messéan, A., 2011. Rapport d'expertise au conseil scientifique du Haut Conseil des Biotechnologies sur la coexistence des filières OGM/non-OGM. 132 p.

Lerner, R., Dana, M., 2001. Growing sweet corn. Purdue university extension services, 3 p. http://www.hort.purdue.edu/ext/HO-98.pdf

Lipsius, K., Wilhelm, R., Richter, O., Schmalstieg, K.J., Schiemann, J., 2006. Meteorological input data requirements to predict cross-pollination of GMO Maize with Lagrangian approaches. *Environmental Biosafety Research,* 5, 151-168.

Lizaso, J.I., Fonseca, A.E., Westgate, M.E., 2007. Simulating source-limited and sink-limited kernel set with CERES-maize. *Crop Science,* 47, 2078-2088.

Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Batchelor, W.D., Fonseca, A., 2003. Predicting Potential Kernel Set in Maize from Simple Flowering Characteristics. *Crop Science,* 43, 892-903.

Lô-Pelzer, E., Bousset, L., Jeuffroy, M.H., Salam, M.U., Pinochet, X., Boillot, M., Aubertot, J.N., 2010. SIPPOM-WOSR: a simulator for Integrated Pathogen POpulation Management of phoma stem canker on Winter OilSeed Rape: I. Description of the model. *Field Crops Research,* 118, 73-81.

Lonnquist, J.H., Jugenheimer, R.W., 1943. Factors affecting the success of pollination in corn. *Journal of American Society of Agronomy,* 35, 923-933.

Loos, C., Seppelt, R., Meier-Bethke, S., Schiemann, J., Richter, O., 2003. Spatially explicit modelling of transgenic maize pollen dispersal and cross-pollination. *Journal of Theoretical Biology,* 225, 241-255.

Luna, V., S., Figueroa M, J., Baltazar M, B., Gomez L, R., Townsend, R., Schoper, J.B., 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Science,* 41, 1551-1557.

Macarthur, R., Feinberg, M., Bertheau, Y., 2010. Construction of Measurement Uncertainty Profiles for Quantitative Analysis of Genetically Modified Organisms Based on Interlaboratory Validation Data. *Journal of AOAC International,* 93, 1046-1056.

Makowski, D., Monod, H., 2011. Analyse statistique des risques agro-environnementaux. Étude de cas. Springer, Paris, 162 p.

Marceau, A., Loubet, B., Andrieu, B., Durand, B., Foueillassar, X., Huber, L., 2011. Modelling diurnal and seasonal patterns of maize pollen emission in relation to meteorological factors. *Agricultural and Forest Meteorology,* 151, 11-21.

Mason, C.E., Tracewski, K.T., 1982. Diurnal foraging activity for corn pollen by honey bees. *Environmental Entomology* 187-188.

McCartney, H.A., Fitt, B.D.L., 1985. Construction of dispersal models. *In*: Gilligan, C.A. (Ed.), Mathematical modelling of crop disease. Academic press, London pp. 107-143.

Messéan, A., Angevin, F., 2007. Coexistence measures for maize cultivation: lessons from gene flow and modelling studies. Third International Conference on coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains, Sevilla, Spain, 20-21 November, 2007, pp. 23-26.

Messéan, A., Angevin, F., Champolivier, J., Colbach, N., 2005. Impact of GMOs within cropping systems: towards a more systemic approach. *Aspects of Applied Biology*, 191-196.

Messéan, A., Angevin, F., Gómez-Barbero, M., Menrad, K., Rodríguez-Cerezo, E., 2006. New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture. Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission, 112p. http://www.jrc.es/home/pages/eur22102enfinal.pdf

Messéan, A., Squire, G., Perry, J., Angevin, F., Gomez, M., Townend, P., Sausse, C., Breckling, B., Langrell, S., Dzeroski, S., Sweet, J., 2009. Sustainable introduction of CM crops into european agriculture: a summary report of the FP6 SIGMEA research project. *OCL - Oléagineux Corps Gras Lipides,* 16, 37-51.

Messeguer, J., Penas, G., Ballester, J., Bas, M., Serra, J., Salvia, J., Palaudelmas, M., Mele, E., 2006. Pollen-mediated gene flow in maize in real situations of coexistence. *Plant Biotechnology Journal,* 4, 633-645.

Meynard, J.M., Le Bail, M., 2001. Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ. Rapport du groupe 3, 'Pertinence économique et faisabilité d'une filière 'sans utilisation d'OGM', INRA-FNSEA, 56 p.

Meynard, J.M., Le Bail, M., Angevin, F., 2001. Proposition de stratégies de ségrégation au champ et en entreprise de collecte-stockage. *In* : Meynard, J.M., Le Bail, M. (Eds.), 'Pertinence économique et faisabilité d'une filière 'sans utilisation d'OGM' INRA-FNSEA, pp. 5-20.

Middelhoff, U., Reuter, H., Breckling, B., 2011. GeneTraMP, a spatio-temporal model of the dispersal and persistence of transgenes in feral, volunteer and crop plants of oilseed rape and related species. *Ecological Indicators,* 11, 974-988.

Njontie, C., Foueillassar, X., Christov, N.K., Hüsken, A., 2011. The impact of GM seed admixture on the non-GM harvest product in maize (*Zea mays* L.) *Euphytica,* 180, 163-172.

Palaudelmas, M., Melé, E., Monfort, J., Serra, J., Salvia, J., Messeguer, J., 2012. Assessment of the influence of field size on maize gene flow using SSR analysis. *Transgenic Research,* 21, 471-483.

Palaudelmas, M., Mele, E., Penas, G., Pla, M., Nadal, A., Serra, J., Salvia, J., Messeguer, J., 2008. Sowing and flowering delays can be an efficient strategy to improve coexistence of genetically modified and conventional maize. *Crop Science,* 48, 2404-2413.

Palaudelmas, M., Penas, G., Mele, E., Serra, J., Salvia, J., Pla, M., Nadal, A., Messeguer, J., 2009. Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Research,* 18, 583-594.

Papaïx, J., Goyeau, H., Du Cheyron, P., Monod, H., Lannou, C., 2011. Influence of cultivated landscape composition on variety resistance: an assessment based on wheat leaf rust epidemics. *New Phytologist,* 191, 1095-1107.

Paul, L., 2009. Effect of current commodity thresholds used by stakeholders on seed production and crop management. Coextra project, Deliverable D7.30, 58 p.

Paul, L., Angevin, F., Collonnier, C., Messéan, A., 2012. Impact of gene stacking on gene flow – the case of maize. *Transgenic research,* 21, 243-256.

Pierre, J., Vaissière, B., Vallée, P., Renard, M., 2002. Mise en suspension du pollen par les abeilles et incidence ce pollen sur la fécondation. Séminaire de restitution de l'AIP "OGM et environnement" (1998-2001), Paris, pp.11-13, http://www.symposcience.org

Pivard, S., Adamczyk, K., Lecomte, J., Lavigne, C., Bouvier, A., Deville, A., Gouyon, P.H., Huet, S., 2008. Where do the feral oilseed rape populations come from? A large-scale study of their possible origin in a farmland area. *Journal of Applied Ecology,* 45, 476-485.

Pla, M., Paz, J.L.l., Penas, G., Garcia, N., Palaudelmas, M., Esteve, T., Messeguer, J., Mele, E., 2006. Assessment of real-time PCR based methods for quantification of pollen-mediated gene flow from GM to conventional maize in a field study. *Transgenic Research,* 15, 219-228.

Purseglove, J.W., 1972. Tropical Crops, Monocotyledons. Longman Group Ltd, London, 334p.

R Development Core Team, 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. http://www.R-project.org/.

Raveneau, A., 2005. Stratégies de séparation des filières OGM et non-OGM en amont de la chaîne logistique d'approvisionnement. ENESAD, Mémoire de fin d'études, 50 p.

Raynor, G.S., Ogden, E.C., Hayes, J.V., 1972. Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agronomy Journal,* 64, 420-427.

République Française, 2008. Loi n°2008-595 du 25 juin 2008 relative aux organismes génétiquement modifiés Journal Officiel de la République Française 2008-595, 11 p.

République Française, 2012a. Arrêté du 16 mars 2012 suspendant la mise en culture des variétés de semences de maïs génétiquement modifié (*Zea mays* L. lignée MON 810). Journal Officiel de la République Française 13/64, 2 p.

République Française, 2012b. Décret n°2012-128 du 30 janvier 2012 relatif à l'étiquetage des denrées alimentaires issues de filières qualifiées "sans organismes génétiquement modifiés". Journal Officiel de la République Française 2012-128, 4 p.

Ricci, B., Angevin, F., Coléno, F., Fargue-Lelièvre, A., Messéan, A., 2011. Modélisation multicritère de l'allocation des cultures GM et non-GM à l'échelle du territoire. Colloque Payote, Rennes, 18 - 19 octobre 2011.

Ricci, B., Monod, H., Guérin, D., Messéan, A., Maton, C., Balique, B., Angevin, F., 2012. Predicting maize pollen production using tassel morphological characteristics. *Field Crops Research,* 136, 107-115.

Richter, O., Seppelt, R., 2004. Flow of genetic information through agricultural ecosystems: a generic modelling framework with application to pesticide-resistance weeds and genetically modified crops. *Ecological Modelling,* 174, 55-66.

Rieger, M.A., Lamond, M., Preston, C., Powles, S.B., Roush, R.T., 2002. Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science,* 296, 2386-2388.

Riesgo, L., Areal, F.J., Sanvido, O., Rodriguez-Cerezo, E., *2010*. Statistical analysis of distances needed to limit cross-fertilization between genetically modified and conventional maize in Europe. *Nature biotechnology,* 28, 780-782.

Robson, P.R.H., Kelly, R., Jensen, E.F., Giddings, G.D., Leitch, M., Davey, C., Gay, A.P., Jenkins, G., Thomas, H., Donnison, I.S., 2011. A flexible quantitative methodology for the analysis of gene-flow between conventionally bred maize populations using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics,* 122, 819-829.

Romary, T., 2005. Impact de la structure d'un paysage sur les flux de gènes entre parcelles, approche par des méthodes de sensibilité de modèle. Université de Rennes I, Mémoire de master II, 78 p.

Rühl, G., Hommel, B., Hüsken, A., Mastel, K., Schiemann, J., Wehling, P., Langhof, M., 2011. Coexistence in maize: effect on pollen-mediated gene flow by conventional maize border rows edging genetically modified maize fields. *Crop Science,* 51, 1748-1756.

Rühl, G., Langhof, M., 2011. Coexistence in maize: effect of the genetically modified maize field depth on pollen-mediated gene flow. *Crop Science,* 51, 2186-2193.

Sanvido, O., Widmer, F., Winzeler, M., Streit, B., Szerencsits, E., Bigler, F., 2008. Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. *Transgenic Research,* 17, 317-335.

Schoper, J.B., Lambert, R.J., Vasilas, B.L., 1986. Maize pollen viability and ear receptivity under water and high temperature stress. *Crop Science,* 26, 1029-1033.

Sester, M., 2004. Modélisation de l'effet de systèmes de culture sur les flux de gènes entre culture transgénique et adventice apparentée. Cas de la betterave sucrière (*Beta vulgaris* L.). Université de Bourgogne, Doctorat, 153 p.

Sester, M., Tricault, Y., Darmency, H., Colbach, N., 2008. GeneSys-Beet: a model of the effects of cropping systems on gene flow between sugar beet and weed beet. *Field Crops Research,* 107, 245-256.

Sing, T., Sander, O., Beerenwinkel, N., Lengauer, T., 2009. ROCR: Visualizing the performance of scoring classifiers. http://CRAN.R-project.org/package=ROCR

Stapper, M., Arkin, G.F., 1979. Simulating maize dry matter accumulation and yield components. *Paper - American Society of Agricultural Engineers,* 79-4513, 37.

Struik, P.C., Makonnen, T., 1992. Effects of Timing, Intensity and Duration of Pollination on Kernel Set and Yield in Maize (*Zea mays* L) under Temperature Conditions. *Netherlands Journal of Agricultural Science,* 40, 409-429.

Taverniers, I., Papazova, N., Bertheau, Y., Loose, M.d., Holst-Jensen, A., 2008. Gene stacking in transgenic plants: towards compliance between definitions, terminology, and detection within the EU regulatory framework. *Environmental Biosafety Research,* 7, 197-218.

Trapmann, S., Corbisier, P., Schimmel, H., Emons, H., 2010. Towards future reference systems for GM analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* 396, 1969-1975.

Treu, R., Emberlin, J., 2000. Pollen dispersal in the crops Maize (*Zea mays*), Oilseed rape (*Brassica napus ssp oleifera*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugar beet (*Beta vulgaris ssp vulgaris*) and wheat (*Triticum aestivum*), Evidence from publications, A report for the Soil Association from the National Pollen research unit. College, W.U., 54 p.

Trifa, Y., Zhang, D., 2004. DNA content in embryo and endosperm of maize kernel (*Zea mays* L.): impact on GMO quantification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 52, 1044-1048.

Tufto, J., Engen, S., Hindar, K., 1997. Stochastic dispersal processes in plant populations. *Theoretical Population Biology,* 52, 16-26.

Uribelarrea, M., Carcova, J., Otegui, M.E., Westgate, M.E., 2002. Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Science,* 42, 1910-1918.

Van de Wiel, C.C.M., Groeneveld, R.M.W., Dolstra, O., Kok, E.J., Scholtens, I.M.J., Thissen, J., Smulders, M.J.M., Lotz, L.A.P., 2009. Pollen-mediated gene flow in maize tested for coexistence of GM and non-GM crops in the Netherlands: effect of isolation distances between fields. *Njas-Wageningen Journal of Life Sciences,* 56, 405-423.

Viaud, V., Monod, H., Lavigne, C., Angevin, F., Adamczyk, K., 2008. Spatial sensitivity of maize gene-flow from genetically modified to conventional varieties to landscape pattern: a simulation approach. *Landscape Ecology,* 23, 1067-1079.

Wallach, D., Makowski, D., Jones, J., 2006. Working with dynamic crop models: evaluation, analysis, parameterization, and applications. Elsevier Science Ltd, 447 p.

Weber, W.E., Bringezu, T., Broer, I., Eder, J., Holz, F., 2007. Coexistence between GM and non-GM maize crops - tested in 2004 at the field scale level (*Erprobungsanbau* 2004). *Journal of Agronomy and Crop Science,* 193, 79-92.

Weekes, R., Allnutt, T., Boffey, C., Morgan, S., Bilton, M., Daniels, R., Henry, C., 2007. A study of crop-to-crop gene flow using farm scale sites of fodder maize (*Zea mays* L.) in the UK. *Transgenic Research,* 16, 203-211.

Weekes, R., Deppe, C., Allnutt, T., Boffey, C., Morgan, D., Morgan, S., Bilton, M., Daniels, R., Henry, C., 2005. Crop-to-crop gene flow using farm scale sites of oilseed rape (*Brassica napus*) in the UK. *Transgenic Research,* 14, 749-759.

Westgate, M.E., Lizaso, J., Batchelor, W., 2003. Quantitative Relationships between Pollen Shed Density and Grain Yield in Maize. *Crop Science,* 43, 934-942.

Xue, M., Droegemeier, K.K., Wong, V., 2000. The Advanced Regional Prediction System (ARPS) - A multi-scale nonhydrostatic atmospheric simulation and prediction model. Part I: Model dynamics and verification., *Meteorology and Atmospheric Physics,* 75, 161-193.

Yamamura, K., 2004. Dispersal distance of corn pollen under fluctuating diffusion coefficient. *Population Ecology,* 46, 87-101.

Zhang, D., Corlet, A., Fouilloux, S., 2008. Impact of genetic structures on haploid genome-based quantification of genetically modified DNA: theoretical considerations, experimental data in MON 810 maize kernels (*Zea mays* L.) and some practical applications. *Transgenic Research,* 17, 393-402.

Liste des annexes

Annexe 1 : Impact of gene stacking on gene flow – the case of maize
Paul L., Angevin F., Collonnier C., Messéan A.
Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Annexe 2 : Détails des jeux de données du GEVES utilisés pour la validation du module de floraison de MAPOD®

Annexe 3 : Description des données des essais de l'IRTA et des mesures utilisées pour l'évaluation de MAPOD

Annexe 4 : Résultats de l'évaluation de MAPOD® grâce aux données collectées sur la zone de Foixà (Catalogne)

Annexe 5 : Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture
Bock, A.-K., Lheureux, K., Libeau-Dulos, M., Nilsagard, H., Rodriguez-Cerezo, E., 2002.
http://www.jrc.es/projects/co_existence/Docs/coexreportipts.pdf
Résumé exécutif

Annexe 6 : New case studies on the co-existence of GM and non-GM crops in European agriculture
Messéan, A., Angevin, F., Gómez-Barbero, M., Menrad, K., Rodríguez-Cerezo, E., 2006.
http://www.jrc.es/home/pages/eur22102enfinal.pdf
Résumé exécutif

Annexe 7 : Tables d'aide à la décision pour la production de maïs grain et de maïs semence d'après Messéan* et al. *(2006)

Annexe 8 : SMAC advisor: a decision-support tool on maize coexistence.
Bohanec M., Messéan A., Angevin, F., Žnidaršič M.
Third International Conference on coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based agricultural supply chains, 2007, Seville, Spain, 20-21 November, 2007, 119-122

Annexe 9 : A model to evaluate the consequences of GM and non-GM segregation scenarios on GM crop placement in the landscape and cross-pollination risk management.
Coléno F. C., Angevin F., Lécroart B.
Agricultural Systems, 2009, 101 (1/2), 49-56, DOI: 10.1016/j.agsy.2009.03.002
The original publication is available at http://www.journals.elsevier.com/agricultural-systems/

Annexe 10 : Spatial sensitivity of maize gene-flow to landscape pattern: a simulation approach
Viaud V., Monod H., Lavigne C., Angevin F., Adamczyk K.
Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

Annexe 11 : How do genetically modified (GM) crops contribute to background levels of GM pollen in an agricultural landscape?
Lavigne C., Klein E. K., Mari J. F., Ber F. le, Adamczyk K., Monod H., Angevin F.
Journal of Applied Ecology, 2008, 45 (4), 1104-1113, DOI: 10.1111/j.1365-2664.2008.01504.x
The definitive version is available at www3.interscience.wiley.com

Annexe 1

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Impact of gene stacking on gene flow – the case of maize

Lénaïc PAUL [1], Frédérique ANGEVIN [1*], Cécile COLLONNIER [2, 3], Antoine MESSEAN [1]

[1] *INRA, UAR 1240 Eco-Innov, Avenue Lucien Brétignières, F-78850 Thiverval-Grignon*

[2] *GEVES, SEV La Minière, F-78285 Guyancourt cedex*

[3] *Present address: INRA, UR1318, Route de Saint Cyr, F-78026 Versailles cedex*

* Corresponding author

Tel: +33-(0)1 30 81 53 63

Fax: +33-(0)1 30 81 52 07

E-mail: Frederique.Angevin@jouy.inra.fr

Abstract

To respect the European labelling threshold for the adventitious presence of genetically modified organisms (GMOs) in food and feed, stakeholders mainly rely on real time Polymerase Chain Reaction (PCR) analysis, which provides a measurement expressed as a percentage of GM-DNA. However, this veils the complexity of gene flow, especially in the case of gene stacking.

This study investigates the impact of gene stacking on adventitious GM presence due to pollen flow and seed admixture as well as its translation in terms of the percentage of GM-DNA in a non-GM maize harvest. In the case of varieties bearing one to four stacked events, we established a set of relationships between the percentage of GM kernels and the percentage of GM-DNA in a non-GM harvest as well as a set of relationships between the rate of seed admixture and the percentages of GM material in a non-GM harvest.

Thanks to these relationships, and based on simulations with a gene flow model, we show that the number of events and the stacking structure of the emitting fields impact the ability of a non-GM maize producer to comply with given GM kernel or GM-DNA thresholds. We also show that a great variability in the rates of GM kernels, embryos, and DNA results from seed admixture. Finally, the choice of a unit of measurement for a GM threshold in seed lots can have opposite effects on the ability of farmers to comply with a given threshold depending on whether they are crop or seed producers.

Keywords: gene stacking, seed admixture, gene flow, coexistence, GMO, maize

Introduction

The number of genetically modified crops (GM crops) bearing more than one trait (stacked traits) has increased over the past few years and is expected to keep on doing so as biotech agricultural companies concentrate their efforts on developing multiple resistant crops to meet the needs of consumers and producers (Taverniers et al. 2008). Maize varieties bearing up to five effect genes have already received authorization for at least commercial import and processing for use in feed and food in the USA, the European Union (EU), the Philippines, Japan, Korea, Mexico, and South Africa.

According to Halpin (2005), there are four different ways of introducing several effect genes into a plant. A first method is co-transformation, which involves the simultaneous introduction several effect genes into one plant either via *Agrobacterium*-mediated transformation or via biolistic methods. The vector can be a single plasmid construct carrying several genes of interest, in which case the transgenes tend to integrate at the same locus and are thus linked (like Bt11 maize hybrid (Syngenta seeds), lepidopteran pest resistant, and herbicide tolerant). The second method is also a co-transformation one when it is based on using several plasmid constructs (or several DNA fragments), each of them carrying one gene

of interest, in which case the transgenes are more likely to integrate at different loci (like MON801 maize hybrid (Monsanto co), lepidopteran pest resistant, and herbicide tolerant). Thirdly, a plant containing several effect genes can be obtained by what is called re-transformation, which involves introducing additional transgenes into a plant already containing one. Finally, a variety bearing several effect genes can be obtained by conventional breeding between several transgenic lines (like MON810 x GA21 maize hybrid (Monsanto co), lepidopteran pest resistant and herbicide tolerant). Through both of these latter methods, transgenes integrate at different loci (Halpin 2005).

European Commission regulations 1829/2003 and 1830/2003 (EC 2003 a & b), stipulate that GM food and feed have to be traced and labelled above a threshold of 0.9% of adventitious presence of authorized GMOs. Stakeholders mainly rely on real-time polymerase chain reaction (PCR) to estimate the content of GM material. This method targets transgenic DNA marker sequences and measures their copy number relative to the number of copies of species-specific endogenous DNA marker sequences. Real-time PCR analysis fulfils the Commission recommendation 2004/787 (EC 2004) which states that the rate of adventitious presence should be expressed as "the percentage of GM-DNA copy numbers in relation to target taxon specific DNA copy numbers calculated in terms of haploid genome".

In 2006, the ENGL (European Network of GMO Laboratories) released an explanatory document investigating the effect of gene stacking on the use of the percentage of GM-DNA as a general unit to express the percentage of GMOs. This document established the percentages of GM-DNA at the scale of one kernel according to the number of GM events and their parental origin (ENGL 2006). In 2008, Zhang et al. investigated the effect of gene stacking on the quantification of GM-DNA at the scale of a bulk of kernels, considering exclusively homozygous inbred lines as transgenic parents (Zhang et al. 2008).

At the field level, the adventitious presence of GMOs in non-GM maize harvests is mainly due to intra-specific cross-pollination in crop and seed production fields (Online resource, Fig. S1), the second source of adventitious GM presence being seed admixture (Angevin et al. 2008).
The European Union established the principle of coexistence, which refers to "*the ability of farmers to make a practical choice between conventional, organic and GM-crop production, in compliance with the legal obligations for labelling and/or purity standards*" and laid down guidelines defining the context of this coexistence (EC 2003c). Numerous studies have been carried out in order to assess the feasibility of coexistence and propose coexistence measures in practice (E.g., Messéan et al. 2006; Sanvido et al. 2008). In addition, several Member States adopted coexistence measures to implement coexistence for Bt maize, the only GM crop commercialized so far (EC 2009). Knowing that stacked events are in the pipelines, to what extent would this framework be suitable for them?

Previous studies do not take into account the range of situations in which gene stacking impacts the quantification of GM-DNA at the scale of a harvest, that is to say, adventitious GM presence due to seed admixture and pollen emission by GM hybrid varieties (hemizygous for the GM events), for which the proportions of transgenic pollen grains depend on the stacking structure (number of chromosomes involved, their nature relative to each other) and on the occurrence of crossovers. Therefore, another question arises: How does the genetic structure of GM varieties affect the gene flow between GM and non-GM production and, consequently, make it easier or harder to comply with labelling rules?

The MAPOD[63]® model, a spatially-explicit maize pollen-flow model, estimates the rates of cross-pollination between GM and non-GM fields (Angevin et al. 2008). It helps in testing the efficiency of coexistence measures as it takes into account the landscape pattern (isolation distances between fields) and cropping systems (For example, type of varieties and sowing dates). The model was fitted to data from field experiments of corn using a phenotypic marker for pollen dispersal (Klein et al. 2003), therefore, its current version accounts for a single GM event (one locus, on one chromosome). In addition, MAPOD® model outputs derive from the calculation of the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM-field and are thus expressed in terms of GM kernel percentage and not in terms of GM-DNA percentage. Two other existing maize gene flow models, Loos_GPM and Loos_LNF (Loos et al. 2003), provide ratios between the amount of pollen received by a non-GM plant from a GM plot and the total amount of pollen received from all GM and non-GM plots; the outputs are also expressed in terms of GM kernel percentage.

We have considered a case of coexistence simulated using the MAPOD® model (Messéan et al., 2006). A 5-hectare non-GM plot is located 100 meters away from and downwind of a 15-hectare GM plot. The proportion of transgenic pollen grains emitted by the GM field for a homozygous and for a hemizygous single-event GM variety: 100% of the pollen grains emitted by the homozygous variety are transgenic whereas only 50% of the pollen grains emitted by the hemizygous variety bear the transgene. The MAPOD®-calculated percentage of non-GM flowers pollinated by a pollen grain emitted by the GM field under the conditions described above is 0.58% and does not depend on the emitting GM variety. The MAPOD® model calculates the resulting percentage of GM kernels in the non-GM harvest under the hypothesis that a viable silk pollinated by a viable pollen grain does not abort or that the proportion of abortion is always the same whatever the genetic characteristics. The percentage of GM kernels reaches 0.58% when the emitting variety is homozygous and 0.29% when the emitting variety is hemizygous.

We take into consideration the same MAPOD® simulation with two-event emitting GM varieties: homozygous and hemizygous. For a homozygous emitting GM variety, the percentage of GM kernels in the non-GM harvest is similar to what was obtained for a single-event homozygous variety. For a hemizygous two-event emitting GM variety (E.g., Mon810 x NK603), the proportion of transgenic pollen grains depends on the stacking structure (the number of chromosomes involved and their nature relative to each other) and on the occurrence of crossovers. In this case, the percentage of non-GM flowers pollinated by a pollen grain emitted by the GM field remains the same; however the percentage of GM kernels in the non-GM harvest cannot be *a priori* estimated.

The aims of this study are to investigate the impact of gene stacking on adventitious GM presence due to pollen flow and seed admixture as well as provide a set of relationships that translate rates of adventitious GM presence from diverse measurement units (percentage of non-GM flowers pollinated by a pollen grain from a GM field, percentage of GM kernels) into percentages of GM-DNA, as recommended by the European Commission. In addition, the MAPOD® model is extended to account for stacked events while complying with the measurement unit recommended by the European Commission.

In the Material and Methods section, we examine the possible pathways for obtaining stacked transgenic F1 hybrid varieties and we review the currently available means to deal with

[63] MAPOD: Matricial Approach to Pollen Dispersal

recombination frequencies to, in turn, establish the proportions of GM pollen grains emitted by a field sown with stacked GM crops. On this basis, we present the general framework and methods for establishing:

- The relationships between the proportion of GM pollen grains emitted by a GM field, the percentage of GM kernels and the percentage of GM-DNA;
- The rates of seed impurities in a non-GM harvest due to seed admixture.

In the Results section, we apply these arguments to the concrete case of a variety bearing two to four stacked events. To that end, we describe the possible stacking structures for two to four stacked events taking into account the number of chromosomes involved, their nature relative to each other (homologous or not) and the relative position of the transgenic events on each chromosome. Then, according to the number of events and the stacking structure, we provide the proportions of GM pollen grains and the relationships between the percentage of non-GM flowers receiving GM pollen, the percentage of GM-DNA, and the percentage of GM kernels. Based upon these relationships, we provide an abacus to be used with gene flow models such as MAPOD® to account for stacking while complying with the measurement unit recommended by the European Commission. The objective is also to have the ability to determine appropriate coexistence measures according to the genetic structure. Finally, this section provides a set of relationships enabling an evaluation of the impact of seed admixture on the rate of adventitious GM kernel, GM embryo, and GM-DNA presence in a non-GM harvest in the case of a variety bearing two to four stacked events.

In the Discussion section, we first analyse the impact of gene stacking on adventitious GM presence due to pollen flow. We consider the impact of gene stacking on the rates of adventitious GM kernel and GM-DNA presence under given crop management conditions. We also consider the impact of gene stacking on the translation of rates of adventitious GM-DNA to rates of adventitious GM kernels. We then consider the impact of gene stacking on adventitious GM presence for a given rate of seed admixture. Finally, we discuss the impact of gene stacking and the combination of pollen flow and seed admixture on the rates of adventitious GM presence, on the isolation measures to be implemented in order to comply with given thresholds, and on the choice of a unit of measurement for a seed lot threshold.

Materials and methods

Determination of the possible stacking structures for hemizygous varieties

Because of the lack of detailed public data about the gene stacking structures of existing stacked GM varieties, as well as about the stacking process, and because of the absence of evidence concerning preferential areas of transgene insertion in the maize genome, we examined all the possible genetic structures from two to four stacked events. We determined these structures after investigating the different possible ways of obtaining stacked GM hybrid varieties. We then focused on GM varieties hemizygous for all the stacked events, as is usually the case for commercial hybrids (Charcosset, Pers Comm 2009). Hybrid varieties are obtained by crossing two homozygous lines at the seed production stage. There are two ways of obtaining stacked GM hybrid varieties. They differ according to the stage during which the stacking is carried out (See Online resource, Fig. S2).

Stacking occurs at seed production

Two homozygous GM elite lines are crossed on seed production plots. Resulting hybrid varieties bear all the traits of both elite lines, including the GM ones.

Stacking occurs at the "model variety" stage
Several GM events can be stacked at the "model variety" stage. The model variety is then crossed with an elite line adapted to given farming conditions. Several backcrosses are operated to create a GM variety displaying the GM trait plus all the elite traits. This pathway allows crossovers between transgenic events.

Determination of the proportions of GM pollen grains emitted by a GM field in the case of stacked events

In the case of GM maize varieties which are homozygous for at least one transgenic event, 100% of the kernels in a non-GM harvest having such a male parent would be transgenic. On the contrary, if the stacked GM variety is hemizygous for all the transgenic events, a structure-dependent proportion of kernels in a non-GM harvest having such a male parent is transgenic.
For each hemizygous stacking structure, we have determined, in the case of a GM variety hemizygous for all the events, the proportion of GM pollen grains emitted by a GM field taking into account the segregation of transgenic events in pollen grains, which depends on their redistribution consecutive to homologous and non-homologous meiotic recombination, that is to say on their location relative to each other.
Although non-homologous recombination possibilities are predictable, the mechanisms of homologous recombination are fairly complex. Crossovers and chiasmata are not homogeneously distributed along chromosomes: their distribution depends on both the distance to telomeres and centromeres and gene density, which define "hot" and "cold" regions for crossovers. Besides, crossovers are not independent one from the other because of the interference phenomenon: the occurrence of one crossover inhibits the occurrence of neighbouring ones in a distance-dependent manner (Mézard et al. 2007). Consequently, estimating recombination frequencies between transgenic events would require numerous case-specific studies.

Given that in this study we aim to provide a general understanding of the impacts of gene stacking, we have opted for an interval approach: for two to four stacked events and for each stacking structure, we have established intervals of percentage of transgenic pollen grains for recombination frequencies comprised between 0% (no crossover) and 50% (recombination frequency threshold above which two genes are considered not linked). We have used these intervals to evaluate the level of risk for different stacking structures from two to four stacked events and, as an example, to investigate in given conditions the risk of gene flow according to the stacking structure.
Finally, we have used these intervals to draft part of an abacus to be appended to the current version of gene flow models, such as MAPOD®, for which simulation results are expressed in % of GM seeds in non-GM harvest. This part of the abacus allows the user of the MAPOD® model to estimate, for a given situation, the adventitious presence of GM kernels in a non-GM harvest when the emitting GM fields are sown with a variety bearing two to four stacked events.

GM-DNA content at the scale of one kernel

The percentage of GM-DNA for a single kernel bearing 1 to N transgenic events depends on the number of transgenic events, on the sex of the GM parent (as we are dealing with cross-pollination given the GM and non-GM coexistence framework, we have focused on the case of a GM male parent) and on the DNA content ratio of embryo, endosperm, and seed coat (respectively X, Y and Z), which is variety dependent (Trifa and Zhang 2004; Holst-Jensen et

al. 2006). In the case of maize, embryo cells are diploid and contain one maternal genome copy and one paternal genome copy; endosperm cells are triploid and contain two maternal genome copies and one paternal genome copy; seed coats are diploid and entirely of maternal origin (Holst-Jensen et al. 2006). Thus, if we consider that in the case of a kernel bearing N transgenic events of paternal origin, the percentage of GM-DNA contained in one kernel ($\boldsymbol{A_N}$) is:

$$\boldsymbol{A_N} = N \times \frac{1}{2} \times X + N \times \frac{1}{3} \times Y \qquad (1)$$

From an analytical point of view, this GM-DNA percentage corresponds to the sum of apparent GM Haploid Genome Copies if each transgene is individually detected by PCR, divided by the total number of maize Haploid Genome Copies in the kernel. This explains why the apparent percentage of GM-DNA in one kernel can be more than 100%.

For instance, in the case of a Bt maize bearing one transgenic event (hemizygous for the transgene), assuming that the harvested grain presents the following relative DNA content ratio of tissues (Messéan et al. 2006):

- Embryo = 48% of DNA,
- Endosperm = 49% of DNA,
- Tegument = 3% of DNA,

the apparent percentage of Haploid Genome Copies bearing the transgene in the grain is:

1 * [48%*(1/2)+49%*(1/3)+3%*0] = 40.3%.

In this case, the adventitious GM presence rates expressed as percentage of seeds, as evaluated by the model MAPOD®, should therefore be multiplied by 0.403 to estimate the genetic quantification that would be obtained by PCR methods.

Table 1 shows, in the case of maize, how the apparent percentage of GM Haploid Genome Copies varies according to the variety and the number of stacked transgenic events.

In higher plants, pollen tube guidance and repulsion systems normally ensure that a single pollen tube penetrates each embryo sac. However, in some rare cases, more than one pollen tube enters the ovule, which can lead to either heterofertilization in maize, where the egg and central cell are fertilized by sperm from different pollen tubes, or to polyspermy, as it was reported in sunflower (Spielman and Scott 2008). In this study, we did not take into account the impact of these exceptional situations on the DNA content of the embryo and the endosperm.

Determination of the relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by the GM field and the percentage of GM-DNA

When considering a bulk of kernels, the percentage of GM-DNA in the sample (***DNA%***) depends on the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by the GM field (***P%***), on the embryo/endosperm DNA ratio and on the average number of GM events per pollen grain emitted by a plant bearing ***N*** transgenes ($\boldsymbol{E_N}$).

Thus, in maize, the relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM field and the percentage of GM-DNA for a ***X***%/***Y***% embryo/endosperm DNA ratio, can be expressed by the following formula:

$$DNA\% = P\% \times E_N \times \left(\frac{1}{2} X + \frac{1}{3} Y \right) \quad (2)$$

We have used these relationships to complete the abacus allowing those using the MAPOD® model to take into account stacked events. This complement allows the user to assess the rate of adventitious GM presence in a non-GM harvest in terms of percentage of GM-DNA when the emitting GM variety bears one to four stacked events.

Determination of the relationships between the percentage of GM-DNA, the percentage of GM kernels and the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by the GM field

We have established these relationships for all of the studied stacking structures, proceeding in two steps. Firstly, according to the publications of Trifa and Zhang (2004) and Holst-Jensen et al. (2006), we have established the percentage of GM-DNA for a single kernel bearing one to four events ($\boldsymbol{A_n}$) (Table 1). Secondly, for each stacking structure, we have calculated the proportion of kernels bearing one to $\boldsymbol{N}$ stacked events ($\boldsymbol{S_n}$). These proportions correspond to the proportions of transgenic pollen grains bearing one to $\boldsymbol{N}$ transgenic events emitted by the GM field, and they depend on recombination frequencies during meiosis. The percentage of GM-DNA among the GM kernels is thus obtained as $\sum_{n=1}^{N} A_n \times S_n$.

Finally, the relationship between the percentage of adventitious GM-DNA in a non-GM harvest, and the percentage of adventitious GM kernels (***S%***), for a given emitting stacked variety, is:

$$S\% = DNA\% \times \frac{1}{\sum_{n=1}^{N} A_n \times S_n} \quad (3)$$

Thanks to these relationships and to serve as an example, for all the stacking structures and for a given embryo/endosperm DNA ratio, we have worked out the percentages of GM-DNA for a 1% rate of adventitious GM kernel presence.

By combining the two previous sets of relationships, we have established the relationships between the percentage of adventitious GM kernels and the percentage of GM-flowers receiving pollen emitted by a GM field for all the studied structures:

$$P\% = \frac{S\% \times \sum_{n=1}^{N} A_n \times S_n}{E_n \times \left(\frac{1}{2} X + \frac{1}{3} Y \right)} \quad (4)$$

Determination of the rate of GM impurities in a non-GM harvest due to seed admixture

The admixture of GM seeds in a bulk of non-GM seeds results in the emission of GM pollen inside the non-GM field. GM impurities can self-pollinate, pollinate between each other, pollinate surrounding conventional plants or be pollinated by conventional plants (Online resource, Fig. S1).

For a rate of seed admixture $\boldsymbol{\alpha}$ and a rate of outcrossing $\boldsymbol{\beta}$, the probability for each type of crossing to occur is given in Table 2.

The rate of impurities in the harvest due to seed admixture depends on the proportion of GM pollen grains emitted by a GM plant (***Pr***), which itself depends on the number of events and the stacking structure. Table S1(Online resource) sums up, for each of the three tissues of a maize kernel (embryo, endosperm or seed coat) and according to the type of pollination they result from, the ploidy, the genotypes, and the rates of impurities.

Finally, the rate of GM kernels due to seed admixture in the harvest corresponds to the rates of GM embryos or GM endosperms:

$$\%\text{GM grains} = Pr^2\alpha\beta - Pr^2\alpha - Pr^2\alpha^2\beta + 2\alpha Pr \quad (5)$$

For a very low rate of seed admixture α, it can be simplified as

$$\%\text{GM grains} = Pr^2\alpha(\beta - 1) + 2\alpha Pr \quad (6)$$

The rate of GM-DNA due to seed admixture (***DNA_{adm}%***) depends on ***α***, ***β***, and on:

- the number of different GM events born by the impurity (***N***);
- the DNA contents of embryo, endosperm and seed coat for the impurity (X_{imp}, Y_{imp} and Z_{imp}) and for the conventional variety (X_{conv}, Y_{conv} and Z_{conv}).

The rate of GM-DNA due to seed admixture can then be calculated using the following formulas:

- homozygous impurity:

$$DNA_{adm}\% = [\alpha(1-\beta)+\alpha^2\beta]\times N\times[X_{imp}+Y_{imp}+Z_{imp}]+[(1-\alpha)\beta\alpha]\times N\times\left(\frac{1}{2}X_{imp}+\frac{2}{3}Y_{imp}+Z_{imp}\right)+[\alpha\beta(1-\alpha)]\times N\times\left(\frac{1}{2}X_{conv}+\frac{1}{3}Y_{conv}\right) \quad (7)$$

- hemizygous impurity:

$$DNA_{adm}\% = [\alpha(1-\beta)+\alpha^2\beta]\times\frac{N}{2}\times[X_{imp}+Y_{imp}+Z_{imp}]+[(1-\alpha)\beta\alpha]\times\frac{N}{2}\times\left(\frac{1}{2}X_{imp}+\frac{2}{3}Y_{imp}+Z_{imp}\right)+[\alpha\beta(1-\alpha)]\times\frac{N}{2}\times\left(\frac{1}{2}X_{conv}+\frac{1}{3}Y_{conv}\right) \quad (8)$$

Results

Possible stacking structures for hemizygous varieties bearing two to four stacked events

From two to four stacked genes, the number of possible stacking structures ranges respectively from three to five and eleven (Figure 1). The stacking structure depends on the number of pairs of chromosomes involved and on events scattering on homologues. For each stacking structure, the location of each transgenic event and the relative distance to each other impact recombination patterns and probability.

Proportions of GM pollen grains according to the stacking structure

Table S2 (Online resource) presents from two to four stacked genes and for each genetic structure the proportions of GM pollen grains emitted by a GM field in function of recombination frequencies.

For two to four events and for each stacking structure, Figure 1 presents the intervals of the proportion of GM pollen grains emitted by a GM field. Thanks to these intervals, we can estimate the risk of gene flow according to the stacking structure. For example, in the case of four stacked events (Figure 1), genetic structures 9 and 10, which both involve three pairs of chromosomes, generate the highest proportion of transgenic pollen grains. On the contrary,

genetic structure 1, involving a single chromosome, generates the smallest proportion of transgenic pollen grains.

Relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM variety bearing two to four stacked events, and the percentage of adventitious GM-DNA

Table S3 presents, for a X%/Y% and a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio, the relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field and the percentage of adventitious GM-DNA due to cross-pollination in a non-GM harvest. As we are only considering cross-pollination, the GM parent is always the male parent; then adventitious GM-DNA is only present in embryos and endosperm. These relationships depend on the number of stacked events and on the embryo/endosperm DNA ratio.

Relationships between the percentage of adventitious GM-DNA, the percentage of adventitious GM kernels, and the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM field

Tables S4a and S4b (Online resource) provide the relationships between the percentages of adventitious GM-DNA due to cross-pollination in a non-GM harvest and the corresponding percentage of adventitious GM kernels, assuming that all the emitting GM fields are sown with similar varieties regarding the number of events and the stacking structure. As above, we are only considering adventitious GM presence due to cross-pollination, therefore adventitious GM-DNA is only present in embryos and endosperm.

Thanks to the relationships provided by Tables S3 and S4, we established an abacus allowing those using gene flow models to take into account stacking and to express the rates of adventitious GM presence in terms of GM kernels and GM-DNA (Online resource, Table S10).

Rates of GM impurities in a non-GM harvest due to seed admixture

Table S5 shows, in the case of a very low rate of seed admixture, the rates of GM kernels due to seed admixture in a non-GM harvest according to the zygosity of the impurity for the transgenic events, the number of events, and the stacking structure. It also shows, in the case of identical embryo/endosperm/seed coat DNA ratios for impurities and conventional plants, the rates of GM-DNA due to seed admixture. In the case of seed admixture, the GM parent can be either the male or the female parent; consequently, adventitious GM-DNA can be present in embryos, endosperms or seed coats.

Discussion

Impact of gene stacking on adventitious GM presence due to pollen flow

Impact of gene stacking on adventitious GM kernel or GM-DNA presence under given farming conditions

For one to four stacked events and for all the stacking structures, Table S6 (Online resource) displays the output of a simulation run with the MAPOD® model, given a 5-hectare non-GM plot located 100 meters away from and downwind of a 15-hectare GM plot, in terms of percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by the GM field (Messéan et al.

2006). Table S6 also displays the rate of adventitious GM presence in terms of intervals of percentages of GM kernels.
The percentage of non-GM flowers receiving pollen from the GM field under these conditions is 0.58%. Nevertheless, under the same conditions, depending on the number of stacked events and on the stacking structure, the percentage of adventitious GM kernels falls between 0.29 and 0.58%. In parallel, the percentage of GM-DNA under the same conditions increases with the number of stacked events from 0.12 to 0.48% with four stacked events.
Therefore, under the same isolation measures, the ability for a non-GM maize producer to comply with given GM-kernel or GM-DNA thresholds depends on the number of transgenic events and on the stacking structure of the varieties grown in the surrounding GM fields. This could imply adaptation of coexistence rules to the type of GM varieties and, at the landscape scale, it would make the implementation of coexistence complex, especially if varieties with different levels of stacking are grown.

Impact of gene stacking on the correspondence between percentage of GM kernels and percentage of GM-DNA

As an example, Table S7 shows, for a 1% rate of GM-DNA, with recombination frequencies comprised between 0 and 50% and a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio, the corresponding percentages of GM kernels and the corresponding percentages of non-GM flowers receiving pollen from the GM field. The percentages of GM kernels vary from 2.4% down to 0.6% depending on the number of events and on the stacking structure of the GM variety, while the percentages of non-GM flowers receiving pollen from the GM field vary from 4.28% to 1.2% depending on the number of events.
Thus, on the one hand, the higher the number of stacked events, the lower the percentages of non-GM flowers receiving pollen from the GM field—resulting in compliance with a given GM-DNA threshold—and the more drastic the isolation measures to be implemented. A farmer growing non-GM maize varieties who does not know the number of events born by the GM variety sown in the surrounding fields would have to ask neighbours growing GM maize to implement[64] isolation measures corresponding to the highest possible number of events (worst-case scenario). The number of events should be therefore taken into account when establishing isolation measures in order to comply with a given GM-DNA threshold to achieve the principle of proportionality asked for in the Commission guidelines[65] (EC 2003c).

On the other hand, a similar percentage of GM-DNA detected through PCR assays can correspond to a wide range of GM kernel percentages, depending on the number of events and on the stacking structure of the emitting GM varieties around a non-GM field, which has a huge consequence on the field of seed production, as stakeholders are concerned about seed purity (Davison and Bertheau 2008). A bulk of seeds labelled for a given rate of GM-DNA could include less GM kernels and generate less GM impurities when the emitting variety bears more than one event. The number of events and the stacking structure should be taken into account when establishing GM-DNA thresholds aiming at guaranteeing a given level of seed purity.

---

[64] According to the Commission guidelines for the development of national strategies and best practices to ensure coexistence (EC 2003c): "As a general principle, during the phase of introduction of a new production type in a region, operators (farmers) who introduce the new production type should bear the responsibility of implementing the farm management measures necessary to limit gene flow."

[65] "They shall not go beyond what is necessary in order to ensure that adventitious traces of GMOs stay below the tolerance thresholds set out in Community legislation. They should avoid any unnecessary burden for farmers, seed producers, cooperatives and other actors associated with any production type"

Impact of gene stacking on adventitious GM presence due to seed admixture

95% is an average outcrossing rate (***β***) for maize (Hamrick and Godt 1997). Considering this value for ***β*** and a rate of seed admixture (***α***) of 0.3%[66], the rates of impurities in the harvest due to seed admixture, expressed as percentages of GM kernels and percentages of GM-DNA (for identical embryo/endosperm/seed coat DNA ratios for impurities and conventional plants), are given in Table S8 (Online resource).
For one to four stacked events born by impurities, the rate of GM kernels due to seed admixture can vary between 0.30% and 0.59% of GM harvests. Under the same conditions, the percentage of GM-DNA due to seed admixture can vary between 0.15% and 0.6% depending on the number of events and zygosity. The variability of rates of GM kernels and DNA due to seed admixture should be taken into account when establishing thresholds for labelling.

Taking into account gene stacking in adventitious GM presence due to pollen flow and seed admixture

Rates of adventitious GM kernel presence due to combined effects of pollen flow, seed admixture, and gene stacking

When estimating the final rate of adventitious presence in a non-GM harvest, the wide range of possible values for the rates of impurities in the harvest due to seed admixture must be taken into account and combined with the adventitious presence due to pollen flow with surrounding GM fields. This is illustrated in Table S9 (Online resource) in the case of a 0.3% rate of GM seed admixture for a hemizygous impurity and a 0.58% rate of pollen flow with surrounding GM fields (Situation described above). Considering the number of events and the stacking structure of the emitting GM variety both in surrounding fields and among seed admixture, Table S9 gives the maximum rates of adventitious GM kernel presence (i.e., higher limits of the intervals of adventitious GM kernel presence) in the non-GM harvest. For example, if the GM variety in seed admixture bears two stacked events with stacking structure n°2, and if the GM variety surrounding the non-GM field is sown with a variety bearing three stacked events with stacking structure n°4, the resulting rate of adventitious GM kernels in the non-GM harvest would be 1.17%. However, if the GM variety in seed admixture had born only one single event, the rate of adventitious GM kernel presence would have been 0.88%. All in all, in this situation (0.3% rate of seed admixture and 0.58% rate of pollen flow), depending on the number of events and the stacking structure of the GM varieties involved, the maximum rate of adventitious GM kernel presence varies between 0.59 and 1.17%.
The combination of the two sources of adventitious GM presence points out the need to take into account the number of events and the stacking structures of GM varieties when establishing labelling thresholds and isolation measures. This also highlights the need for stacking structures to be explicitly described in applications for authorization and in turn made available to the public at large.
Figure 2 illustrates the combined effects of seed admixture, pollen flow and gene stacking when implementing isolation measures in order to comply with the regulatory 0.9% GM-DNA threshold. Figures correspond to a 95% outcrossing rate and an embryo/endosperm/seed coat DNA ratio of 50%/50%/0% for all considered varieties.
In the absence of seed admixture, and if the emitting GM field is sown with a single-event GM variety, like MON 810 (on the left), the percentage of GM-DNA resulting from pollen flow in the non-GM harvest can reach 0.9%, which corresponds to 4.32% of non-GM flowers

[66] The level of GM adventitious presence in seed lots which was envisaged for seed labelling of cross-pollinated plants (EC 2001)

pollinated by pollen coming from the GM field. However, when the initial bulk of seeds contains 0.3% of MON 810 seeds (on the right), 0.15% of GM-DNA in the non-GM harvest is due to seed admixture. Consequently, to comply with a 0.9% GM-DNA threshold, the percentage of GM-DNA resulting from pollen flow cannot exceed 0.75%. If the emitting GM field is sown with a three event GM variety, like MON 863 x MON 810 x NK 603, it corresponds to 1.2% of non-GM flowers pollinated by pollen coming from the GM field only: isolation measures must therefore be more drastic than in the first case.

Consequences of GM threshold units for conventional maize seed producers and crop producers

Figure 3 details the consequences the choice of the threshold unit for labelling seed lots has on conventional seed producers and crop producers. Two cases are described:

- an initial adventitious GM presence in seeds due to pollen emitted by a GM variety bearing one single GM event and hemizygous,
- an initial adventitious GM presence in seeds due to pollen emitted by a GM variety bearing two GM events and hemizygous, for the three possible stacking structures and for a 25% recombination frequency.

Figures correspond to a 95% outcrossing rate and an embryo/endosperm/seed coat DNA ratio of 50%/50%/0% for all considered varieties.
Based on these examples, we can see that it is easier for a seed producer to comply with a 0.1% GM-DNA threshold than a 0.1% GM seed threshold. However, when a bulk of seeds complying with a 0.1% GM-DNA threshold are sown by a maize crop producer, the rate of GM-DNA due to seed admixture in the resulting harvest is higher than if the bulk of seeds had complied with a 0.1% GM seed threshold. Thus, when the GM threshold for seed production is expressed as a percentage of GM-DNA rather than as a percentage of seeds, maize crop producers must implement more drastic isolation measures to prevent adventitious GM presence due to pollen flow or machinery if they are to comply with the regulatory 0.9% GM-DNA threshold.

Conclusion

In order to assess rates of adventitious GM presence, this study provides the methodological framework and a set of relationships to take into account pollen flow and seed admixture given gene stacking of up to four events. The same reasoning can apply to a higher number of events. Knowing that the focus of the study is on GM varieties obtained through co-transformation or conventional breeding, the findings can also apply to transgenic events grouped together by the re-transformation method.

These relationships are tools that can be used for diverse purposes, such as the choice of a unit of measure for thresholds of adventitious GM presence or the implementation of isolation measures. Moreover, thanks to these relationships, it is now possible to readily account for gene stacking in gene flow models based on trial results with phenotypic markers such as the MAPOD® model and thereby evaluate the efficiency of isolation measures if stacked varieties are being grown.
This study also highlights the need for stakeholders to take into account the number of events born by the GM maize varieties grown in the area surrounding conventional maize production plots when establishing thresholds or implementing isolation measures. Moreover we now more fully understand the need to know the precise stacking structure of the GM varieties authorized for cultivation, as it may help setting up the coexistence measures farmers should implement.

Acknowledgments

The authors would like to thank Alain Charcosset, Matthieu Falque (UMR de génétique végétale du Moulon, INRA), Fabien Nogué (Institut Jean Pierre Bourgin, INRA) and Yves Bertheau (département SPE, INRA) for their expertise and useful suggestions. We are also grateful to Suzette Tanis-Plant for discussions in English. This work was financially supported by the European Commission through the Sixth Framework Program, integrated project Co-Extra (http://www.coextra.eu), contract FOOD-2005-CT-007158.

References

Angevin F, Klein EK, Choimet C, Gauffreteau A, Lavigne C, Messéan A, Meynard JM (2008) Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: the MAPOD® model. Eur J Agron 28: 471–484

Davison J, Bertheau Y (2008) The theory and practice of European Traceability Regulations for GM food and feed. Cereal Foods World 53: 186–196

ENGL (2006) Explanatory document on the use of Percentage of GM-DNA copy numbers in relation to the target taxon specific DNA copy number calculated in terms of haploid genomes. European Commission, Joint Research Centre, Italy 1–16

European Commission (2001) Opinion of the Scientific Committee on Plants (Opinion adopted by the Committee on 7th March 2001). SCP/GMO-SEED-CONT/002-FINAL, 13 March 2001, http://www.ec.europa.eu/food/fs/sc/**scp**/out93_**gmo**_en.pdf, Accessed 20 July 2009

European Commission (2003a) Regulation (EC) N° 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. Official Journal of the European Union L268: 1-23

European Commission (2003b) Regulation (EC) N° 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. Official Journal of the European Union L268: 24-28

European Commission (2003c) Commission recommendations of 23 July 2003 on guidelines for the development of national strategies and best practices to ensure the coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming, 2003/556/EC (notified under document number C(2003) 2624). Official Journal of the European Union L189: 36-47

European Commission (2004) Commission recommendation of 4 October 2004 on technical guidance for sampling and detection of genetically modified organisms and material produced from genetically modified organisms as or in products in the context of Regulation (EC) N° 1830/2003. Official Journal of the European Union, L348: 18-26

European Commission (2009) Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming {SEK(2009) 408}, COM(2009) 153 final, 12p + appendix

Hamrick JL, Godt MJW (1997) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. In: Silvertown J, Franco M, Harper JL (eds) Plant life histories. Ecology, phylogeny and evolution. Cambridge University Press, Cambridge, pp 102–118

Halpin C (2005) Gene stacking in transgenic plants – the challenge for 21st century plant biotechnology. Plant Biotechnol J. 3: 141–155

Holst-Jensen A, De Loose M, Van den Eede G (2006) Coherence between legal requirements and approaches for detection of genetically modified organisms (GMOs) and their derived products. J Agr Food Chem 54: 2799–2809

Klein EK, Lavigne C, Foueillassar X, Gouyon PH, Laredo C (2003) Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. Ecol Monogr 73:131–150

Loos C, Seppelt R, Meier-Bethke S, Schiemann J, Richter O (2003) Spatially explicit modelling of transgenic maize pollen dispersal and cross-pollination. J Theor Biol 225: 241–255

Messéan A, Angevin F, Gómez-Barbero M, Menrad K, Rodríguez-Cerezo E (2006) New cases studies on the co-existence of GM and non-GM in European agriculture. Technical reports series, European Commission, Joint Research Centre, Spain, EUR 22102 En, 112p

Mézard C, Vignard J, Drouaud J, Mercier R (2007) The road to crossovers: plants have their say. Trends Genet 23, 2: 91-99

Sanvido O, Widmer F, Winzeler M, Streit B, Szerencsits E, Bigler F (2008). Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. Transgenic Res 17: 317-335.

Spielman M, Scott R J (2008) Polyspermy barriers in plants: from preventing to promoting fertilization. Sex Plant Reprod 21:5 3-65

Taverniers I, Papazova N, Bertheau Y, De Loose M, Holst-Jensen A (2008) Gene stacking in transgenic plants: towards compliance between definitions, terminology and detection within the EU regulatory framework. Environ Biosafety Res 7: 197–218

Trifa Y, Zhang D (2004) DNA content in embryo and endosperm of maize kernel (Zea mays L.): Impact on GMO quantification. J Agr Food Chem 52: 1044–1048

Zhang D, Corlet A, Fouilloux S (2008) Impact of genetic structures on haploid genome-based quantification of genetically modified DNA: theoretical considerations, experimental data in MON 810 maize kernels (Zea mays L.) and some practical applications. Transgenic Res 17: 393–402

Fig. 1 Transgenic pollen grain percentage intervals for two to four stacked events according to the genetic structure

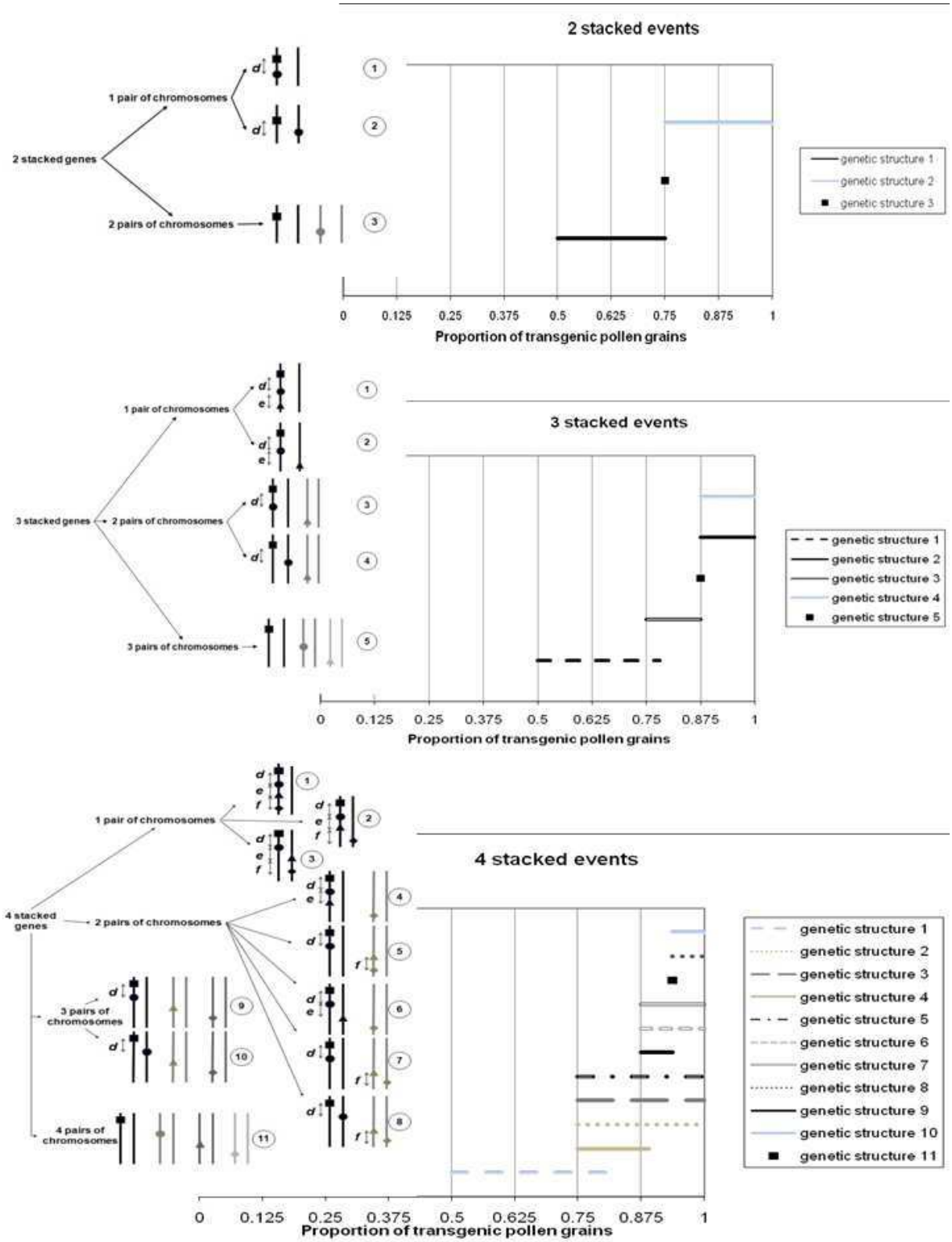


Fig. 2 Example of the combined effects of seed admixture, pollen flow, and gene stacking on isolation measures, in the case of a 95% outcrossing rate and a 50%/50%/0% embryo/endosperm/seed coat DNA ratio for all considered varieties - Distances between GM plots and the conventional plot are proportional to cross-pollination rates - Values obtained according to formulas given in Tables S3 and S5 (online resource)

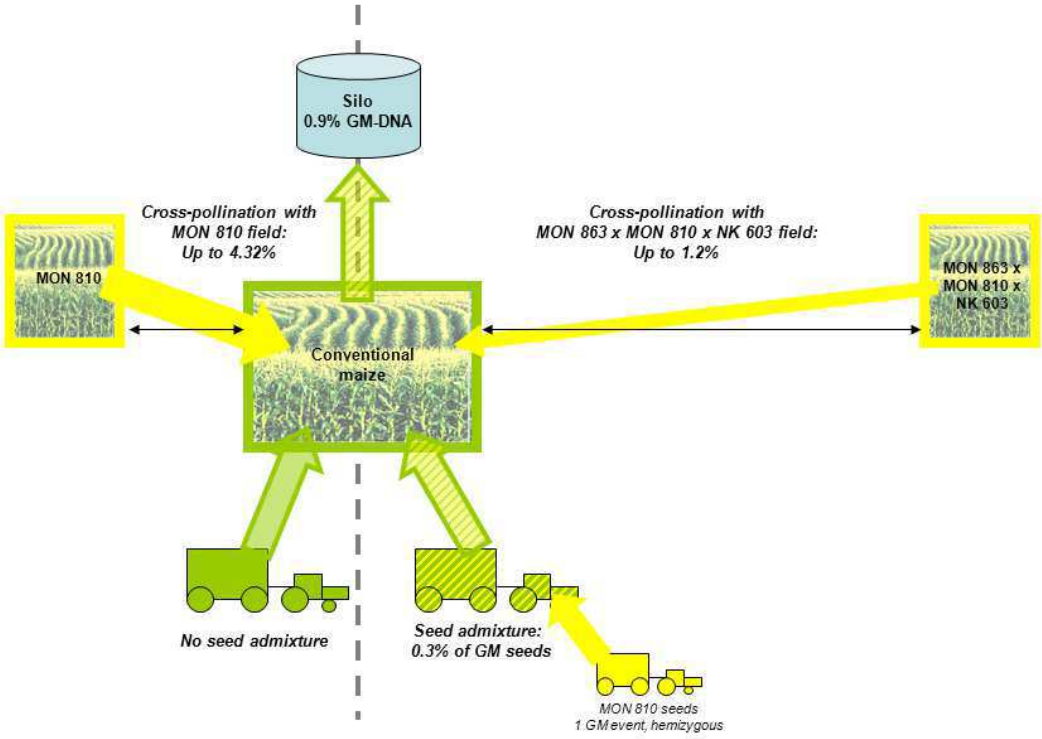
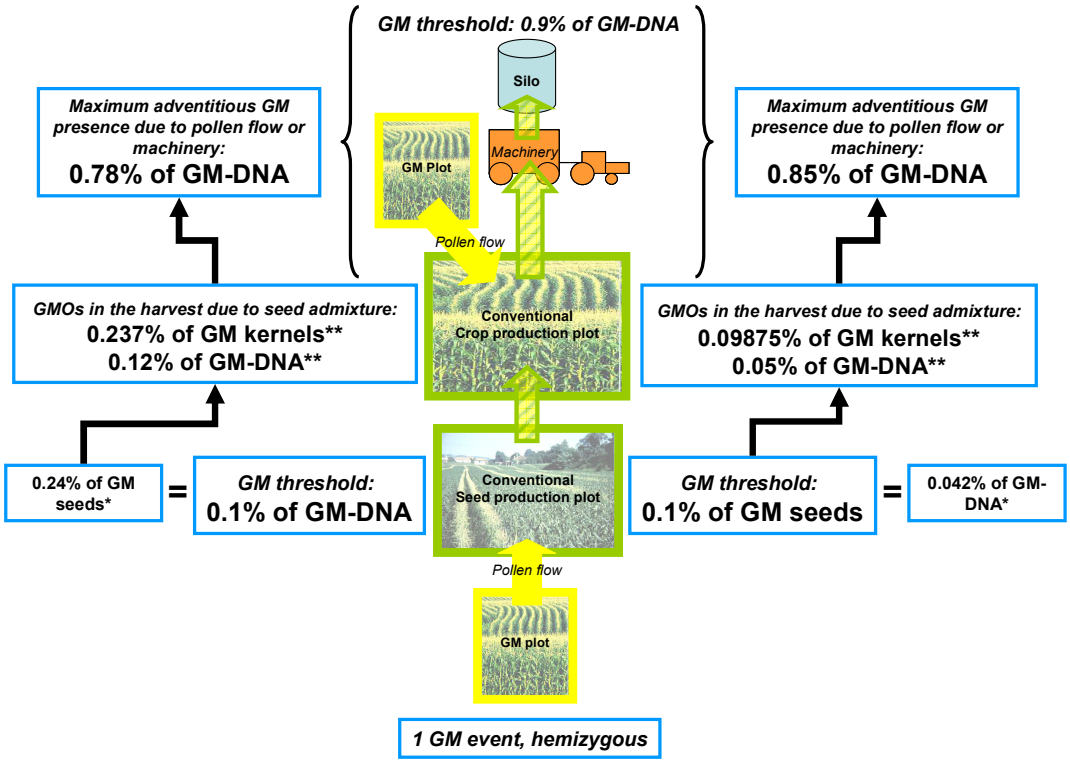
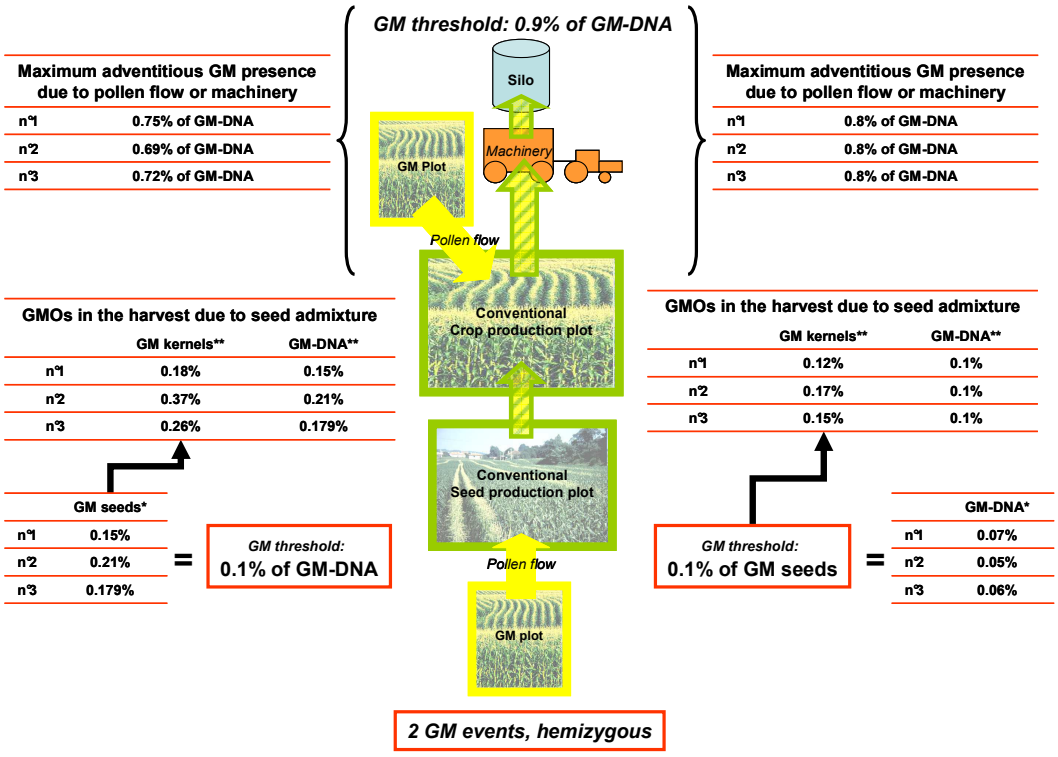


Fig. 3 Consequences of the choice of a GM threshold for seed production expressed as a percentage of GM seeds or a percentage of GM-DNA in the case of an adventitious presence of GMOs caused by pollen flow from a GM maize variety bearing 1 event or two events and hemizygous, for a 95% outcrossing rate and an embryo/endosperm/seed coat DNA ratio of 50%/50%/0% for all given varieties



* Values obtained according to formulas given in Table S4 (Online resource)
** Values obtained according to formulas given in Table S5 (Online resource)



* Values obtained according to formulas given in Table S4, for a recombination frequency d of 25%
** Values obtained according to formulas given in Table S5 for a recombination frequency d of 25%

Table 1 Percentage of GM-DNA in a kernel bearing N transgenic events of paternal origin, expressed in terms of the total number of apparent GM Haploid Genome Copies (each transgene being individually detected by PCR) on the total number of maize Haploid Genome Copies in the kernel (based on Holst-Jensen et al. 2006)

DNA ratio Embryo (X)/endosperm(Y)	**Number of stacked events (N)**	**Apparent percentage of GM-DNA in a kernel bearing N transgenic events (A_n)**
X%/Y%	1	$\frac{1}{2}\times X+\frac{1}{3}\times Y$
	2	$2\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)$
	3	$3\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)$
	4	$4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)$
50%/50%	1	41.66%
	2	83.32%
	3	124.98%
	4	166.64%
62.2%/36.3%*	1	43.2%
	2	86.4%
	3	129.6%
	4	172.8%
38.6%/59.4%**	1	39.1%
	2	78.2%
	3	117.3%
	4	156.4%

* Ratio reported by Trifa and Zhang for the maize variety DK512 (Trifa and Zhang 2004)
** Ratio reported by Trifa and Zhang for the maize variety Chambord (Trifa and Zhang 2004)

Table 2 Probability of each type of crossing involving seed impurities

Type of crossing	**Probability**
Pollination of conventional plants by impurities	$\alpha\beta(1-\alpha)$
Pollination of impurities by conventional plants	$(1-\alpha)\beta\alpha$
Cross-pollination between impurities	$\alpha^2\beta$
Self-pollination of impurities	$\alpha(1-\beta)$

α: rate of seed admixture; *β:* rate of outcrossing,

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Transgenic Research - Electronic supplementary material

Impact of gene stacking on gene flow – the case of maize

Lénaïc PAUL [1], Frédérique ANGEVIN [1*], Cécile COLLONNIER [2, 3], Antoine MESSEAN [1]

[1] *INRA, UAR 1240 Eco-Innov, Avenue Lucien Brétignières, F-78850 Thiverval-Grignon*

* Corresponding author

Tel: +33-(0)1 30 81 53 63

Fax: +33-(0)1 30 81 52 07

E-mail: Frederique.Angevin@jouy.inra.fr

Captions

Fig S1 Routes of admixtures in the case of maize seed and crop productions

Fig S2 Stacking at seed production stage and stacking at the stage of transgenic elite line creation – The case of two events

Table S1 Rates of GM impurities in the final harvest in terms of embryos, endosperms, seed coats

Table S2 Proportion of GM pollen grains emitted by a GM field according to the number of stacked events and the stacking structure - Stacking structures are numbered according to Figure 1 - d, e and f are recombination frequencies between two adjacent events

Table S3 Relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM field and the percentage of adventitious GM-DNA in a non-GM harvest according to the number of stacked events for a X%//Y% and a 50%//50% embryo/endosperm DNA ratio – N represents the number of stacked events

Table S4 Relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field and the percentage of GM kernels in a non-GM harvest, respectively for a X%/Y% and a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio - *d*, *e* and *f* are recombination frequencies between two adjacent events - N represents the number of transgenic traits

Table S5 Rates of GM impurities in a non-GM harvest due to seed admixture expressed in terms of kernels and in terms of GM-DNA for a very low rate of seed admixture α and for an identical embryo/endosperm/seed coat DNA ratio for impurities and conventional plants - *d*, *e* and *f* are recombination frequencies between two adjacent events

Table S6 Percentage of adventitious GM kernels in a non-GM harvest considering the number of stacked events and the stacking structure in the conditions described in Figure S2a and corresponding percentage of GM-DNA for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio - Values were obtained according to formulas in Tables S3 and S4

Table S7 Percentages of GM kernels corresponding to a 1% rate of adventitious GM-DNA for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio - Values were obtained according to formulas in Tables S3 and S4

Table S8 Rates of impurities in the non-GM harvest for a 95% outcrossing rate, a 0.3% rate of seed admixture, and identical embryo/endosperm/seed coat DNA ratios for impurities and conventional plants, expressed as percentages of GM kernels and as percentages of GM-DNA - Values were obtained according to formulas in Table S5

Table S9 Maximum rates of adventitious GM kernel presence resulting from a 0.3% rate of seed admixture and a 0.58% rate of pollen flow with surrounding GM fields for different cases of stacking, in the case of a 95% outcrossing rate - Values were obtained according to formulas in Tables S3 and S5

Table S10 Abacus to account for stacking in pollen flow studies. Stacking structures are numbered according to Figure 1

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Fig S1 Routes of admixtures in the case of maize seed and crop productions. Basic seeds are supposed to be pure. Cross-pollination between GM plants in the same field issued from seed impurities is not represented. Flashes indicate risk of commingling due to machinery (Messéan et al. 2006)

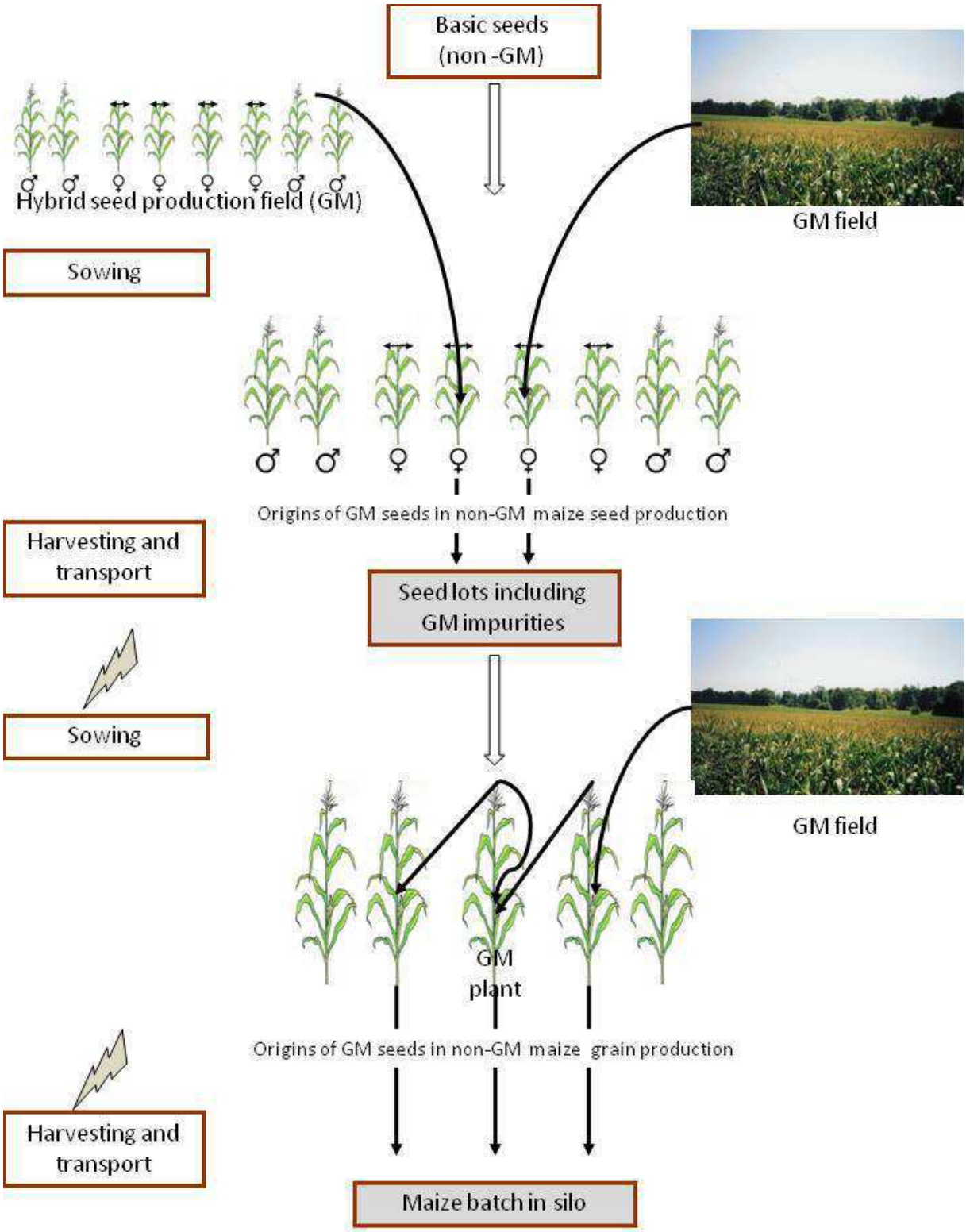


Fig S2a Stacking at seed production stage – The case of two events

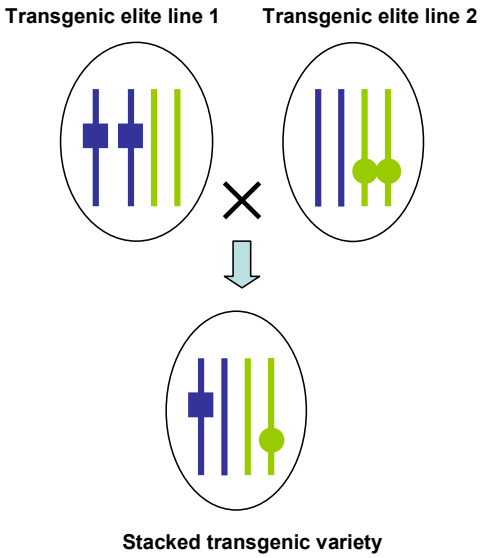
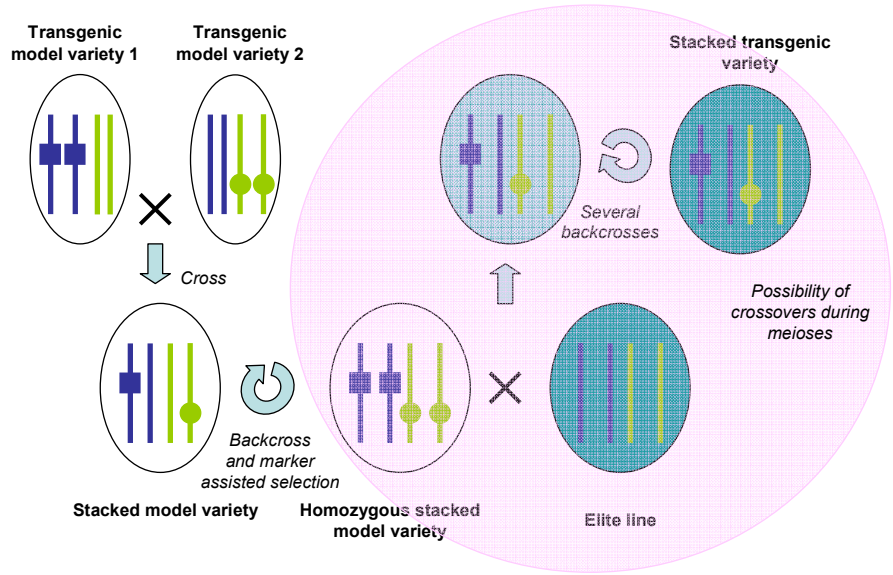


Fig S2 Stacking at the stage of transgenic elite line creation – The case of two events



Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Table S1 Rates of GM impurities in the final harvest in terms of embryos, endosperms, seed coats

		GM embryos		**GM endosperms**		**GM seed coats**	
Ploidy		Diploid		Triploid		Diploid	
Genotypes		1 haploid genome	Male gamete	1 haploid genome	Male gamete	2 haploid genomes	Female parent
		1 haploid genome	Female gamete	2 haploid genomes	Female gamete		
Percentage in the final harvest resulting from:	**Pollination of conventional plants by impurities**	$\alpha\beta(1-\alpha)\times Pr$		$\alpha\beta(1-\alpha)\times Pr$		0	
	Pollination of impurities by conventional plants	$(1-\alpha)\beta\alpha\times Pr$		$(1-\alpha)\beta\alpha\times Pr$		$(1-\alpha)\beta\alpha$	
	Cross-pollination between impurities	$\alpha^2\beta\times\left(Pr^2+2Pr(1-Pr)\right)$		$\alpha^2\beta\times\left(Pr^2+2Pr(1-Pr)\right)$		$\alpha^2\beta$	
	Self-pollination of impurities	$\alpha(1-\beta)\times\left(Pr^2+2Pr(1-Pr)\right)$		$\alpha(1-\beta)\times\left(Pr^2+2Pr(1-Pr)\right)$		$\alpha(1-\beta)$	

α: rate of seed admixture, *β*: rate of outcrossing, *Pr*: proportion of GM pollen grains emitted by a GM plant

Table S2 Proportion of GM pollen grains emitted by a GM field according to the number of stacked events and the stacking structure - Stacking structures are numbered according to Figure 1 - *d*, *e* and *f* are recombination frequencies between two adjacent events

Number of stacked events (N)	**Stacking structure number**	**Proportion of GM pollen grains emitted by a GM field**		
			Minimum	***Maximum***
1		$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	
2	1	$\frac{1}{2}\times(1-d)+d$	$\frac{1}{2}$	$\frac{3}{4}$
	2	$(1-d)+\frac{1}{2}d$	$\frac{3}{4}$	1
	3	$\frac{3}{4}$	$\frac{3}{4}$	
3	1	$\frac{1+d+e+de}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{25}{32}$
	2	$1-\frac{1}{2}e$	$\frac{7}{8}$	1
	3	$\frac{3}{4}(1-d)+d$	$\frac{3}{4}$	$\frac{7}{8}$
	4	$(1-d)+\frac{3}{4}d$	$\frac{7}{8}$	1
	5	$\frac{7}{8}$	$\frac{7}{8}$	
4	1	$\frac{1+d+e+f+de+df+ef+def}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{58}{72}$
	2	$1-\frac{1}{2}f$	$\frac{3}{4}$	1
	3	$1-\frac{1}{2}e$	$\frac{3}{4}$	1
	4	$\frac{3+d+e+de}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{57}{64}$
	5	$\frac{3+d+f+df}{4}$	$\frac{3}{4}$	1
	6	$1-\frac{1}{4}e$	$\frac{7}{8}$	1
	7	$1-\frac{1}{4}d$	$\frac{7}{8}$	1
	8	$1-\frac{1}{4}df$	$\frac{15}{16}$	1
	9	$\frac{7}{8}\times(1-d)+d$	$\frac{7}{8}$	$\frac{15}{16}$
	10	$(1-d)+\frac{7}{8}d$		1
	11	$\frac{15}{16}$	$\frac{15}{16}$	

Table S3 Relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM field and the percentage of adventitious GM-DNA in a non-GM harvest according to the number of stacked events for a X%//Y% and a 50%//50% embryo/endosperm DNA ratio – N represents the number of stacked events

N	**Relationship between the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM-field (*P%*) and the percentage of adventitious GM-DNA (*DNA%*) (E_N being the average number of GM events per pollen gain)** $DNA\% = P\% \times E_N \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right)$	
	Embryo/endosperm DNA ratio: X%//Y%	**Embryo/endosperm DNA ratio: 50%/50%**
1	$DNA\% = P\% \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right) \times \frac{1}{2}$	$DNA\% = P\% \times \frac{5}{24}$
2	$DNA\% = P\% \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right) \times 1$	$DNA\% = P\% \times \frac{5}{12}$
3	$DNA\% = P\% \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right) \times \frac{3}{2}$	$DNA\% = P\% \times \frac{5}{8}$
4	$DNA\% = P\% \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right) \times 2$	$DNA\% = P\% \times \frac{5}{6}$

Table S4a Relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field and the percentage of GM kernels in a non-GM harvest, respectively for a X%/Y% and a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio - *d*, *e* and *f* are recombination frequencies between two adjacent events - N represents the number of transgenic traits (in this case, 1 or 2)

N	**Stacking structure number**	**Relationship between the percentage of adventitious GM-DNA (*DNA%*) and the percentage of adventitious GM kernels (*S%*)** $S\% = DNA\% \times \frac{1}{\sum_{n=1}^{N} A_n \times S_n}$	
		Embryo/endosperm DNA ratio: X%/Y%	**Embryo/endosperm DNA ratio: 50%/50%**
1		$S\% = \frac{1}{2} \times P\% = DNA\% \times \frac{1}{\left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{12}{5}$
2	1	$S\% = DNA\% \times \frac{1+d}{2 \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{6}{5} \times (1+d)$
	2	$S\% = DNA\% \times \frac{2-d}{2 \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{6}{5} \times (2-d)$
	3	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{2 \times 2 \times \left(\frac{1}{2}X + \frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{9}{5}$

Table S4b Relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field and the percentage of GM kernels in a non-GM harvest, respectively for a X%/Y% and a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio - *d*, *e* and *f* are recombination frequencies between two adjacent events - N represents the number of stacked events

N	**Stacking structure number**	**Relationship between the percentage of adventitious GM-DNA (*DNA%*) and the percentage of adventitious GM kernels (*S%*)**	
		Embryo/endosperm DNA ratio: X%/Y%	**Embryo/endosperm DNA ratio:50%/50%**
3	1	$S\% = DNA\% \times \frac{1+d+e+de}{3\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{4}{5}\times(1+d+e+de)$
	2	$S\% = DNA\% \times \frac{2-e}{3\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{4}{5}\times(2-e)$
	3	$S\% = DNA\% \times \frac{3+d}{2\times3\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{2}{5}\times(3+d)$
	4	$S\% = DNA\% \times \frac{4-d}{2\times3\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{2}{5}\times(4-d)$
	5	$S\% = DNA\% \times \frac{7}{4\times3\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{7}{5}$
4	1	$S\% = DNA\% \times \frac{1+d+e+f+de+df+def}{4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{5}\times(1+d+e+f+de+ef+df+def)$
	2	$S\% = DNA\% \times \frac{2-f}{4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{5}\times(2-f)$
	3	$S\% = DNA\% \times \frac{2-e}{4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{5}\times(2-e)$
	4	$S\% = DNA\% \times \frac{3+d+e+de}{2\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{10}\times(3+d+e+de)$
	5	$S\% = DNA\% \times \frac{3+d+f+df}{2\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{10}\times(3+d+f+df)$
	6	$S\% = DNA\% \times \frac{4-e}{2\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{10}\times(4-e)$
	7	$S\% = DNA\% \times \frac{4-f}{2\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{10}\times(4-f)$
	8	$S\% = DNA\% \times \frac{4-df}{2\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{10}\times(4-df)$
	9	$S\% = DNA\% \times \frac{7+d}{4\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{20}\times(7+d)$
	10	$S\% = DNA\% \times \frac{8-d}{4\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{3}{20}\times(8-d)$
	11	$S\% = DNA\% \times \frac{15}{8\times4\times\left(\frac{1}{2}X+\frac{1}{3}Y\right)}$	$S\% = DNA\% \times \frac{9}{8}$

Table S5 Rates of GM impurities in a non-GM harvest due to seed admixture expressed in terms of kernels and in terms of GM-DNA for a very low rate of seed admixture α and for an identical embryo/endosperm/seed coat DNA ratio for impurities and conventional plants - *d*, *e* and *f* are recombination frequencies between two adjacent events

Zygosity	**Number of events (*N*)**	**Stacking structure number**	**Rate of GM kernels in the harvest (for a rate of initial seed admixture α below 0.5%)**	**Rate of GM-DNA in the harvest (for Ximp=Xconv; Yimp=Yconv; Zimp=Zconv)**
Homozygous	1		$\alpha(\beta-1)+2\alpha$	$DNA_{adm}\% = \alpha$
	2		$\alpha(\beta-1)+2\alpha$	$DNA_{adm}\% = 2\alpha$
Hemizygous	1	1	$\frac{1}{4}\alpha(\beta-1)+\alpha$	$DNA_{adm}\% = \frac{1}{2}\alpha$
	2	1	$\left(\frac{1}{2}(1-d)+d\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha(1+d)$	$DNA_{adm}\% = \alpha$
		2	$\left((1-d)+\frac{1}{2}d\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha(2-d)$	
		3	$\frac{9}{16}\alpha(\beta-1)+\frac{3}{2}\alpha$	
	3	1	$\left(\frac{1+d+e+de}{2}\right)^2\alpha(\beta-1)+(1+d+e+de)\alpha$	$DNA_{adm}\% = \frac{3}{2}\alpha$
		2	$\left(1-\frac{1}{2}e\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha(2-e)$	
		3	$\left(\frac{3}{4}(1-d)+d\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(\frac{3}{2}+\frac{1}{2}d\right)$	
		4	$\left((1-d)+\frac{3}{4}d\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(2-\frac{1}{2}d\right)$	
		5	$\left(\frac{7}{8}\right)^2\alpha(\beta-1)+\frac{7}{4}\alpha$	
	4	1	$\left(\frac{1+d+e+f+de+de+ef+def}{2}\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha(1+d+e+f+de+de+ef+def)$	$DNA_{adm}\% = 2\alpha$
		2	$\left(1-\frac{1}{2}f\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha(2-f)$	
		3	$\left(1-\frac{1}{2}e\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha(2-e)$	
		4	$\left(\frac{3+d+e+de}{4}\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(\frac{3+d+e+de}{2}\right)$	
		5	$\left(\frac{3+d+f+df}{4}\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(\frac{3+f+f+df}{2}\right)$	
		6	$\left(1-\frac{1}{4}e\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(2-\frac{1}{2}e\right)$	
		7	$\left(1-\frac{1}{4}d\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(2-\frac{1}{2}d\right)$	
		8	$\left(1-\frac{1}{4}df\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(2-\frac{1}{2}df\right)$	
		9	$\left(\frac{7}{8}(1-d)+d\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(\frac{7}{4}+\frac{1}{4}d\right)$	
		10	$\left((1-d)+\frac{7}{8}d\right)^2\alpha(\beta-1)+\alpha\left(2-\frac{1}{4}d\right)$	
		11	$\left(\frac{15}{16}\right)^2\alpha(\beta-1)+\frac{15}{8}\alpha$	

Table S6 Percentage of adventitious GM kernels in a non-GM harvest considering the number of stacked events and the stacking structure in the conditions described in Figure S2a and corresponding percentage of GM-DNA for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio - Values were obtained according to formulas in Tables S3 and S4

Number of stacked events (*N*)	**Stacking structure number**	**Percentage of non-GM flowers receiving pollen from the GM field (*P%*)**	**Percentage of adventitious GM kernels (*S%*)**		**Percentage of GM-DNA (*DNA%*)**
			minimum	*maximum*	
1		**0.58**	0.29		0.12
2	1		0.29	0.44	0.24
	2		0.44	0.58	
	3		0.44		
3	1		0.29	0.45	0.36
	2		0.51	0.58	
	3		0.44	0.51	
	4		0.51	0.58	
	5		0.51		
4	1		0.29	0.47	0.48
	2		0.44	0.58	
	3		0.44	0.58	
	4		0.44	0.52	
	5		0.44	0.58	
	6		0.51	0.58	
	7		0.51	0.58	
	8		0.54	0.58	
	9		0.51	0.54	
	10		0.54	0.58	
	11		0.54		

Table S7 Percentages of GM kernels corresponding to a 1% rate of adventitious GM-DNA for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio - Values were obtained according to formulas in Tables S3 and S4

Number of events (*N*)	**Stacking structure number**	**Percentage of GM-DNA (DNA%)**	**Percentage of GM kernels (*S%*)**		**Percentage of non-GM flowers receiving pollen from the GM field (*P%*)**
			minimum	*maximum*	
1		**1**	2.40		4.80
2	1		1.20	1,80	2.4
	2		1.80	2.40	
	3		1.79		
3	1		0.80	1.25	1.6
	2		1.20	1.60	
	3		1.20	1.40	
	4		1.40	1.60	
	5		1.39		
4	1		0.60	0.95	1.2
	2		0.90	1.20	
	3		0.90	1.20	
	4		0.90	1.07	
	5		0.90	1.07	
	6		1.05	1.20	
	7		1.05	1.20	
	8		1.18	1.20	
	9		1.05	1.13	
	10		1.13	1.20	
	11		1.12		

Table S8 Rates of impurities in the non-GM harvest for a 95% outcrossing rate, a 0.3% rate of seed admixture, and identical embryo/endosperm/seed coat DNA ratios for impurities and conventional plants, expressed as percentages of GM kernels and as percentages of GM-DNA - Values were obtained according to formulas in Table S5

Zygosity	**Number of events (*N*)**	**Stacking structure number**	**Rate of GM kernels in the harvest**		**Rate of GM-DNA in the harvest (X_{imp}=X_{conv}; Y_{imp}=Y_{conv}; Z_{imp}=Z_{conv})**
			minimum	*maximum*	
Homozygous	1		0.59		0.3%
	2		0.59		0.6%
Hemizygous	1		0.30		0.15%
	2	1	0.30	0.44	0.3%
		2	0.44	0.59	
		3	0.44		
	3	1	0.30	0.46	0.45%
		2	0.44	0.59	
		3	0.44	0.51	
		4	0.51	0.59	
		5	0.51		
	4	1	0.30	0.47	0.6%
		2	0.44	0.59	
		3	0.44	0.59	
		4	0.44	0.49	
		5	0.44	0.49	
		6	0.51	0.59	
		7	0.51	0.59	
		8	0.58	0.59	
		9	0.51	0.55	
		10	0.55	0.59	
		11	0.55		

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Table S9 Maximum rates of adventitious GM kernel presence resulting from a 0.3% rate of seed admixture and a 0.58% rate of pollen flow with surrounding GM fields for different cases of stacking, in the case of a 95% outcrossing rate - Values were obtained according to formulas in Tables S3 and S5

			No pollen flow	**0.58% pollen flow (hemizygous GM crops)**																			
		N		1	2			3					4										
		Stacking structure			1	2	3	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	N	**Stacking structure**																					
No seed admixture			0	0.29	0.44	0.44	0.58	0.45	0.51	0.51	0.58	0.58	0.47	0.52	0.58	0.58	0.58	0.54	0.58	0.58	0.54	0.58	0.58
0.3% seed admixture (hemizygous impurity)	1		0.30	0.59	0.74	0.74	0.88	0.75	0.81	0.81	0.88	0.88	0.77	0.82	0.88	0.88	0.88	0.84	0.88	0.88	0.84	0.88	0.88
	2	1	0.44	0.73	0.88	0.88	1.02	0.89	0.95	0.95	1.02	1.02	0.91	0.96	1.02	1.02	1.02	0.98	1.02	1.02	0.98	1.02	1.02
		2	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		3	0.44	0.73	0.88	0.88	1.02	0.89	0.95	0.95	1.02	1.02	0.91	0.96	1.02	1.02	1.02	0.98	1.02	1.02	0.98	1.02	1.02
	3	1	0.46	0.75	0.90	0.90	1.04	0.91	0.97	0.97	1.04	1.04	0.93	0.98	1.04	1.04	1.04	1.00	1.04	1.04	1.00	1.04	1.04
		2	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		3	0.51	0.80	0.95	0.95	1.09	0.96	1.02	1.02	1.09	1.09	0.98	1.03	1.09	1.09	1.09	1.05	1.09	1.09	1.05	1.09	1.09
		4	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		5	0.51	0.80	0.95	0.95	1.09	0.96	1.02	1.02	1.09	1.09	0.98	1.03	1.09	1.09	1.09	1.05	1.09	1.09	1.05	1.09	1.09
	4	1	0.47	0.76	0.91	0.91	1.05	0.92	0.98	0.98	1.05	1.05	0.94	0.99	1.05	1.05	1.05	1.01	1.05	1.05	1.01	1.05	1.05
		2	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		3	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		4	0.49	0.78	0.93	0.93	1.07	0.94	1.00	1.00	1.07	1.07	0.96	1.01	1.07	1.07	1.07	1.03	1.07	1.07	1.03	1.07	1.07
		5	0.49	0.78	0.93	0.93	1.07	0.94	1.00	1.00	1.07	1.07	0.96	1.01	1.07	1.07	1.07	1.03	1.07	1.07	1.03	1.07	1.07
		6	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		7	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		8	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		9	0.55	0.84	0.99	0.99	1.13	1.00	1.06	1.06	1.13	1.13	1.02	1.07	1.13	1.13	1.13	1.09	1.13	1.13	1.09	1.13	1.13
		10	0.59	0.88	1.03	1.03	1.17	1.04	1.10	1.10	1.17	1.17	1.06	1.11	1.17	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17	1.13	1.17	1.17
		11	0.55	0.84	0.99	0.99	1.13	1.00	1.06	1.06	1.13	1.13	1.02	1.07	1.13	1.13	1.13	1.09	1.13	1.13	1.09	1.13	1.13

Abacus to account for stacking in pollen flow studies

Tables S10 are based upon the proportions of GM pollen grains for different number of events and stacking structures established in Table S4, and upon the relationships between the percentage of non-GM flowers receiving pollen emitted by a GM field and the percentage of adventitious GM-DNA established in Table S5.

In particular, these tables allow the user of the MAPOD® model (Angevin et al. 2008) to take into account stacking. The outputs of the MAPOD® model are the percentages of non-GM flowers receiving pollen from a GM field (***P%***). For 15 possible values of ***P%*** comprised within 0.02 and 8% and for a given number of events and a given stacking structure for the emitting GM fields (considering that all of them are sown with a similar variety), these tables can be used to determine intervals of rates of adventitious GM presence in terms of GM kernels percentages (***S%***). For a given number of events and considering a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio, these tables can also be used to determine the rate of adventitious GM presence in terms of GM-DNA percentage (***DNA%***). For other values of ***P%***, ***S%,*** and ***DNA%*** can be calculated using the formulas given in Tables S4 and S5.

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Table S10a Abacus to account for stacking in pollen flow studies. Stacking structures are numbered according to Figure 1

Percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field (*P%*)			8.00		6.00		4.00		2.00	
	Number of events (*N*)	**Stacking structure**	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*
Percentage of GM kernels (*S%*)	1		4.000		3.000		2.000		1.000	
	2	1	4.000	6.000	3.000	4.500	2.000	3.000	1.000	1.500
		2	6.000	8.000	4.500	6.000	3.000	4.000	1.500	2.000
		3	6.000		4.500		3.000		1.500	
	3	1	4.000	6.250	3.000	4.688	2.000	3.125	1.000	1.563
		2	7.000	8.000	5.250	6.000	3.500	4.000	1.750	2.000
		3	6.000	7.000	4.500	5.250	3.000	3.500	1.500	1.750
		4	7.000	8.000	5.250	6.000	3.500	4.000	1.750	2.000
		5	7.000		5.250		3.500		1.750	
	4	1	4.000	6.480	3.000	4.860	2.000	3.240	1.000	1.620
		2	6.000	8.000	4.500	6.000	3.000	4.000	1.500	2.000
		3	6.000	8.000	4.500	6.000	3.000	4.000	1.500	2.000
		4	6.000	7.120	4.500	5.340	3.000	3.560	1.500	1.780
		5	6.000	8.000	4.500	6.000	3.000	4.000	1.500	2.000
		6	7.000	8.000	5.250	6.000	3.500	4.000	1.750	2.000
		7	7.000	8.000	5.250	6.000	3.500	4.000	1.750	2.000
		8	7.520	8.000	5.640	6.000	3.760	4.000	1.880	2.000
		9	7.000	7.520	5.250	5.640	3.500	3.760	1.750	1.880
		10	7.520	8.000	5.640	6.000	3.760	4.000	1.880	2.000
		11	7.520		5.640		3.760		1.880	
GM-DNA percentage for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio (*DNA%*)	1		1.667		1.250		0.833		0.417	
	2		3.333		2.500		1.667		0.833	
	3		5.000		3.750		2.500		1.250	
	4		6.668		5.000		3.333		1.667	

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Table S10b Abacus to account for stacking in pollen flow studies. Stacking structures are numbered according to Figure 1

Percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field (*P%*)			1.80		1.60		1.40		1.20	
	Number of events (*N*)	**Stacking structure**	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*
Percentage of GM kernels (*S%*)	1		0.900		0.800		0.700		0.600	
	2	1	0.900	1.350	0.800	1.200	0.700	1.050	0.600	0.900
		2	1.350	1.800	1.200	1.600	1.050	1.400	0.900	1.200
		3	1.350		1.200		1.050		0.900	
	3	1	0.900	1.406	0.800	1.250	0.700	1.094	0.600	0.938
		2	1.575	1.80	1.400	1.600	1.225	1.400	1.050	1.200
		3	1.350	1.575	1.200	1.400	1.050	1.225	0.900	1.050
		4	1.575	1.80	1.400	1.600	1.225	1.400	1.050	1.200
		5	1.575		1.400		1.225		1.050	
	4	1	0.900	1.458	0.800	1.296	0.700	1.134	0.600	0.972
		2	1.350	1.800	1.200	1.600	1.050	1.400	0.900	1.200
		3	1.350	1.800	1.200	1.600	1.050	1.400	0.900	1.200
		4	1.350	1.602	1.200	1.424	1.050	1.246	0.900	1.068
		5	1.350	1.800	1.200	1.600	1.050	1.400	0.900	1.200
		6	1.575	1.800	1.400	1.600	1.225	1.400	1.050	1.200
		7	1.575	1.800	1.400	1.600	1.225	1.400	1.050	1.200
		8	1.692	1.800	1.504	1.600	1.316	1.400	1.128	1.200
		9	1.575	1.692	1.400	1.504	1.225	1.316	1.050	1.128
		10	1.692	1.800	1.504	1.600	1.316	1.400	1.128	1.200
		11	1.692		1.504		1.316		1.128	
GM-DNA percentage for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio (*DNA%*)	1		0.375		0.333		0.292		0.250	
	2		0.750		0.667		0.583		0.500	
	3		1.125		1.000		0.875		0.750	
	4		1.500		1.333		1.167		1.000	

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Table S10c Abacus to account for stacking in pollen flow studies. Stacking structures are numbered according to Figure 1

Percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field (*P%*)			1.00		0.80		0.60		0.40	
	Number of events (*N*)	**Stacking structure**	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*
Percentage of GM kernels (*S%*)	1		0.500		0.400		0.300		0.200	
	2	1	0.500	0.750	0.400	0.600	0.300	0.450	0.200	0.300
		2	0.750	1.000	0.600	0.800	0.450	0.600	0.300	0.400
		3	0.75		0.600		0.450		0.300	
	3	1	0.500	0.781	0.400	0.625	0.300	0.469	0.200	0.313
		2	0.875	1.000	0.700	0.800	0.525	0.600	0.350	0.400
		3	0.750	0.875	0.600	0.700	0.450	0.525	0.300	0.350
		4	0.875	1.000	0.700	0.800	0.525	0.600	0.350	0.400
		5	0.875		0.700		0.525		0.350	
	4	1	0.500	0.810	0.400	0.648	0.300	0.486	0.200	0.324
		2	0.750	1.000	0.600	0.800	0.450	0.600	0.300	0.400
		3	0.750	1.000	0.600	0.800	0.450	0.600	0.300	0.400
		4	0.750	0.890	0.600	0.712	0.450	0.534	0.300	0.356
		5	0.750	1.000	0.600	0.800	0.450	0.600	0.300	0.400
		6	0.875	1.000	0.700	0.800	0.525	0.600	0.350	0.400
		7	0.875	1.000	0.700	0.800	0.525	0.600	0.350	0.400
		8	0.940	1.000	0.752	0.800	0.564	0.600	0.376	0.400
		9	0.875	0.940	0.700	0.752	0.525	0.564	0.350	0.376
		10	0.940	1.000	0.752	0.800	0.564	0.600	0.376	0.400
		11	0.940		0.752		0.564		0.376	
GM-DNA percentage for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio (*DNA%*)	1		0.208		0.167		0.125		0.083	
	2		0.417		0.333		0.250		0.167	
	3		0.625		0.500		0.375		0.250	
	4		0.833		0.667		0.500		0.333	

Transgenic Research, 2012, 21, 243-256, DOI: 10.1007/s11248-011-9527-5
The original publication is available at www.springerlink.com

Table S240d Abacus to account for stacking in pollen flow studies. Stacking structures are numbered according to Figure 1

Percentage of non-GM flowers receiving pollen from a GM field (*P%*)			0.20		0.10		0.02	
	Number of events (*N*)	**Stacking structure**	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*	*minimum*	*maximum*
Percentage of GM kernels (*S%*)	1		0.100		0.050		0.010	
	2	1	0.100	0.150	0.050	0.075	0.010	0.015
		2	0.150	0.200	0.075	0.100	0.015	0.020
		3	0.150		0.075		0.015	
	3	1	0.100	0.156	0.050	0.078	0.010	0.016
		2	0.175	0.200	0.094	0.100	0.018	0.020
		3	0.150	0.175	0.075	0.088	0.015	0.018
		4	0.175	0.200	0.088	0.100	0.018	0.020
		5	0.175		0.088		0.018	
	4	1	0.100	0.162	0.050	0.081	0.010	0.016
		2	0.150	0.200	0.075	0.100	0.015	0.020
		3	0.150	0.200	0.075	0.100	0.015	0.020
		4	0.150	0.178	0.075	0.089	0.015	0.018
		5	0.150	0.200	0.075	0.100	0.015	0.020
		6	0.175	0.200	0.088	0.100	0.018	0.020
		7	0.175	0.200	0.088	0.100	0.018	0.020
		8	0.1800	0.200	0.094	0.100	0.019	0.020
		9	0.175	0.188	0.088	0.094	0.018	0.019
		10	0.188	0.200	0.094	0.100	0.019	0.020
		11	0.188		0.094		0.019	
GM-DNA percentage for a 50%/50% embryo/endosperm DNA ratio (*DNA%*)	1		0.042		0.021		0.004	
	2		0.083		0.042		0.008	
	3		0.125		0.063		0.013	
	4		0.167		0.083		0.017	

References

Angevin F, Klein EK, Choimet C, Gauffreteau A, Lavigne C, Messéan A, Meynard JM (2008) Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: the MAPOD® model. Eur. J. Agron 28: 471 – 484

Messéan A, Angevin F, Gómez-Barbero M, Menrad K, Rodríguez-Cerezo E (2006) New cases studies on the co-existence of GM and non-GM in European agriculture. Technical reports series, European Commission, Joint Research Centre, Spain, EUR 22102 En, 112p

Annexe 2

Annexe 2.1: Situations utilisées dans l'étude du décalage entre floraisons mâle et femelle

	1997		1998		1999		2000		2001		2002	
Variétés	Le Mag	La Min	Le Mag	La Min	Le Mag	La Min	Le Mag	La Min	Le Mag	La Min	Le Mag	La Min
LG2208					X							
LG2234			X	X								
LG2243			X	X	X							
LG2280			X	X	X	X						
LG2289	X				X							
ANJOU228	X	X										
ABONDANCE	X	X										
AZTEC					X							
ECRIN					X		X	X				
RPG929					X		X	X				
COCKTAIL							X	X	X	X		
KRONOF							X	X	X	X		
ECU							X	X	X	X		
ANJOU219							X	X	X	X		
ANJOU238							X	X	X	X		
MHM8569							X	X	X	X		
BERING									X	X	X	X
ARTEUIL									X	X	X	X
MAGISTRAL									X	X	X	X
ANTARTIC									X	X	X	X
MONTEVIDEO									X	X	X	X

Le Mag : Le Magneraud (Charente-Maritime)
La Min : Guyancourt (Yvelines)

Annexe 2.2 : Situations étudiées pour la validation de la dynamique de floraison de MAPOD®

VARIETES	TYPE	GROUPE DE PRÉCOCITÉ (SELON LE GEVES)	1997				1998				1999				2000				2001				2002			
			Mag		Min		Mag		Min		Mag		Min		Mag		Min		Mag		Min		Mag		Min	
			M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
LG2208	Grain/Fourrage	Précoce	X		X				X		X	X	X													
LG2234	Fourrage	Très précoce					X	X	X	X																
LG2243	Fourrage	Précoce	X		X		X	X	X	X	X	X	X													
LG2244	Grain	Précoce			X				X																	
LG2280	Grain	Précoce					X	X	X	X	X	X	X	X												
LG2289	Grain/Fourrage	Précoce	X	X		X					X	X	X													
ANJOU228	Grain	Très précoce	X	X	X	X																				
ANJOU258	Grain	Précoce	X	X	X	X			X		X	X														
ABONDANCE	Fourrage	Très précoce	X	X	X	X																				
AZTEC	Fourrage	Très précoce							X		X	X	X													
ANJOU219	Grain	Très précoce													X	X	X	X	X	X	X	X				
ANJOU238	Fourrage	Très précoce													X	X	X	X	X	X	X	X				
ARTEUIL	Fourrage	Précoce																	X	X	X	X	X	X	X	X
BERING	Grain	Très précoce																	X	X	X	X	X	X	X	X
ECU	Fourrage	Précoce													X	X	X	X	X	X	X	X				
ECRIN	Grain/Fourrage	Très précoce									X	X	X		X	X	X	X								
KRONOF	Grain/Fourrage	Très précoce													X	X	X	X	X	X	X	X				
MAGISTRAL	Grain/Fourrage	Précoce																	X	X	X	X	X	X	X	X
MONTEVIDEO	Fourrage	Très précoce																	X	X	X	X	X	X	X	X
ANTARTIC	Fourrage	Très précoce																	X	X	X	X	X	X	X	X
COCKTAIL	Grain/Fourrage	Très précoce													X	X	X	X	X	X	X	X				
MHM8569	Fourrage	Précoce à demi-précoce													X	X	X	X	X	X	X	X				
RPG929	Grain/Fourrage	Précoce									X	X	X		X	X	X	X								

Mag : Le Magneraud (Charente-Maritime)
Min : La Minière, Guyancourt (Yvelines)
M : mâle
F : femelle

Annexe 2.3 : Fréquence des mesures au champ sur les deux sites d'expérimentation

Années	Lieu	Nombre de jours d'étude	Intervalle moyen entre deux mesures	Intervalle max. entre deux mesures	Intervalle min. entre deux mesures
1997	La Minière	15	1,7 jour	3 jours	1 jour
	Le Magneraud	12	1 jour	1 jour	1 jour
1998	La Minière	22	2 jours	3 jours	1 jour
	Le Magneraud	10	1,1 jour	2 jours	1 jour
1999	La Minière	21	2,3 jours	5 jours	1 jour
	Le Magneraud	15	1 jour	1 jour	1 jour
2000	La Minière	15	2,1 jours	3 jours	2 jours
	Le Magneraud	15	1,2 jour	2 jours	1 jour
2001	La Minière	17	1,7 jour	3 jours	1 jour
	Le Magneraud	15	1 jour	1 jour	1 jour
2002	La Minière	13	2,2 jours	5 jours	1 jour
	Le Magneraud	18	2 jours	3 jours	1 jour

Annexe 2. 4 : Variétés suivies lors des essais au GEVES de 2006 à 2008

Nom de la variété	Code dans les figures	Date de première inscription	Zone de précocité (grain)	Indice FAO	Obtenteur
Méribel	1	2001	A	180-250	KWS
LG2275	2	2004	A-B	240-310	Limagrain
PR39R10	3	2001	A	180-250	Pioneer
Sulli	4	2002	A	180-250	Caussade
ES Annabelle	5	2004	B	240-310	Euralis
Panther	6	2002	B	240-310	Advanta
DK 315	7	2002	C1	300-370	Monsanto
Dior	8	2002	C2	350-420	Maïsadour
Saxxoo	*9*	*2000*	*C2*	*350-420*	*R2N*
PR37F73	*91*	*2006*	*D*	*350-420*	*Pioneer*
DK532	*92*	*2000*	*D- E1*	*400-470*	*Monsanto*
ES Cajou	*93*	*2006*	*E2*	*450-520*	*Euralis*
PR36K67	*94*	*2005*	*E1*	*400-470*	*Pioneer*

Les variétés en italique n'ont été étudiées qu'en 2008.

Légende :
A : Très précoce
B : Précoce
C1 : Précoce à demi précoce
C2 : Demi précoces à demi tardive
D : Demi tardive
E1 : Tardive
E2 : Très Tardive

Annexe 3

Annexe 3.1 : Vue générale de la zone de Foixà (Catalogne, Espagne ; source : IRTA)

Latitude : 42º 2' N, longitude : 3º 2'E,
altitude : 50 m

Annexe 3.2 : Nombre et surface des parcelles OGM et non-OGM dans la zone de Foixà suivant les années d'étude

Année	GM		Non-GM	
	Nb. de parcelles	Surface (ha)	Nb. de parcelles	Surface (ha)
2004	25 (44.6 %)	49.21 (53.2 %)	31 (55.4 %)	43.31 (46.8 %)
2005	13 (25.0 %)	20.10 (24.4 %)	39 (75.0 %)	62.14 (75.6 %)
2006	21 (42.0 %)	39.80 (47.9 %)	29 (58.0 %)	43.34 (52.1 %)
2007	39 (81.2 %)	67.62 (83.9 %)	9 (18.8 %)	12.93 (16.1 %)
2008	38 (77.6 %)	63.16 (78.3 %)	11 (22.4 %)	22.4 (21.7 %)

Annexe 3.3 : Nombre de points échantillonnés par champ

Année	IDFIELD	Total	Standard	Contour	Transect	Stratified
2004	3120	39	39			
2004	3122	20	20			
2004	3194	20	20			
2004	3802	28	28			
2004	4017	28	28			
2004	4030	28	28			
2004	4033	17	17			
2005	3024	37	37			
2005	3114	6	6			
2005	3115	28	28			
2005	3122	28	28			
2005	3801	28	28			
2006	3105	56	28	8	8	12
2006	3192	56	28	8	8	12
2006	4017	56	28	8	8	12
2006	4030	56	28	8	8	12
2006	4040	60	32	8	8	12
2007	3101	44	28	8		8
2007	3103	15		8		7
2007	3192	44	28	8		8
2007	3540	44	28	8		8
2007	3800	16		8		8
2007	4017	16		8		8
2007	4196	44	28	8		8
2008	3117	16		8		8
2008	4016	16		8		8
2008	4017	16		8		8

IDFIELD : Identifiant du champ

Standard : échantillonnage à 0.3, 10 et 30 m à partir de huit points d'entrée dans la parcelle - trois épis par point de prélèvement.
Contour : échantillonnage entre 3 et 10 m ; deux répétitions sur chaque bord - dix épis par point de prélèvement.
Transect : échantillonnage tous les 10 m selon un seul chemin dans la parcelle (Cf. Figure 29) - dix épis par point de prélèvement
Stratified : échantillonnage à 0.3, 10 et 30 m à partir de chaque bord - dix épis par point de prélèvement

Annexe 3.4 : Caractéristiques des variétés utilisées comme données d'entrée dans les simulations avec MAPOD®

Hauteurs d'épi et de panicule

Ces données ont été fournies par les responsables de la DHS en France et en Espagne pour les variétés suivantes : SF1112T, PR33P67, PR33B51, PR32W04, PR32R43, PR31N28, OROPESA, OBOE, JARAL BT, HELEN, DKC6418, CECILIA, DKC6575. Pour les autres variétés, ces hauteurs ont été calculées à partir de la moyenne des valeurs des variétés ayant le même indice de maturité (Sources : Catalogue Européen des espèces de grandes cultures et IRTA).

Précocités

Sur la zone de Foixà, des suivis de floraison ont été effectués de 2004 à 2007. Grâce à ces données, la précocité de chaque variété a été estimée comme la moyenne du nombre de degrés-jours entre le semis et la date où 50 % des plantes étaient fleuries. Pour les cultivars qui n'ont été cultivés qu'en 2008, c'est-à-dire CARELLA, CARELLAYG, DKC6450, DKC645, une estimation a été réalisée à partir de la moyenne des valeurs des variétés ayant le même indice de maturité (Source : Catalogue Européen des espèces de grandes cultures).

Quantités de pollen

Dans le cadre du projet GCOM2AP, des travaux ont permis d'établir des relations entre les quantités de pollen produites en moyenne par plante et des caractéristiques architecturales des panicules (Ricci *et al.*, 2012). Comme pour les hauteurs, les données sont issues des procédures de DHS en France et en Espagne. Pour les variétés où les données étaient manquantes, des moyennes des valeurs des cultivars ayant le même indice de maturité ont été utilisées.

Les mesures de DHS requises étaient :

- Nombre d'épillets sur 5 cm de brin maitre (*nE5Bm*)
- Nombre de ramifications (*nRam*)
- Longueur du brin maître (*LBm*)
- Longueur moyenne des ramifications (*LRam*)

Pour chaque variété, le nombre total d'épillets (*nEtot*) a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$nEtot = (nE5Bm \times LBm/5) + nRam \times (nE5Bm/2{,}8 \times LRam/5)$$

La quantité totale de pollen produite par panicule a été estimée à l'aide de l'équation établie grâce aux résultats obtenus dans les essais de capture du pollen menés au GEVES en 2008 et 2009 (Ricci *et al.*, 2012) :

$Qpollen = a \times nEtot + b$
avec a = 12400 et b = 1067000

Précocité, dates de semis et de floraison (2004 à 2008)

Champ	Type	Variété	Groupe de précocité	Date de semis	Date de floraison
3024	Conventional	PR34N43	500	17/03/2004	16/07/2004
3025	Conventional	CECILIA	500	16/03/2004	30/06/2004
3036	GM	PR33P67	600	03/06/2004	04/08/2004
3043	Conventional	CECILIA	500	05/03/2004	25/06/2004
3048	Conventional	ELEONORA	700	25/03/2004	11/07/2004
3094	Conventional	PR32A68	700	15/03/2004	03/07/2004
3101	Conventional	ELEONORA	700	25/03/2004	14/07/2004
3104	GM	DKC6575	700	20/04/2004	15/07/2004
3105	GM	PR33P67	600	20/05/2004	25/07/2004
3106	GM	PR33P67	600	10/05/2004	26/07/2004
3111	GM	PR33P67	600	10/05/2004	25/07/2004
3113	GM	PR33P67	600	22/05/2004	28/07/2004
3114	Conventional	PR32W86	700	20/03/2004	04/07/2004
3115	Conventional	PR32W86	700	20/03/2004	07/07/2004
3116	GM	PR33P67	600	20/05/2004	27/07/2004
3117	Conventional	ELEONORA	700	15/03/2004	09/07/2004
3118	Conventional	HELEN	700	20/04/2004	14/07/2004
3120	Conventional	CECILIA	500	18/05/2004	01/08/2004
3121	Conventional	ELEONORA	700	10/03/2004	07/07/2004
3122	Conventional	OBOE	700	17/03/2004	30/06/2004
3125	GM	DKC6575	700	23/05/2004	28/07/2004
3190	GM	PR33P67	600	05/06/2004	05/08/2004
3192	Conventional	ELEONORA	700	03/03/2004	07/07/2004
3193	Conventional	ELEONORA	700	10/03/2004	07/07/2004
3194	Conventional	NKTIZONA	400	10/03/2004	28/06/2004
3195	GM	PR33P67	600	24/05/2004	29/07/2004
3197	Conventional	PR34N43	500	15/03/2004	30/06/2004
3701	Conventional	PR32A68	700	18/03/2004	06/07/2004
3702	Conventional	PR32A68	700	18/03/2004	06/07/2004
3801	Conventional	CECILIA	500	01/06/2004	05/08/2004
3802	Conventional	CECILIA	500	01/06/2004	05/08/2004
3901	GM	PR33P67	600	30/05/2004	01/08/2004
3902	GM	PR33P67	600	30/05/2004	01/08/2004
4011	GM	PR33P67	600	10/05/2004	23/07/2004
4012	Conventional	ELEONORA	700	25/03/2004	11/07/2004
4013	GM	PR33P67	600	24/05/2004	01/08/2004
4016	GM	DKC6575	700	21/05/2004	27/07/2004
4017	Conventional	MATARO	600	25/05/2004	01/08/2004
4018	GM	PR33P67	600	22/05/2004	02/08/2004
4020	GM	PR33P67	600	20/05/2004	25/07/2004
4027	GM	PR33P67	600	30/05/2004	05/08/2004
4028	GM	PR33P67	600	07/06/2004	12/08/2004
4029	Conventional	NKMITIC	600	10/03/2004	07/07/2004
4030	Conventional	MARZIA	600	10/06/2004	11/08/2004
4033	Conventional	PR34N43	500	25/03/2004	02/07/2004
4034	GM	PR33P67	600	25/05/2004	02/08/2004
4036	GM	PR33P67	600	25/05/2004	04/08/2004
4038	GM	PR33P67	600	05/06/2004	11/08/2004
4040	GM	NKBRAMA	600	25/05/2004	31/07/2004
4041	Conventional	PR33R77	600	15/03/2004	14/07/2004
4190	Conventional	OROPESA	700	02/06/2004	05/08/2004
4191	GM	PR33P67	600	10/05/2004	21/07/2004
4192	GM	PR33P67	600	28/05/2004	31/07/2004
4196	Conventional	ELEONORA	700	03/03/2004	07/07/2004
4198	Conventional	ELEONORA	700	25/03/2004	07/07/2004
4199	Conventional	ELEONORA	700	15/03/2004	07/07/2004

Champ	Type	Variété	Groupe de précocité	Date de semis	Date de floraison
3017	GM	DKC6575	700	25/04/2005	09/07/2005
3024	Conventional	PR34N43	500	03/04/2005	21/06/2005
3025	GM	JARALBt	600	20/03/2005	25/06/2005
3036	Conventional	CECILIA	500	20/03/2005	28/06/2005
3039	Conventional	PR31G98	700	15/03/2005	23/06/2005
3043	Conventional	CECILIA	500	04/03/2005	22/06/2005
3045	Conventional	PR31G98	500	15/03/2005	29/06/2005
3046	Conventional	PR31G98	500	15/03/2005	29/06/2005
3048	Conventional	ELEONORA	700	17/03/2005	29/06/2005
3094	GM	JARALBt	600	23/03/2005	21/06/2005
3101	Conventional	ELEONORA	700	15/04/2005	03/07/2005
3103	Conventional	ELEONORA	700	15/04/2005	03/07/2005
3105	Conventional	PR32W86	700	23/03/2005	26/06/2005
3106	Conventional	ELEONORA	700	05/04/2005	30/06/2005
3111	Conventional	ELEONORA	700	06/04/2005	01/07/2005
3113	GM	PR33P67	600	10/04/2005	05/07/2005
3114	Conventional	PR31G98	700	28/03/2005	25/06/2005
3115	Conventional	PR31G98	700	28/03/2005	25/06/2005
3116	Conventional	ELEONORA	700	23/03/2005	29/06/2005
3117	Conventional	PR32W86	700	20/03/2005	26/06/2005
3118	Conventional	ELEONORA	700	04/04/2005	02/07/2005
3120	Conventional	SENEGAL	600	20/04/2005	29/06/2005
3121	Conventional	ELEONORA	700	11/03/2005	22/06/2005
3122	Conventional	ELEONORA	700	19/03/2005	26/06/2005
3125	GM	PR33P67	600	10/04/2005	03/07/2005
3190	GM	DKC6575	700	25/04/2005	05/07/2005
3192	Conventional	ELEONORA	700	10/03/2005	26/06/2005
3193	Conventional	CECILIA	500	11/03/2005	22/06/2005
3194	Conventional	CECILIA	500	05/03/2005	22/06/2005
3195	Conventional	PR32W86	700	27/03/2005	25/06/2005
3701	GM	PR33P67	600	03/04/2005	29/06/2005
3702	Conventional	ELEONORA	700	25/03/2005	26/06/2005
3801	Conventional	CECILIA	500	11/05/2005	18/07/2005
3902	GM	PR32P76	700	29/03/2005	29/06/2005
4011	GM	JARALBt	600	20/04/2005	29/06/2005
4012	Conventional	HELEN	700	24/03/2005	25/06/2005
4013	GM	PR32P76	700	24/03/2005	30/06/2005
4017	Conventional	MATARO	600	24/03/2005	29/06/2005
4020	Conventional	ELEONORA	700	23/03/2005	29/06/2005
4027	Conventional	DKC6418	700	06/04/2005	25/06/2005
4028	Conventional	ELEONORA	700	23/03/2005	27/06/2005
4029	Conventional	SANCIA	600	11/03/2005	22/06/2005
4030	Conventional	SENEGAL	600	20/04/2005	09/07/2005
4033	GM	DKC6575	700	26/03/2005	25/06/2005
4034	GM	PR33P67	600	15/04/2005	03/07/2005
4036	Conventional	ELEONORA	700	10/04/2005	06/07/2005
4040	Conventional	PR32N27	700	15/03/2005	29/06/2005
4190	Conventional	OROPESA	700	11/04/2005	07/07/2005
4191	Conventional	ELEONORA	700	15/04/2005	06/07/2005
4196	Conventional	ELEONORA	700	10/03/2005	29/06/2005
4198	Conventional	ELEONORA	700	18/03/2005	26/06/2005
4199	GM	DKC6575	700	20/04/2005	05/07/2005

Champ	Type	Variété	Groupe de précocité	Date de semis	Date de floraison
3017	GM	DKC6575	700	30/04/2006	03/07/2006
3024	Conventional	OROPESA	700	03/04/2006	04/07/2006
3025	Conventional	PR34N43	500	13/03/2006	13/06/2006
3036	Conventional	PR34N43	500	22/03/2006	17/06/2006
3039	Conventional	PR32W86	700	15/03/2006	19/06/2006
3043	Conventional	CECILIA	500	10/03/2006	16/06/2006
3045	Conventional	PR32W86	700	15/03/2006	20/06/2006
3046	Conventional	PR32W86	700	15/03/2006	20/06/2006
3048	GM	PR32R43	700	25/03/2006	30/06/2006
3094	GM	PR33P67	600	11/03/2006	19/06/2006
3101	Conventional	HELEN	700	25/03/2006	19/06/2006
3103	Conventional	HELEN	700	25/03/2006	23/06/2006
3104	GM	PR33P67	600	15/03/2006	21/06/2006
3105	Conventional	ELEONORA	700	16/03/2006	23/06/2006
3106	GM	DKC6575	700	30/03/2006	19/06/2006
3111	GM	DKC6575	700	30/03/2006	20/06/2006
3114	Conventional	PR31G98	700	29/03/2006	04/07/2006
3115	Conventional	PR31G98	700	29/03/2006	04/07/2006
3116	Conventional	ELEONORA	700	16/03/2006	25/06/2006
3117	Conventional	PR32W86	700	22/03/2006	22/06/2006
3118	GM	DKC6575	700	15/04/2006	22/06/2006
3120	Conventional	CECILIA	500	10/05/2006	18/07/2006
3121	GM	DKC6575	700	25/03/2006	22/06/2006
3122	Conventional	ELEONORA	700	16/03/2006	19/06/2006
3125	GM	DKC6575	700	28/04/2006	06/07/2006
3190	GM	DKC6575	700	30/04/2006	02/07/2006
3192	Conventional	ELEONORA	700	10/03/2006	21/06/2006
3193	Conventional	ELEONORA	700	14/03/2006	20/06/2006
3194	Conventional	CECILIA	500	12/03/2006	16/06/2006
3195	Conventional	ELEONORA	700	16/03/2006	19/06/2006
3197	Conventional	PR32W86	700	18/03/2006	18/06/2006
3701	Conventional	ELEONORA	700	13/03/2006	21/06/2006
3702	GM	PR33P67	600	11/03/2006	17/06/2010
3801	Conventional	PR34N43	500	25/05/2006	25/07/2006
4011	GM	PR33P67	600	20/04/2006	30/06/2006
4012	GM	SF1112T	700	13/03/2006	17/06/2006
4016	GM	DKC6575	700	22/03/2006	19/06/2006
4017	Conventional	MATARO	600	03/04/2006	25/06/2006
4018	GM	PR33P67	600	15/04/2006	02/07/2006
4027	GM	DKC6575	700	15/04/2006	29/06/2006
4028	GM	JARALBt	600	01/04/2006	21/06/2006
4029	Conventional	SANCIA	600	14/03/2006	15/06/2006
4030	Conventional	CECILIA	500	08/05/2006	22/07/2006
4034	GM	PR33P67	600	03/05/2006	09/07/2010
4038	GM	DKC6575	700	12/05/2006	19/07/2006
4040	Conventional	CECILIA	500	18/04/2006	06/07/2010
4190	GM	SF1112T	700	06/04/2006	21/06/2006
4191	GM	DKC6575	700	15/04/2006	30/06/2006
4196	Conventional	ELEONORA	700	10/03/2006	25/06/2006
4198	Conventional	ELEONORA	700	16/03/2006	18/06/2006

Champ	Type	Variété	Groupe de précocité	Date de semis	Date de floraison
3024	Conventional	OROPESA	700	27/04/2007	10/07/2007
3025	GM	SF1112T	700	16/03/2007	24/06/2007
3036	GM	PR31N28	700	16/03/2007	30/06/2007
3039	GM	PR31N28	700	14/03/2007	15/06/2007
3043	GM	PR32W04	700	18/03/2007	21/06/2007
3045	GM	PR31N28	700	14/03/2007	27/06/2007
3046	GM	PR31N28	700	14/03/2007	27/06/2007
3048	GM	DKC6575	700	05/05/2007	15/07/2007
3094	GM	PR33P67	600	12/03/2007	25/06/2007
3101	Conventional	HELEN	700	20/04/2007	02/07/2007
3103	Conventional	HELEN	700	20/04/2007	08/07/2007
3104	GM	DKC6575	700	25/04/2007	11/07/2007
3105	GM	JARALBt	600	16/03/2007	24/06/2007
3106	GM	DKC6575	700	20/04/2007	03/07/2007
3111	GM	DKC6575	700	20/04/2007	03/07/2007
3113	GM	PR31N28	700	25/04/2007	11/07/2007
3117	Conventional	ELEONORA	700	16/03/2007	28/06/2007
3118	GM	DKC6575	700	20/04/2007	03/07/2007
3120	GM	ASTURIALBt	600	18/05/2007	26/07/2007
3121	GM	DKC6575	700	20/03/2007	23/06/2007
3122	GM	PR31N28	700	22/03/2007	25/06/2007
3190	GM	DKC6575	700	20/04/2007	03/07/2007
3192	Conventional	ELEONORA	700	12/03/2007	24/06/2007
3193	GM	SF1112T	700	10/03/2007	19/06/2007
3194	GM	PR33B51	600	18/03/2007	19/06/2007
3197	GM	PR31N28	700	09/03/2007	23/06/2007
3540	Conventional	PR31G98	700	27/04/2007	12/07/2010
3701	GM	PR31N28	700	12/03/2007	24/06/2007
3702	GM	PR32W04	700	12/03/2007	24/06/2007
3800	Conventional	PR34N43	500	15/06/2007	17/08/2007
3902	GM	JARALBt	600	25/04/2007	03/07/2007
4011	GM	PR33P67	600	25/04/2007	08/07/2007
4012	GM	SF1112T	700	17/03/2007	24/06/2007
4013	GM	JARALBt	600	16/03/2007	22/06/2007
4016	GM	DKC6575	700	27/03/2007	27/06/2007
4017	Conventional	MATARO	600	13/03/2007	24/06/2007
4018	GM	PR33P67	600	25/04/2007	12/07/2007
4020	GM	JARALBt	600	16/03/2007	24/06/2007
4027	GM	DKC6575	700	20/04/2007	06/07/2007
4029	GM	PR31N28	700	10/03/2007	25/06/2007
4033	GM	DKC6575	700	22/03/2007	22/06/2007
4038	GM	DKC6575	700	20/04/2007	15/07/2007
4040	GM	PR31N28	700	13/05/2007	23/07/2007
4041	GM	DKC6575	700	28/04/2007	16/07/2007
4191	GM	DKC6575	700	20/04/2007	04/07/2007
4196	Conventional	ELEONORA	700	14/03/2007	26/06/2007
4198	GM	PR31N28	700	22/03/2007	26/06/2007
4199	GM	DKC6575	700	06/05/2007	15/07/2007

Champ	Type	Variété	Groupe de précocité	Date de semis
3024	Conventional	OROPESA	700	04/04/2008
3025	GM	CARELLAYG	700	19/03/2008
3036	GM	DKC6575	700	25/04/2008
3039	Conventional	ELEONORA	700	15/03/2008
3043	GM	PR32W04	700	10/03/2008
3045	GM	PR31N28	700	15/03/2008
3046	GM	PR31N28	700	15/03/2008
3048	GM	PR31N28	700	20/03/2008
3094	GM	PR32W04	700	20/03/2008
3101	GM	PR33P67	600	28/03/2008
3103	Conventional	PR34N43	500	03/04/2008
3104	GM	PR31N28	700	06/05/2008
3106	GM	DKC6575	700	28/03/2008
3111	Conventional	DKC6450	700	28/03/2008
3113	GM	PR31N28	700	06/05/2008
3114	Conventional	OROPESA	700	30/03/2008
3115	Conventional	OROPESA	700	30/03/2008
3116	GM	PR33P67	600	07/04/2008
3117	Conventional	ELEONORA	700	22/03/2008
3118	GM	DKC6575	700	25/04/2008
3121	GM	PR31N28	700	16/03/2008
3122	GM	PR31N28	700	07/03/2008
3125	GM	DKC6575	700	10/05/2008
3190	GM	DKC6575	700	25/04/2008
3192	GM	PR31N28	700	12/03/2008
3193	GM	PR31N28	700	13/03/2008
3194	GM	PR33B51	600	13/03/2008
3195	GM	JARALBt	600	03/04/2008
3197	GM	PR31N28	700	19/03/2008
3801	Conventional	PR34N43	500	31/05/2008
4011	GM	PR31N28	700	20/03/2008
4012	GM	PR31N28	700	07/03/2008
4013	GM	JARALBt	600	01/05/2008
4016	Conventional	CARELLA	700	07/03/2008
4017	Conventional	MATARO	600	19/03/2008
4018	GM	PR31N28	700	06/05/2008
4020	GM	JARALBt	600	04/04/2008
4027	GM	DKC6575	700	28/03/2008
4028	GM	PR33P67	600	07/04/2008
4029	GM	PR31N28	700	13/03/2008
4033	GM	DKC6575	700	08/03/2008
4034	GM	JARALBt	600	28/04/2008
4038	Conventional	DKC6450	700	28/03/2008
4040	GM	PR31N28	700	01/04/2008
4041	GM	CARELLAYG	700	25/03/2008
4191	GM	DKC6451	700	28/03/2008
4196	GM	PR31N28	700	15/03/2008
4198	GM	PR31N28	700	07/03/2008
4199	GM	DKC6575	700	25/04/2008

Annexe 3.5 : Caractéristiques des parcelles

Densité de levée

Pour les parcelles irriguées, les pertes à la levée ont été estimées à 10 % (source : IRTA), soit une densité de plantes de 67 500 plantes/ha.

Une seule parcelle (4017) n'était pas irriguée. Elle a été semée à une densité de 70 000 plantes/ha. Les hypothèses suivantes ont été formulées pour les simulations avec MAPOD :

- s'il n'y avait pas de pluie au moment du semis, un taux de levée à 85 % a été considéré, soit une densité de 59 500 plantes/ha (cas de 2004, 2006, 2007) ;
- en cas de précipitations au moment du semis, le taux de levée est identique à celui des autres parcelles (90 %) soit une densité de 63 000 plantes/ha (cas de 2005 et 2008).

Stress hydrique

Pour la parcelle non irriguée, le stress hydrique avant et pendant floraison a été estimé en fonction des cumuls de précipitations (Cf. tableau ci-dessous).

Calcul du stress hydrique dans le cas de la parcelle 4017. (1) nombre de jours de pluie/le cumul de précipitation avant la floraison (les quatre jours précédant la date de floraison) ; (2) idem pendant la floraison (les huit jours suivant la date de floraison qui est une date à 50 % de floraison) ; (3) valeur choisie pour le stress avant floraison ; (4) valeur choisie pour le stress pendant floraison.

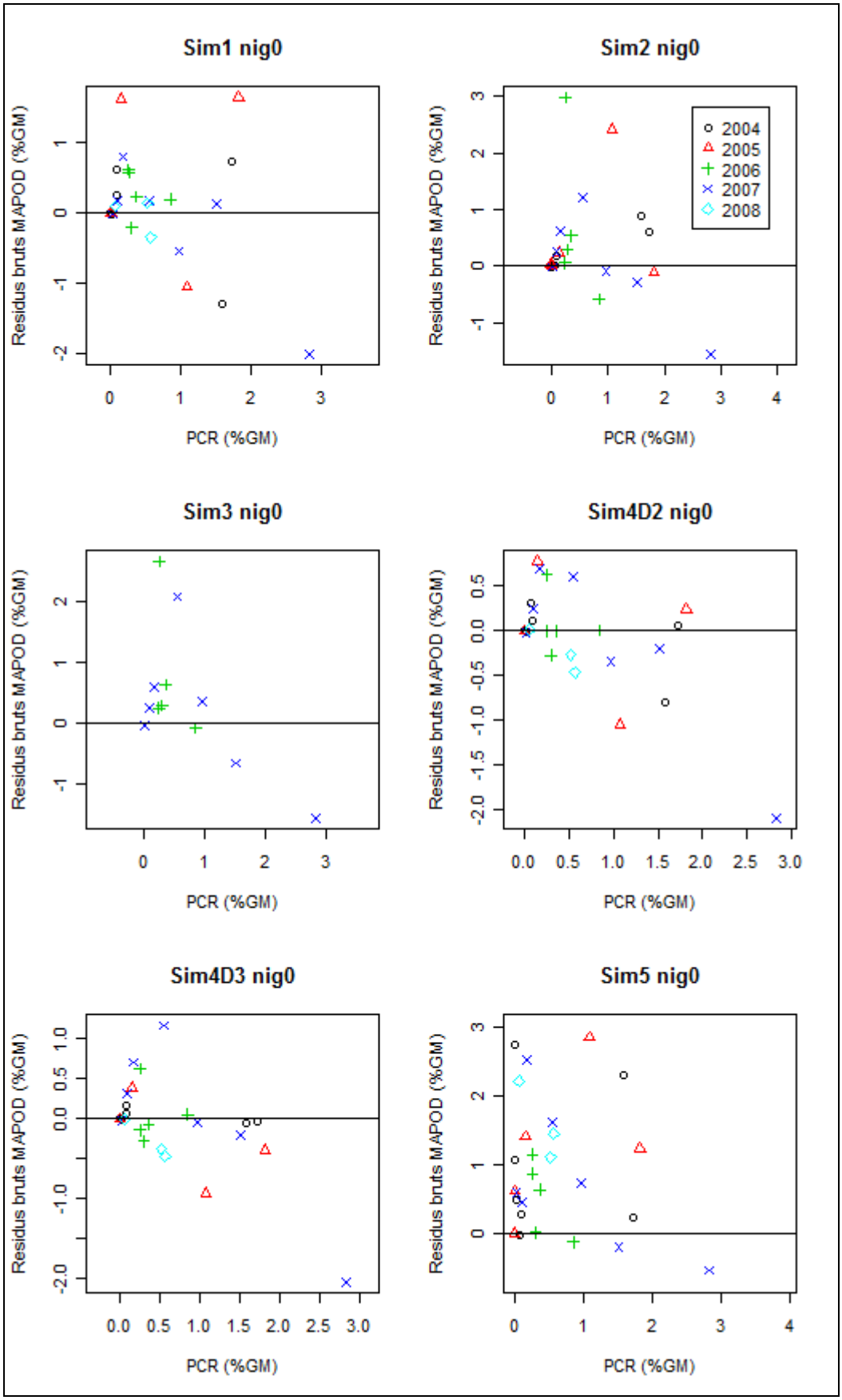
Année	Date de semis (Jours juliens)	Date floraison (Jours juliens)	(1) Pluie avant floraison (mm)	(2) Pluie pendant floraison (mm)	(3) Stress avant floraison	(4) Stress pendant la floraison
2004	146	214	22/45.58	2/0.8	Moderate	Yes
2005	83	180	34/228.62	2/0.44	Null	Yes
2006	93	176	19/25.8	1/0.2	Moderate	Yes
2007	72	175	47/228	4/1.6	Null	Yes
2008	79	180	47/239.2	1/3	Null	Yes

Annexe 4

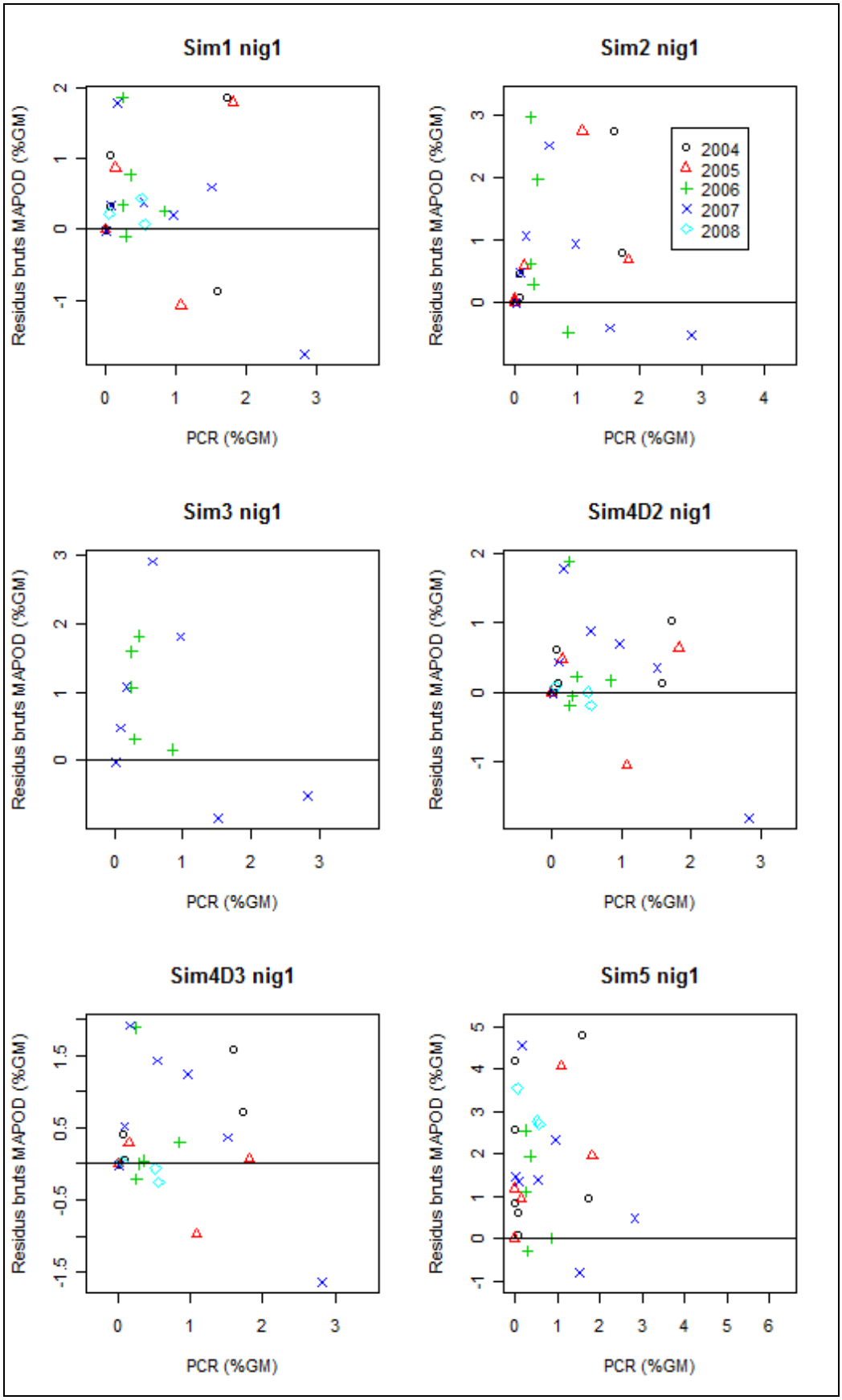
Annexe 4.1 : Pourcentage de présence fortuite GM mesurés (PCR) et prédits par MAPOD® sur chaque parcelle

Année	Champ	PCR	Sim1		Sim2		Sim3		Sim4D2		Sim4D3		Sim5	
			NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1
2004	3120	0.083	0.339	0.417	0.256	0.536			0.191	0.207	0.144	0.134	0.354	0.712
2004	3122	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000			0.000	0.000	0.000	0.000	1.058	2.563
2004	3194	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000			0.000	0.000	0.000	0.000	0.493	0.860
2004	3802	0.074	0.690	1.131	0.089	0.150			0.391	0.696	0.245	0.480	0.042	0.152
2004	4017	1.723	2.454	3.586	2.335	2.507			1.777	2.746	1.683	2.438	1.949	2.666
2004	4030	1.584	0.297	0.719	2.467	4.328			0.781	1.714	1.532	3.173	3.892	6.384
2004	4033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000			0.000	0.000	0.000	0.000	2.738	4.202
2005	3024	1.080	0.029	0.000	3.501	3.825			0.031	0.026	0.145	0.107	3.934	5.156
2005	3114	1.821	3.471	3.620	1.705	2.501			2.058	2.458	1.432	1.893	3.059	3.769
2005	3115	0.149	1.781	1.019	0.394	0.736			0.929	0.626	0.540	0.435	1.552	1.091
2005	3122	0.000	0.000	0.000	0.047	0.056			0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2005	3801	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000			0.000	0.000	0.000	0.000	0.616	1.179
2006	3105	0.847	1.040	1.103	0.265	0.367	0.781	1.001	0.853	1.016	0.901	1.146	0.718	0.855
2006	3192	0.359	0.595	1.128	0.903	2.327	1.000	2.168	0.359	0.580	0.294	0.396	0.993	2.304
2006	4017	0.253	0.830	0.598	3.232	3.221	2.926	1.843	0.251	0.061	0.114	0.041	1.402	1.351
2006	4030	0.248	0.869	2.117	0.307	0.864	0.502	1.310	0.874	2.126	0.877	2.133	1.113	2.792
2006	4040	0.295	0.087	0.199	0.592	0.584	0.600	0.611	0.019	0.240	0.015	0.296	0.311	0.000
2007	3101	0.093	0.272	0.435	0.346	0.569	0.346	0.569	0.335	0.521	0.416	0.612	0.545	1.440
2007	3103	0.174	0.978	1.956	0.788	1.244	0.788	1.244	0.868	1.952	0.879	2.087	2.703	4.737
2007	3192	0.968	0.429	1.176	0.876	1.913	1.330	2.774	0.624	1.655	0.929	2.200	1.702	3.289
2007	3540	0.551	0.724	0.941	1.772	3.064	2.641	3.453	1.156	1.432	1.720	1.975	2.163	1.924
2007	3800	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.610	1.472
2007	4017	2.823	0.816	1.055	1.271	2.307	1.271	2.307	0.719	1.016	0.779	1.188	2.283	3.301
2007	4196	1.510	1.641	2.106	1.230	1.102	0.863	0.671	1.313	1.863	1.304	1.872	1.311	0.715
2008	3117	0.518	0.662	0.958					0.251	0.521	0.138	0.453	1.623	3.288
2008	4016	0.058	0.157	0.274					0.072	0.136	0.049	0.091	2.277	3.601
2008	4017	0.565	0.221	0.635					0.099	0.374	0.100	0.308	2.013	3.272
RSME			***0.7497***	***0.9047***	***0.9518***	***1.2858***	***1.4740***	***1.6245***	***0.5701***	***0.7424***	***0.5533***	***0.8227***	***1.3259***	***2.3090***
RRMSE			***128,1 %***	***154,6 %***	***160,4 %***	***218,0 %***	***194,0 %***	***226,4 %***	***97,4 %***	***126,8 %***	***94,5 %***	***140,6 %***	***226,5 %***	***394,5 %***
Biais			***-0,095***	***-0,347***	***-0,321***	***-0,731***	***-0,409***	***-0,818***	***0,069***	***-0,228***	***0,058***	***-0,283***	***-0,950***	***-1,751***
Biais (%)			***-16,29***	***-59,27***	***-54,91***	***-124,84***	***-69,89***	***-139,70***	***11,73***	***-38,99***	***9,91***	***-48,43***	***-162,29***	***-299,11***

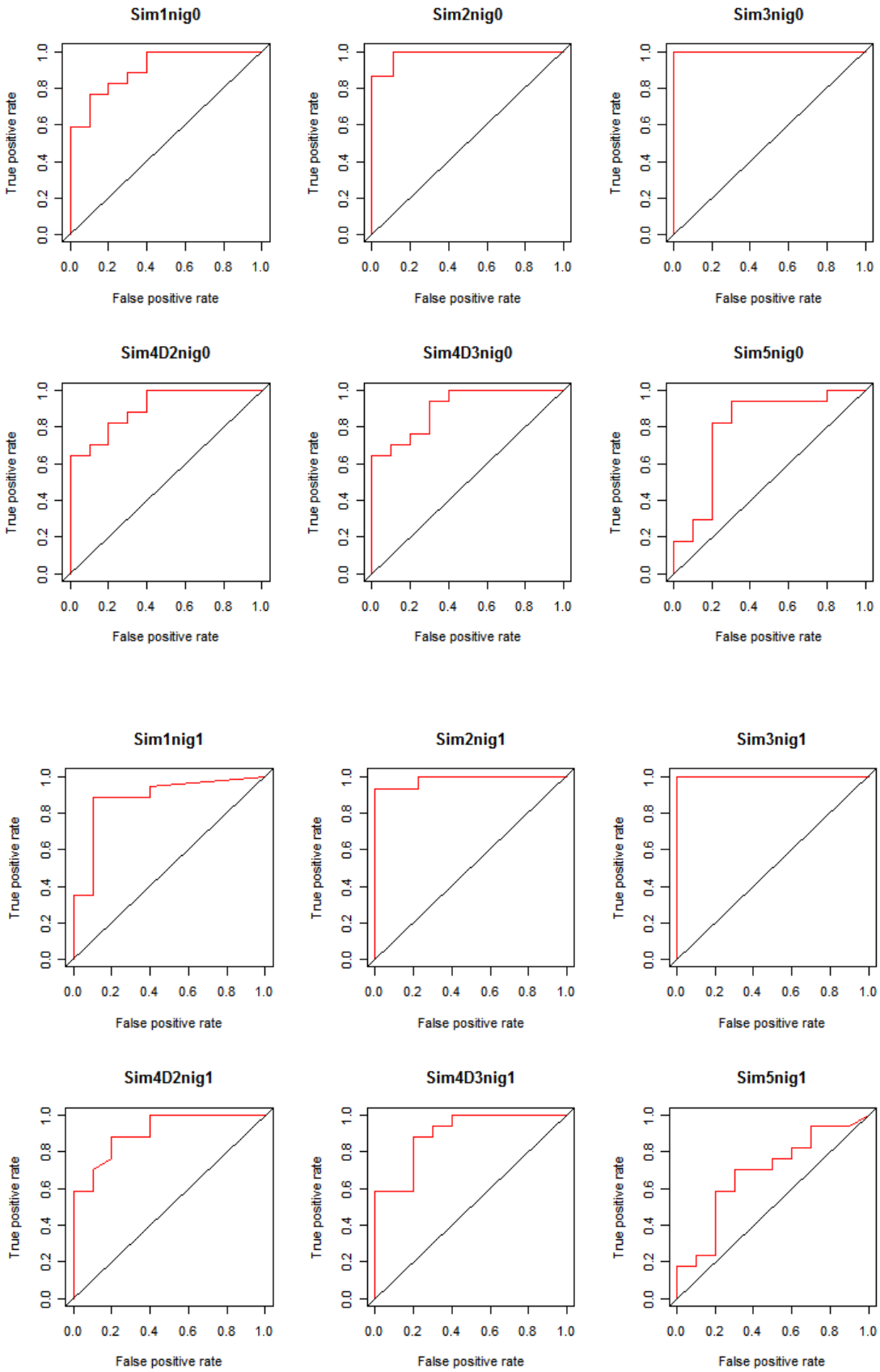
Annexe 4.2 : Résidus bruts des simulations (courbe NIG0) en fonction des mesures PCR. Pour chaque graphique, les abscisses et les ordonnées sont à la même échelle



Annexe 4.3 : Résidus bruts des simulations (courbe NIG1) en fonction des mesures PCR. Pour chaque graphique, les abscisses et les ordonnées sont à la même échelle



Annexe 4.4 : Courbes ROC des différentes simulations pour un seuil de décision de 0.1 % et pour les deux courbes de dispersion



Annexe 4.5 : P-valeurs des tests de comparaison deux à deux des courbes ROC pour les différentes simulations

Simulation		Sim1		Sim2		Sim3		Sim42		Sim43		Sim5	
	Courbe	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1	NIG0	NIG1
Sim1	NIG0												
	NIG1	0,544											
Sim2	NIG0	0,274	0,191										
	NIG1	0,264	0,186	1									
Sim3	NIG0	0,480	0,480	0,405	0,480								
	NIG1	0,480	0,480	0,405	0,480	1							
Sim42	NIG0	1	0,603	0,273	0,285	0,405	0,405						
	NIG1	0,934	0,532	0,253	0,264	0,405	0,405	0,891					
Sim43	NIG0	1	0,699	0,245	0,272	0,373	0,373	1	0,923				
	NIG1	0,896	0,746	0,187	0,211	0,373	0,373	0,837	0,653	0,837			
Sim5	NIG0	0,390	0,542	0,180	0,178	0,317	0,317	0,382	0,383	0,391	0,446		
	NIG1	0,102	0,171	**0,0147 ***	**0,0143 ***	**0,0143 ***	**0,0143 ***	0,089	0,087	0,090	0,110	**0,0303 ***	

Annexe 5

Executive Summary

Consumers, food/feed industry and retailers demand a reasonable degree of choice between GMO- and non-GMO-derived products. But different modes of agricultural production are not naturally compartmentalised. If GM crops increase their share in EU agriculture (which is now minimal) questions arise concerning their possible co-existence with non-GM crops (conventional and organic) at farm level or regional level. Some of these questions are of agronomic and economic nature, and these are addressed in this report:

- *What will be the levels of adventitious presence of GM crops in organic or conventional crops, with current farming practices if the share of GM crops increases to 10% or 50%?*

The study was done for three crops for which GM varieties are available (oilseed rape for seed production, maize for feed production and potatoes for consumption), and for several farm types (both organic and conventional) that were defined to cover the variability present in EU farming infrastructure. For all crop-farm combinations, a hypothetical share of GM crops of 10% or 50% in the region was considered. A share of 50% mimics the situation in countries that adopted GM crops readily (for example the share of GM oilseed rape in Canada is currently 54%), while the 10% figure represents a scenario of slow adoption of GM crops in the EU.

In these scenarios, an estimation of the expected levels of adventitious presence of GM crops in non-GM crops was done with a combination of computer modelling and expert opinion. The estimations have a strong relative value (i.e. they are useful in predicting the effect of a change in farming practices) but the absolute figures obtained have to be taken with care since the models are not yet fully adjusted with field data.

The estimated levels of adventitious presence of GM crops do not change dramatically between the two scenarios of GM crop share (10% or 50%). A practical consequence is that measures to prevent adventitious presence of GM crops (see below) may have to be implemented in the early stages of adoption.

On the other hand, the estimated levels of adventitious presence of GM crops in non-GM crops - assuming the current farming practices specified in the study- vary significantly depending on the crop and farm type (for example, as much as 2.2% for a conventional intensive maize farm or as low as 0.1% for an organic potato farm). In general there is a trend to expect lower levels of adventitious presence of GM crops on organic farms, because of segregation systems already in place, but there are notable exceptions. For example in seed production of rape, organic farms will face higher probability of adventitious presence of GM crops due to problems in controlling volunteers with organic practices.

Sources of adventitious presence of GM crops are well known, and can be divided into four main origins (seed impurities, cross-pollination, volunteers and harvesting-storage practices). The relative importance of each source for the final level depends on the crop and farm type: volunteers are a key source of adventitious presence of GM crops for rape seed farms (especially organic) but are of low importance in maize farms, where seed impurities and cross-pollination account for most of the adventitious presence of GM maize.

- *Can this adventitious presence of GM crops in organic or conventional crops be reduced below certain policy-relevant thresholds with changed farming practices?*

Once again the answer depends on the farm-crop combination. The thresholds used in the analysis are similar to those being discussed in various regulations. These are 0.3% for seed

production of allogamous species (rape) and 1% for maize and potato crops (for food-feed uses). All farm types producing oilseed rape seed or conventional maize will be able to meet their thresholds provided they change the set of current farming practices defined in the study. It should be noted that these current farming practices are a compromise, given the diversity of European farms in this regard. Therefore, some of the changes proposed (and the estimated costs associated) could be already in use in number of farms. In some cases (dependent on farm type) changing farming practices at the individual farm level will be insufficient. In these cases changes may involve co-operation between neighbouring farms. Examples are the introduction of flowering time differences between GM and non-GM varieties, or region-wide border management. In contrast, all potato farm types and some maize farm types (organic) could meet these thresholds with the set of current farming practices defined in the study (with all the reservations already mentioned for the value of absolute figures).

- *Can adventitious presence of GM crops in organic or conventional crops be avoided?*

The possibility of changing practices to meet very low thresholds for all crops, near the analytical limit of quantification (~ 0.1%) is also considered in the report. This reflects the situation in organic farming where the use of GM varieties is not permitted (Council Regulation (EC) 1804/1999), setting a *de facto* threshold. The report concludes that a 0.1% limit will be extremely difficult to meet for any farm-crop combination in the scenarios considered (10% and 50% GMOs in the region), even with significant changes in farming practices. Perhaps some farm types producing seed of oilseed rape could approach such thresholds, but only with significant changes of farming practices.

- *What is the cost of these changes?*

In the analysis all costs are allocated to conventional or organic crop production, including those affecting primarily GMO production in case of co-operation. Compliance with the 1% and 0.3% thresholds through changes in farming practices and introduction of a monitoring system as well as likely insurance needs may result in additional costs of 1% - 10% of current product price for the farm-crop combinations studied (in the 50% scenario). Exceptions are found in the production of seed of oilseed rape, where costs can be much higher in particular farm types (up to 41%). In all cases, monitoring activities account for a large part of the additional costs. Cost reductions might be possible with segregation becoming an integrated part of agricultural practices and with decreasing costs of GMO tests. Generally, organic farms face higher costs (especially indicative insurance costs) per hectare and per tonne than conventional farms. However, when relating costs to product prices, the price premium for organic crops may reduce this difference considerably. Costs have been calculated without taking into account any changes in demand or market prices that would probably accompany an increased level of GM crops in agriculture.

- *Can the different types of production co-exist in a region?*

This question has to be examined case-by-case for each crop. However, it seems clear that co-existence with thresholds in the region of 0.1% is virtually impossible in any of the scenarios considered. When considering the 0.3% (production of seed) and 1% (food-feed production) thresholds, co-existence of GM and non-GM crops in a region (with 10% or 50% GMO share) might technically be possible but economically difficult because of the costs and complexities of changes associated. This is the case exemplified by seed production of rape. For potato the costs are much lower and no significant change of practices is needed, so co-existence could be a reality. The costs and types of adaptation of maize growers put this crop in an intermediate situation, but some types of conventional, intensive maize farms will have difficulties in a co-existence situation.

- *Can the different types of production co-exist on the same farm?*

Finally, cultivation of GM and conventional or organic crops on the same farm might be an unrealistic scenario, even for larger farms. Due to the importance of volunteers, oilseed rape seed producers will exclude growing GM crops on the same farm to avoid adventitious presence of GM seeds in their non-GM seeds. Also for maize and potatoes it would make the handling of the crops rather difficult.

Annexe 6

TECHNICAL REPORT SERIES

New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture

EUR 22102 EN

EUROPEAN COMMISSION
DIRECTORATE-GENERAL
Joint Research Centre

European Science and Technology Observatory

ipts
Institute for Prospective Technological Studies

Executive summary and conclusions

- This report analyses the need and feasibility of changes in agricultural practices to ensure coexistence between GM and non-GM crop production in the EU. The term coexistence refers to the ability of farmers to choose between conventional, organic or GM-based crop production, in compliance with the relevant EU legislation on labelling and/or purity standards. EU regulations have introduced a 0.9% labelling threshold for the adventitious presence of GM material in non-GM products. Since agriculture does not take place in a closed environment, suitable technical and organisational measures during cultivation, harvest, transport and storage may be necessary to ensure coexistence. Coexistence measures should make it possible for farmers growing non-GM crops to keep the adventitious presence of GM material in their harvest below the labelling thresholds established by Community law.
- A previous set of case studies published by an JRC/IPTS-ESTO consortium[1] concluded in 2002 that the need for coexistence measures in the EU was not general, and depended on the agricultural landscape (size, form and relative positions of GM and non-GM plots), farm typologies and the crops considered (maize, oilseed and potato were studied). This report focused on the feasibility of coexistence measures designed to be taken by non-GM crop farmers if they wished to avoid adventitious GM presence above labelling thresholds, and the possible economic consequences of having to label their crops as GM. In 2002, there were still no coexistence guidelines or decrees issued by Member States, so GM crop farmers were under no obligation to take any measure to avoid adventitious presence in non-GM crops.
- On 23 July 2003, the European Commission adopted Recommendation 2003/556/EC on guidelines for coexistence, reaffirming that measures for coexistence should be developed by the Member States. The guidelines specify that those farmers who introduce the new production type in a region should bear responsibility for implementing the farm management measures necessary to limit gene flow. Following these guidelines, measures currently being discussed by Member States are designed to be taken by GM crop farmers. Furthermore, since seeds may be a source of adventitious GM presence in agriculture, the European Commission initiated discussions on setting specific thresholds for the adventitious presence of GM seeds in conventional seeds, lower than those allowed in the final crops (0.9%). Therefore, seed production might have to operate under different coexistence requirements than crop production. These discussions are still ongoing.

Objectives

- Taking into account these developments, a new consortium JRC/IPTS-ESTO was formed in 2003[2] with the task of analysing new case studies on how GM and non-GM production systems can coexist in the same region with the probability of adventitious admixture

1 Scenarios for coexistence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. (2002) DG-JRC-IPTS-ESTO Technical Report EUR 20394 EN. Members of this consortium were IPTS, INRA (France); NIAB (UK); CEST (UK); Fraunhofer ISI (Germany); ADAS Consulting Ltd (UK).

2 Members of this consortium were JRC-IPTS, Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero-DAP (Spain), University of Applied Sciences of Weihenstephan and Fraunhofer-ISI (Germany), and INRA (France).

minimised by adapting farming practices, if necessary. The specific objectives are to:

- Identify agronomic measures for coexistence that could be implemented by GM crop farmers and study their techno-economic feasibility.
- Introduce the landscape scale for estimating gene flow and levels of adventitious presence of GM crops in non-GM crops. Also, simulate in real agricultural landscapes the efficacy and feasibility of coexistence measures.
- Identify and evaluate specific measures needed to meet the thresholds being discussed for seed production. Also, describe how different levels of initial seed purity affect the final level of adventitious presence in the crops produced.
- Study the effects of long time periods on the level of adventitious presence of GM crops. This is relevant for crops producing seeds with a long life and dormancy period, which can build banks of GM seeds in the soil.

Case studies: scope and methodological approach

- The case studies selected are seed and crop production of maize, sugar beet and cotton (plus oilseed rape for the analysis of coexistence over time) in defined EU regions. Maize is the only major GM crop authorised for cultivation in the EU and is thus a priority for coexistence research. The other crops are among the list of GM varieties in the development/authorisation pipeline[3]. The scope of the studies is agricultural production up to the farm gate.
- The report considers two scenarios for the presence of GM crops in the landscape (10% and 50% share of GM varieties in the respective crop) and different target thresholds for the level of adventitious GM presence: 0.1% and 0.9% for crop production and 0.1%, 0.3% and 0.5% for seed production.
- For each case study, the report (i) identifies key sources of adventitious GM presence in non-GM crops, (ii) estimates the levels of adventitious presence (expressed as the percentage of seeds, grains or roots harvested that are GM) with current and adapted farming practices, (iii) proposes adapted agronomic practices and technical measures to reduce adventitious presence to desired thresholds and (iv) evaluates the techno-economic feasibility of such proposals.
- To estimate the levels of adventitious GM presence and the effect of changes in farming practices, a combination of expert opinion and gene flow models are used. These models can operate at landscape level, and take into account agricultural practices, climate and crop rotations.
- The report describes in specific appendixes the status of validation of these models with field data, a process that is on-going. In addition to the prediction of adventitious presence levels, the ability to simulate, compare and rank specific coexistence measures according to their efficiency is what makes models a unique tool for the purpose of these case studies.

Coexistence in maize crop production

- Maize is a major crop in the EU. Grain maize is grown for its dry seed, which is processed into a range of animal and human foods. France is the leading EU grower of grain maize (nearly 2 million hectares), and GM maize is the only GM crop grown commercially in the EU (mainly in Spain, where 58 000 hectares were grown in 2004). The region of Poitou-Charentes accounts for 12% of maize production in France and is selected as a case study because of the potential adoption of GM maize varieties (for controlling weeds and/or corn borer infestations) and the availability of a digitised dataset on the maize field landscape.

Key sources of adventitious presence and measures to reduce it

- Three key sources of adventitious presence are identified for maize crops: traces of GM seeds in non-GM seed lots, cross-pollination from neighbouring GM fields, and the sharing of harvesting machinery between GM and non-GM fields. For current GM maize varieties, simulations using the MAPOD® model show that the contribution of initial seed impurities to final adventitious GM presence is roughly additive. Different levels of GM traces in seeds (ranging from 0.01% to 0.5%) are considered in the report for quantifying the final adventitious GM presence in the crop. Based on expert opinion and a literature review, it is estimated that the contribution of harvesting machinery ranges from 0% (dedicated harvesters) to 0.4% (shared harvesters and lack of cleaning practices).
- The contribution of cross-pollination and the strategies to reduce it are first tested by performing simulations with MAPOD® in a simple one-field to one-field design. Simulations show that two variables related to the agricultural landscape (the relative position of GM and non-GM fields with respect to dominant winds and the relative sizes of neighbouring GM and non-GM fields) have a major effect. Since these parameters are difficult to change, the impact of three measures targeting GM crop growers in order to reduce gene flow is simulated. The most robust strategy is the introduction of isolation distances between GM and non-GM fields. Sowing a non-GM maize buffer strip around GM fields is also effective. Lastly, using GM varieties with different flowering dates compared with non-GM varieties is highly effective but is too dependent on meteorological conditions and hampered by associated yield losses[4].
- A decision table is provided in the report to determine the isolation distances necessary to keep adventitious GM presence due to gene flow below a desired threshold, for different field sizes and wind orientations. The decision table also shows how isolation distances can be reduced when combined with non-GM buffer strips of different widths and/or with flowering time lags. By adding the contributions from seed impurities and harvester sharing, the table offers a decision tool for selecting coexistence measures in maize.

Feasibility of coexistence at landscape level

- The one-field to one-field simulations show the importance of considering actual agricultural landscapes when estimating gene flow. A digitised version of the 23 000 ha maize landscape[5] of Poitou-Charentes, including the spatial distribution of maize fields, areas, perimeters and owners, is used as the input to the MAPOD® model. Estimations of adventitious presence levels due to cross-pollination are then carried out in actual maize field landscapes. Simulations with MAPOD® are also used to test the regional impact of selected coexistence measures (found to be efficient in the previous section). Adding the contributions due to seed impurity and shared harvesters allows the feasibility of coexistence to be studied at regional level. This is expressed in the report as the share of maize area in the region able to comply with a target coexistence threshold.

3 "Review of GMOs under research and development and in the pipeline in Europe" (2003) DG JRC-IPTS-ESTO Technical Report. European Commission (EUR 20680 EN).

4 A potentially effective measure is the use of different sowing dates for GM and non-GM varieties, which will result in different flowering dates. While this is rather difficult in the region studied, due to the narrow window of suitable weather conditions for sowing, it may be a measure worth considering in other maize regions, particularly further south.

5 The geographic information system (GIS)-based dataset was kindly provided by the Joint Research Centre - Institute for Protection and Security of the Citizen (JRC-IPSC).

- A first analysis of the landscape shows that maize fields are clustered (grouped around water supply points). These clusters vary in area and number of farmers owning one or more fields within a cluster. Farmers may decide to cultivate only one type of maize in each cluster, which reduces the analysis to coexistence between different clusters. However, there will be cases where farmers do not agree and will grow GM and non-GM maize fields in the same cluster, making it necessary to analyse intra-cluster coexistence.
- Coexistence between clusters is fairly easy. Levels of adventitious presence below the 0.9% target can be achieved simply by cleaning shared harvesters, whatever the proportion of GM maize in the landscape (10% or 50%). Coexistence between clusters may be feasible for thresholds lower than 0.9%, but then there is a need to introduce additional measures.
- Intra-cluster coexistence is also possible at regional level. In fact, if shared harvesters are cleaned, the majority of the maize area (85%-90%) would comply with a 0.9% threshold. The remaining area corresponds to fields particularly affected by cross-pollination (e.g. a small non-GM field downwind of GM fields). Achieving 100% compliance of the regional maize area for a 0.9% threshold is possible, but requires additional measures. Simulation results offer numerous solutions, from single measures (isolation distance) to combinations of reduced distances and buffer strips. Ensuring coexistence intra-cluster coexistence at 0.1% would not be technically feasible.
- Reducing the maximum adventitious presence of GM seeds in initial seed lots[6] would allow less strict coexistence measures to be adopted at crop level (e.g. reduction of mandatory isolation distances). However this entails the introduction of new coexistence measures and costs for maize seed production (see seed section below).

Economic consequences of coexistence measures

- A particular feature of mandatory isolation distances is that they do not affect all farmers equally, because the distribution of maize fields is not random. Farmers whose neighbouring fields lie beyond the isolation distance will not face economic constraints in deciding whether or not to plant GM varieties and will experience no economic impact at farm level. Using an actual maize landscape, the report studies what proportion of fields and farms would be affected in Poitou-Charentes by different isolation distances. It therefore offers a tool for reducing isolation distances to values that are effective but minimally disruptive (for example in combination with other measures).
- Farmers intending to use GM varieties but with neighbouring non-GM maize fields within the isolation distance will be constrained in their choice. Consensus expert opinion is that farmers will manage these fields by sowing non-GM maize. The economic consequences would then be related to the opportunity cost of not growing GM maize. At farm level, this cost amounts to the difference in economic performance between the GM and non-GM maize varieties[7]. At regional level, the economic effects will depend on the landscape area affected. Other aggregated economic consequences of a reduced use of GM crop varieties at regional level would need further study.

6 In the simulations, seed impurities ranged from 0% to a maximum of 0.5%.

7 No data on economic performance is available for the region studied since GM maize is not yet grown, and no ex-ante studies have been performed. Ongoing JRC studies are assessing the economic performance of GM and non-GM maize in Spain, the only EU country where there is significant cultivation.

- The economic consequences for GM farmers of introducing mandatory non-GM buffer strips again are related to the opportunity cost of not growing GM maize. At farm level, the impact on gross margins will depend on several factors, including the width of the strip and the size of the field (impacts will be higher for farmers with smaller fields, who will be more likely to opt out GM varieties if buffers strips are mandatory).
- The effectiveness of cleaning harvesters between GM and non-GM fields for coexistence is clear. A cost of €50-60 per cleaning operation is estimated. This can be reduced by organising the harvest of GM and non-GM varieties in different periods to reduce cleaning operations.

Coexistence in maize seed production

- France is the leading maize seed producer in Europe and 50% of seed production is concentrated in the South-West (used as a case study). Maize varieties are hybrids and therefore seed production plots are set up with separate rows of male lines and female lines. Such a production scheme is much more sensitive to cross-pollination from neighbouring fields than maize crop production. Seed production is carried out through contracts between seed companies and farmers under strict statutory measures (including isolation distances) to ensure purity and quality. This often includes organising groups of fields dedicated to seed production in clusters.
- Different thresholds for the presence of GM seeds in maize seeds are being discussed. The current production regime requires the complete absence of seeds other than maize, but has no specific thresholds for varietal purity (the presence of other maize varieties). However, seed operators have for years visually recorded impurities due to cross-pollination. In seeds produced in recent years, visually recorded outcrosses have fallen to an average ~0.3%, although a significant proportion of lots (30-40%) still exceeds this level.
- For maize seed production, cross-pollination is considered the only source of adventitious GM presence. The contribution of basic seeds and machinery use is considered nil in current production regimes. Since maize seed fields and crop fields are quite different in their pollen production and sensitivity to cross-pollination, two situations must be considered: coexistence between GM and non-GM seed fields (seed-seed coexistence) and coexistence between non-GM seed production and neighbouring GM crop production (seed-crop coexistence).

Seed-seed coexistence

- Seed production is organised in clusters of plots. Ensuring coexistence between GM and non-GM maize seed production plots would not require significant changes in current production techniques for a threshold of 0.5%, other than having GM and non-GM plots of similar sizes. For a 0.3% threshold, additional measures need to be taken. A decision table based on MAPOD® simulations is included to present the efficiency of different strategies. For example, arranging GM and non-GM seed plots to ensure optimum orientation with respect to the dominant wind direction or, if not feasible, increasing the current isolation distance are efficient measures. This is technically feasible since such arrangements could be specified in the contracts between the farmers involved in the same seed production cluster and the seed companies. A 0.1% threshold is not obtainable in practice under these conditions.
- The economic consequences of additional measures for GM seed farmers are variable (depending on relative field sizes and the precise combination of measures), but may exceed 20% of the gross margin, assuming

companies pay to farmers the same prices for GM and non-GM seeds. It would then be unattractive to produce GM maize seed, unless isolated clusters of suitable fields are found.

Seed-crop coexistence

- Ensuring coexistence between GM maize crop fields and non-GM seed production is difficult to achieve even for a 0.5% threshold. Among the potential measures targeting GM crop growers, increasing isolation distances is technically the most efficient. Implementing these distances (in the range of 400-600 m) would lead in practice to the exclusion of GM crop maize production from the vicinity of areas with significant seed production. The most likely alternative for farmers would be to grow non-GM crop maize, where the analysis of economic consequences is then similar to that developed above for crop coexistence and isolation distances.

Coexistence in sugar beet production

- Sugar beet is cultivated for its root and harvested before flowering. Bolting (premature flowering) and cross-pollination in sugar beet production could result in the presence of GM weed beets in non-GM fields, but not in the admixture of GM and non-GM sugar beet roots in the harvest. The only significant source of adventitious presence of GM sugar beet roots in the harvest of non-GM fields is the initial presence of GM seeds in seed lots. Where the adventitious GM presence in non-GM seeds remains below the set threshold, there is no need for specific coexistence measures for sugar beet crop production.
- Sugar beet seed production is strictly regulated and carried out under contracts with seed companies. Farmers must comply with measures to minimise gene flow between beet forms. Under the current "inter-professional agreement" in France, an overall varietal impurity of 0.2% is acceptable, with a maximum of 0.1% annual beet and 0.1% red and fodder beet. For lots with a higher varietal impurity, acceptance depends on case-by-case negotiation. Compliance with these existing rules should be sufficient to limit adventitious GM presence in non-GM seed production to a 0.5% threshold.
- Additional measures have been recommended to ensure that such levels are maintained in the long term and even reduced. Depending on the target threshold (0.1%, 0.3% or 0.5%), additional costs would range from 6-14% of the gross margin.
- For the case of herbicide-tolerant sugar beets, the report evaluates the efficacy of measures designed to successfully manage the appearance of herbicide tolerant GM weed beet. The appearance of GM weed beet in neighbouring fields does not translate in adventitious presence of GM in the final crop (roots), and therefore is not a coexistence issue *sensu stricto*, but an agronomic problem that can cause conflict between farmers.

Coexistence in cotton production

- Cotton is the most important non-food crop world-wide and cultivation of GM varieties is widespread. No GM variety is yet authorised for cultivation in the EU but several are in the regulatory pipeline. The agricultural area devoted to cotton in the EU is small but the crop is economically very important for some regions. The case study looks at Andalusia (southern Spain), with over 80 000 ha of cotton fields. Cotton is mostly autogamous and cross-pollination is negligible.
- Provided the adventitious GM seed presence in non-GM seeds remains below 0.5%, practices based on cleaning machinery are

enough to keep the adventitious GM presence below 0.9% for cotton crop production.

- To comply with a threshold of 0.5% adventitious GM presence in cotton seed production, no additional measures are required beyond those already in place for certified cotton seed production, so no extra costs have to be calculated. The report presents a set of stricter practices for achieving lower thresholds in seed and crop production and estimates the additional costs involved.

Effect of seed purity and long time periods on adventitious GM presence in oilseed rape

- Coexistence measures for oilseed rape crops were addressed in a previous study. Two issues are covered in this report: 1) the impact of different initial seed purity levels on final adventitious presence and 2) the effect of long time periods (over 50 years) on adventitious GM presence. This is relevant because oilseed rape has seeds that persist in the soil for long periods.
- The GeneSys-rape model is used for simulating adventitious presence in a number of farm types. The contribution of initial seed impurities to final adventitious GM presence is roughly additive for all types of farm. Cross-pollination and seed persistence in the soil remain the main source of adventitious GM presence. Only for very large fields (where the effect of cross-pollination is diluted) is seed impurity the main source of adventitious presence. Assuring seed purity is therefore not enough to achieve coexistence in oilseed rape and specific measures need to be evaluated.
- GeneSys-rape simulations show that, after the introduction of GM varieties in a region, the rates of adventitious presence will not increase significantly after the second rotation of oilseed rape (simulations up to 50 years). A significant exception is that of farms not buying certified seed but using farm-saved seeds, which led to a continuous increase in adventitious presence over time.

General conclusions

- On the basis of the model simulations and expert opinions gathered in this report, for the case studies covered (maize, sugar beet, cotton), coexistence in seed production is technically feasible for a threshold of 0.5%, with few or no changes in current practices. For maize, this holds true for coexistence between non-GM and GM seed production. However, coexistence of non-GM maize seed production with GM maize crops would need changes in current practices, namely introduction of larger isolation distances (from the current 200-300 m distances to 400-600 m).
- If GM presence in seeds does not exceed 0.5%, coexistence in crop production is technically feasible for the target threshold of 0.9%. For maize, additional measures are needed for some specific situations defined by climatic, landscape and agronomic parameters. The report evaluates measures found to be technically simple and effective. These measures, targeting GM maize growers, have variable farm-level economic consequences that will affect the farmer's decision whether or not to grow GM maize varieties.
- The report illustrates the power of novel gene flow models that actually take into account the spatial patterns of landscapes and agricultural practices. It is now possible to estimate levels of adventitious GM presence in non-GM production resulting from multiple fields and sources, over extended time periods, propose numerous coexistence measures and quickly test their feasibility and consequences at regional level. The information obtained from model

simulations, such as the decision tables presented in this report, is valuable for helping decision-makers set up coexistence strategies. Models simulations are not a substitute for field experiments, but a way of overcoming the limitations (time scale, spatial coverage, costs) inherent to field work.

Annexe 7

Annexe 7.1 : Estimation de la présence fortuite d'OGM (en % de grains) dans un lot de semences en fonction de la taille relative des parcelles de production, des distances d'isolement, du nombre de rangs de mâles d'isolement et de la direction du vent

Cas de la coexistence entre deux parcelles de production de semences

Type of co-existence	Area of non-GM seed plot (in ha)	Isolation distance (in m)	Number of extra male parent rows	Adventitious presence (%)		Flowering time-lag (in degree-days) necessary to achieve ("downwind" situation)		
				Upwind (3m/s)	Downwind (3m/s)	0.5%	0.3%	0.1%
Seed-seed (GM seed plot of 5 ha)	0.5	100	0	0.22	0.79	90	90	120
			2	0.21	0.77			
			8	0.19	0.71	60		
			20	0.17	0.63			
		200	0	0.09	0.35	0	60	90
			2	0.08	0.33		30	
			8	0.08	0.31			
			20	0.07	0.28		0	
		300	0	0.05	0.2			
		400	0	0.03	0.13			60
	1	100	2	0.18	0.66	60	90	120
		200	0	0.08	0.31	0	30	90
		300	0	0.05	0.18		0	
		400	0	0.03	0.12			60
	2.5	100	2	0.14	0.52	30	90	120
		200	0	0.06	0.25	0	0	90
		300	0	0.04	0.15			
		400	0	0.03	0.1			60
	5	100	0	0.11	0.4	0	60	120
			2	0.11	0.4			
			8	0.1	0.37			
			20	0.09	0.34			
		200	0	0.05	0.19		0	90
			2	0.05	0.19			
			8	0.05	0.18			
			20	0.04	0.17			
		300	0	0.03	0.12			60
		400	0	0.02	0.08			0

Les lignes en bleu correspondent aux pratiques d'isolement en production de semences en France (Cf. 1.3).

Pour chaque situation, le décalage de floraison nécessaire pour respecter les seuils de 0.1 %, 0.3 % or 0.5 % dans le cas défavorable (parcelle non-OGM sous le vent de l'OGM) est indiqué. Par exemple, les pratiques actuelles d'isolement (100 m + 2 rangs de mâles) pour de petites parcelles de production (0.5 ha) seraient suffisantes dans le cas d'un vent favorable (parcelle non-OGM contre le vent) mais requerraient un décalage de floraison de 90 degrés-jours entre les variétés pour respecter le seuil de 0.3 %.

Annexe 7.2 : Estimation de la présence fortuite d'OGM (en % de grains) dans un lot de semences en fonction de la taille relative des parcelles de production, des distances d'isolement, du nombre de rangs de mâles d'isolement et de la direction du vent

Cas de la coexistence entre parcelle de production de semences et parcelle de maïs consommation.

Type of co-existence	Area of non-GM seed cluster (in ha)	Isolation distance (in m)	Number of extra male parent rows	Adventitious presence (%)		Flowering time-lag (in degree-days) necessary to achieve ("downwind" situation)		
				Upwind (3m/s)	Downwind (3m/s)	0.5%	0.3%	0.1%
Seed-crop (GM crop field size 10 ha)	1	100	0	0.99	3.41	120	120	150
		200	0	0.43	1.66	90		120
			20	0.36	1.42		90	
		300	0	0.26	1.05			
		400	0	0.18	0.73	60		
		500	0	0.13	0.53	30	60	
		600	0	0.1	0.4	0		90
		700	0	0.08	0.31		30	
		800	0	0.06	0.24		0	
		900	0	0.05	0.19			60
		1000	0	0.04	0.15			
	5	100	0	0.63	2.25	90	120	150
		200	0	0.31	1.2		90	120
			20	0.27	1.07			
		300	0	0.19	0.77	60		
		400	0	0.14	0.54	30	60	
		500	0	0.1	0.4	0		90
		600	0	0.08	0.3		0	
		700	0	0.06	0.23			
		800	0	0.05	0.18			60
		900	0	0.04	0.15			
		1000	0	0.03	0.12			
	10	100	0	0.48	1.72	90	120	120
			20	0.41	1.49			
		200	0	0.24	0.94	60	90	
		300	0	0.15	0.61	30	60	
		400	0	0.11	0.43	0		90
		500	0	0.1	0.32		30	
		600	0	0.06	0.24		0	
		700	0	0.05	0.19			60
		800	0	0.04	0.15			
		900	0	0.03	0.12			30
		1000	0	0.02	0.1			0

Les lignes en bleu correspondent aux pratiques d'isolement en production de semences en France (Cf. 1.3).

Pour chaque situation, le décalage de floraison nécessaire pour respecter les seuils de 0.1 %, 0.3 % or 0.5 % dans le cas défavorable (parcelle non-OGM sous le vent de l'OGM) est indiqué.

Annexe 7.3 : Table de décision déterminant les distances d'isolement (en m) nécessaires pour garder le taux de présence fortuite d'OGM dû à la pollinisation croisée en deçà d'un seuil défini (en % de grains). Parcelle non-OGM sous le vent de la parcelle OGM (cas critique). Parcelle OGM de 15 ha, semée avec une variété homozygote pour le transgène

Non GM field area	Flowering time-lag	Non GM width	Cross-pollination rates										
			0.9%	0.8%	0.7%	0.6%	0.5%	0.4%	0.3%	0.2%	0.1%	0.05%	0.01%
<5ha	0°day	0m	100	100	150	150	150	200	300	300	X	X	X
		9m			100				200				
		12m											
		18m				100		150					
	30°days	0m	50	50	100	100	100	150	150	200	400	X	X
		9m			50			100			300		
		12m											
		18m	20			50							
	60°days	0m	20	20	20	20	20	50	50	100	200	300	X
		9m	0	0	0			20			150		
		12m				0							
		18m					0						
	90°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	20	50	100	300
		9m								0	20		
		12m											
		18m											
5ha<x<10ha	0°day	0m	100	100	100	100	150	150	200	300	X	X	X
		9m	50				100				400		
		12m											
		18m		50									
	30°days	0m	20	50	50	50	100	100	150	200	300	X	X
		9m		20	20		50		100	150			
		12m				20							
		18m	0	0									
	60°days	0m	0	0	0	0	20	20	50	100	150	300	X
		9m					0	0	20	50			
		12m											
		18m										200	
	90°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50	300
		9m									0		
		12m											
		18m											
>10ha	0°day	0m	50	50	100	100	100	150	150	300	400	X	X
		9m	20		50			100		200			
		12m											
		18m		20		50							
	30°days	0m	20	20	20	20	50	50	100	150	300	400	X
		9m	0	0			20						
		12m			0								
		18m				0				100	200		
	60°days	0m	0	0	0	0	0	20	20	50	100	200	X
		9m						0	0	20			
		12m											
		18m											
	90°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	300
		9m										20	200
		12m											
		18m										0	

NB : Les croix indiquent que le seuil ne peut être atteint (dans les limites de validité de l'utilisation du modèle).

Annexe 7.4 : Table de décision déterminant les distances d'isolement (en m) nécessaires pour garder le taux de présence fortuite d'OGM dû à la pollinisation croisée en deçà d'un seuil défini (en % de grains). Parcelle non-OGM contre le vent de la parcelle OGM (cas favorable). Parcelle OGM de 15 ha, semée avec une variété homozygote pour le transgène

Non GM field area	Flowering time-lag	Non GM width	Cross-pollination rates										
			0.9%	0.8%	0.7%	0.6%	0.5%	0.4%	0.3%	0.2%	0.1%	0.05%	0.01%
<5ha	0°day	0m	20	20	20	20	20	20	20	50	100	150	X
		9m	0	0	0	0	0	0	0	20			
		12m											
		18m											
	30°days	0m	0	0	0	0	20	20	20	20	50	100	400
		9m					0	0	0	0			
		12m											
		18m									20		300
	60°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	20	20	50	200
		9m								0	0	20	150
		12m											
		18m											
	90°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50
		9m										0	20
		12m											
		18m											
5ha<x<10ha	0°day	0m	0	0	0	20	20	20	20	20	100	150	400
		9m				0	0	0	0		50		
		12m											
		18m								0		100	
	30°days	0m	0	0	0	0	0	0	20	20	20	100	300
		9m							0	0		50	
		12m											
		18m									0		
	60°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	150
		9m									0	0	
		12m											
		18m											100
	90°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9m											0
		12m											
		18m											
>10ha	0°day	0m	0	0	0	0	0	20	20	20	50	100	400
		9m						0	0	0	20		
		12m											
		18m											
	30°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	20	20	50	300
		9m								0	0		
		12m											
		18m										20	200
	60°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100
		9m										0	
		12m											
		18m											
	90°days	0m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9m											0
		12m											
		18m											

NB : Les croix indiquent que le seuil ne peut être atteint (dans les limites de validité de l'utilisation du modèle).

Annexe 7.5 : Table de décision déterminant les distances d'isolement (en m) nécessaires pour garder le taux de présence fortuite d'OGM dû à la pollinisation croisée en deçà d'un seuil défini (en % d'ADN transgénique). Parcelle non-OGM sous le vent de la parcelle OGM (cas critique). Parcelle OGM de 15 ha, semée avec une variété hétérozygote pour le transgène

Surface de la parcelle non OGM	Décalage de floraison	Zone tampon	Taux de pollinisation croisée (exprimé en % d'ADN transgénique)									
			0,9%	0,8%	0,7%	0,6%	0,5%	0,4%	0,3%	0,2%	0,1%	PCR+
< 5 ha	0 jour (0 jour)	0 m	0	20	20	20	20	50	50	100	150	x
		9 m	0	0	0	0	20	20	50	100	150	x
		12 m	0	0	0	0	20	20	50	100	150	x
		18 m	0	0	0	0	0	20	50	100	150	x
	30 jours (2 jours)	0 m	0	0	0	0	0	20	20	50	100	x
		9 m	0	0	0	0	0	0	20	50	100	x
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	20	100	x
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	20	100	x
	60 jours (4 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	300
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	300
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	300
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300
	90 jours (6 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
5 ha ≤ x < 10 ha	0 jour (0 jour)	0 m	0	0	0	0	20	20	50	50	150	x
		9 m	0	0	0	0	0	0	20	50	150	x
		12 m	0	0	0	0	0	0	20	50	150	x
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	50	100	x
	30 jours (2 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	20	20	100	x
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	20	50	x
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	50	x
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	50	x
	60 jours (4 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	300
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300
	90 jours (6 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
≥ 10 ha	0 jour (0 jour)	0 m	0	0	0	0	0	20	20	50	100	x
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	20	100	x
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	20	100	x
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	20	100	x
	30 jours (2 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	20	50	x
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	50	x
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	x
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	400
	60 jours (4 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200
	90 jours (6 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20

NB : Les croix indiquent que le seuil ne peut être atteint (dans les limites de validité de l'utilisation du modèle).

Annexe 7.6 : Table de décision déterminant les distances d'isolement (en m) nécessaires pour garder le taux de présence fortuite d'OGM dû à la pollinisation croisée en deçà d'un seuil défini (en % d'ADN transgénique). Parcelle non-OGM contre le vent de la parcelle OGM (cas favorable). Parcelle OGM de 15 ha, semée avec une variété hétérozygote pour le transgène

Surface de la parcelle non OGM	Décalage de floraison	Zone tampon	Taux de pollinisation croisée (exprimé en % d'ADN transgénique)									
			0,9%	0,8%	0,7%	0,6%	0,5%	0,4%	0,3%	0,2%	0,1%	PCR+
< 5 ha	0 jour (0 jour)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	20	20	200
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150
	30 jours (2 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	60 jours (4 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
	90 jours (6 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 ha ≤ x < 10 ha	0 jour (0 jour)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	20	150
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150
	30 jours (2 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
	60 jours (4 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	90 jours (6 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
≥ 10 ha	0 jour (0 jour)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	150
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	30 jours (2 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
	60 jours (4 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	90 jours (6 jours)	0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		9 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		12 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		18 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 8

SMAC Advisor: A Decision-Support Tool on Maize Co-Existence

Marko Bohanec[1], Antoine Messéan[2], Frédérique Angevin[2], Martin Žnidaršič[1]

[1] Jožef Stefan Institute, Department of Knowledge Technologies, Jamova 39, SI-1000 Ljubljana, Slovenia

[2] Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Eco-Innov Unit, Grignon, France

Summary

This paper presents SMAC Advisor, a decision-support tool for the assessment of coexistence between genetically modified and conventional maize. The assessment is based on a qualitative multi-attribute DEXi model. This model was developed from two sources: (1) extensive simulations of gene flow due to cross-pollination, obtained by the MAPOD® simulator, and (2) rules provided by experts. SMAC Advisor provides a friendly "wizard" interface for its users: farmers, administrative workers and policy makers in agronomy.

Introduction

One of the important issues about genetically-modified (GM) crops is the question of *coexistence*: is it possible, under which conditions and to which extent, to grow both GM and non-GM (conventional) crops simultaneously or in close proximity without affecting each other "too much". The answers turn out to be extremely difficult as coexistence involves many complex factors, which are difficult to assess, predict and control: pollen flow, volunteers, feral plants, mixing during harvesting, transport, storage and processing, human error, and accidents.

In the project SIGMEA (2004), we have developed a decision-support tool called *SMAC Advisor*, which is aimed at providing advice to farmers and other decision-makers (administrative workers, policy makers) who want to assess the achievable level of maize coexistence on a given field and in a given agricultural environment. The assessment is based on a qualitative multi-attribute DEXi model, which was constructed from two sources: (1) MAPOD® gene-flow simulations and (2) expert-provided rules.

1) Methods

SMAC Advisor formulates the decision problem as follows:

Suppose a farmer wants to start growing GM maize on some field F. In the neighbourhood, there are some other fields, E_1, E_2… E_n, on which this or other farmers grow (or want to grow) non-GM maize. Then, the question is: to which extent will the plants grown on F genetically interfere with the plants on E's? Will this interference be small enough to allow coexistence?

The "interference" between plants is expressed and measured in terms of *adventitious presence* (AP). AP refers to the unintentional and incidental commingling of trace amounts of one type of seed, grain or food product with another (BIO, 2006). EU regulations have introduced a 0.9% labelling threshold for the AP of GM material in non-GM products (Regulation 2003/1830/EC). Thus, in order to approve the coexistence between GM and non-GM crops, we usually require that the achieved AP is 0.9% or less. In SMAC Advisor, this is a user-defined parameter.

SMAC Advisor is aimed at providing assistance in solving the above problem. Basically, the program requires information from the user about the: (1) emitting field F, (2) neighbouring fields E_1, E_2… E_n, (3) relation between F and each E_i in terms of distance, relative size, prevalent wind direction, etc., (4) type and characteristics of used seeds, (5) environmental characteristics (e.g., background GM pollen pressure), and (6) use of machinery (e.g., sharing with other farmers).

On this basis, SMAC Advisor determines the *achievable AP*, that is, the expected level of GM impurities in harvests of the neighbouring fields, and compares it with the required *target AP*, which is provided by the user. SMAC Advisor completes the analysis giving one of the following "colour-coded" *recommendations*: (1) "Green": GM farming allowed, (2) "Red": GM farming disallowed, (3) "Yellow": coexistence is possibly achievable, continue assessing risks, and (4) "Orange": the target AP is currently not achievable, continue assessing additional measures.

2)Software architecture and functionality

SMAC Advisor consists of three software layers: (1) a user interface, (2) "shallow" qualitative multi-attribute DEXi model, which aggregates input data into final recommendations, and (3) results of the "deep" MAPOD® model, which simulates the biological behaviour of maize plants.

Layer 1: User Interface communicates with the user, guides him or her through the coexistence assessment process and, when necessary, engages the second layer. The interface is of a user-friendly "wizard" type: it contains a series of dialogs that guide the user through logical steps of the decision-making process: (1) obtaining data related to the field F; (2) obtaining data related to each E_i (Figure 1, left); and (3) making and presenting the recommendation (Figure 1, right). If necessary, these steps are repeated until the decision situation has been sufficiently analysed.

Layer 2: Qualitative Multi-Attribute DEXi Model The central layer of SMAC Advisor contains a qualitative multi-attribute model that was developed according using the software DEXi (Bohanec, 2007). The role of this model is to make a final recommendation on the basis of user-provided input data that describe the decision situation. This is carried out according to a hierarchical structure of attributes (Figure 2): inputs enter at the bottom of the hierarchy and are gradually aggregated in a bottom-up way. The reasoning is performed according to 'if-then' rules. The rules that occur at the attribute "cross pollination" and below were obtained from the results of MAPOD® simulations (see the Layer 3 below). All the remaining rules in the model were provided by the experts.

This DEXi model consists of two essential parts. The left-hand part in Figure 2 assesses the characteristics related to the field F itself and its environment: % of seed impurity, existing regional GM-pollen pressure, existing farms in the neighbourhood, and target AP to be achieved. The right-hand part ("machinery" and "cross pollination") assesses the relation between F and each E_i. For each such pair, the model determines the achievable AP. The total achievable AP is then the maximum of the pairwise AP's.

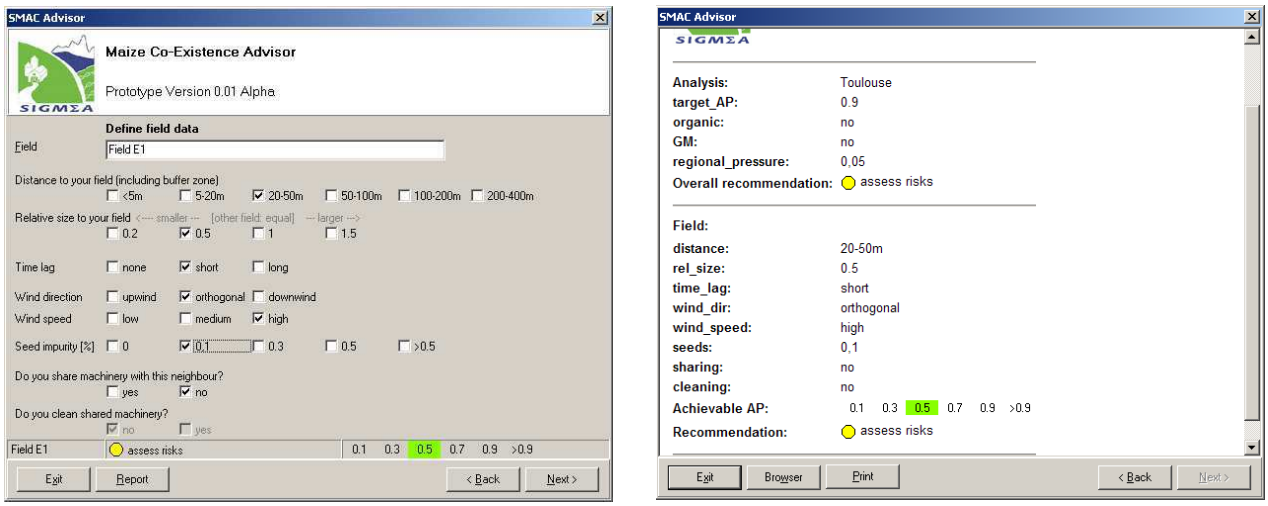


Figure 1: SMAC Advisor user interface: a data-entry dialogue (left) and final recommendation report (right).

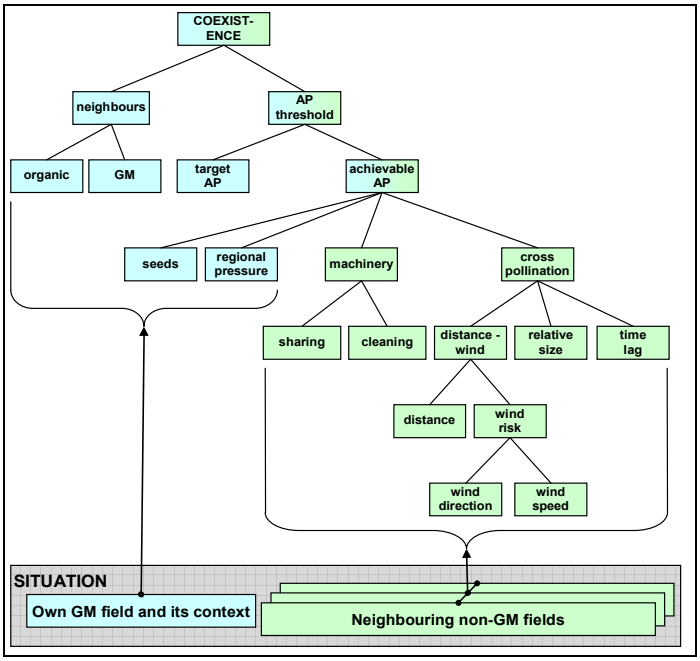


Figure 2: Hierarchical structure of the DEXi model.

Layer 3: MAPOD® Simulations MAPOD® is an advanced simulator that estimates the rate of varietal impurities due to cross-pollination in maize as well as changes in these rates due to changes in cropping techniques (Angevin *et al.*, 2001). This model has been used to carry out several coexistence studies testing different strategies, considering spatial isolation, time isolation, characteristics of GM and non-GM fields, and different buffer zones. In total, 8960 simulations were run to test one or several strategies in combination. Results were synthesised in a database and in decision tables (Messéan *et al.*, 2006). These results were used to design the "cross-pollination" subtree of the DEXi model.

3)Conclusions

SMAC Advisor is a software tool aimed at making advice in a difficult real-life decision problem of maize co-existence. SMAC Advisor gives recommendations using a knowledge base, which is composed of two parts. The central part is a "shallow" qualitative multi-attribute model, developed according to DEX methodology. It contains rules that aggregate inputs, provided by the user, into final recommendations, following a hierarchical structure of attributes. The essential part of this shallow model, which determines the achievable adventitious presence, is based on a "deep" MAPOD® model, which simulates the biological behaviour of maize plants.

Currently, SMAC Advisor has a status of evolving prototype software, which has been so far used only on test cases. Within the SIGMEA project, we wish to further validate it using real cases from Spain. Also, we plan to extend the underlying DEXi model with the assessment of costs.

References

Angevin, F., Klein, E. K., Choimet, C., Meynard, J. M., de Rouw, A., Sohbi, Y. (2001). Modélisation des effets des systèmes de culture et du climat sur les pollinisations croisées chez le maïs. In *Pertinence économique et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM*. Rapport du groupe 3, INRA – FNSEA, pp 21-36.

BIO (2006): Biotechnology information, advocacy and business support: Adventitious presence. http://www.bio.org/foodag/background/adventitious.asp

Bohanec, M. (2007): *DEXi: Program for Multi-Attribute Decision Making, User's Manual, Version 2.00*. IJS Report DP-9596, Jožef Stefan Institute, Ljubljana. http://www-ai.ijs.si/MarkoBohanec/ pub/DEXiManual20r.pdf

Messéan, A., Angevin F, Gómez-Barbero, M., Menrad, K., Rodríguez-Cerezo, E. (2006): *New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture*. European Commission, Technical Report EUR 22102 EN.

SIGMEA (2004): SIGMEA: Sustainable introduction of genetically modified crops into European agriculture. Specific targeted research project, funded by the Sixth European Community Framework Programme: Policy Oriented Research. http://sigmea.dyndns.org/

Annexe 9

Agricultural Systems, 2009, 101 (1/2), 49-56, DOI: 10.1016/j.agsy.2009.03.002
The original publication is available at http://www.journals.elsevier.com/agricultural-systems/

A model to evaluate the consequences of GM and non-GM segregation scenarios on GM crop placement in the landscape and cross-pollination risk management

F.C. Coléno[1 *], F. Angevin[2], B. Lécroart[2]

1 : INRA, UMR1048 SADAPT, F-78850 Thiverval Grignon, France

2 : INRA, UAR1240 Eco-innov, F-78850 Thiverval Grignon, France

* Corresponding author: F. C. Coléno, tel: +33-(0)1 30 81 59 31 fax: +33-(0)1 30 81 59 39;

e-mail: coleno@grignon.inra.fr

Abstract

Under European regulations, a product is labelled as GM (genetically modified) if more than 0.9% of one of its ingredients originates from GM material. During collection, crops from many fields are combined to fill a silo. To avoid the risk of mixing GM and non-GM harvests, it is possible to dedicate a silo to a given crop or to define specific times for GM and non-GM product delivery to silos. To evaluate these scenarios for the maize supply chain, we propose a combination of a model of farmers' varietal choice (based on profit evaluation at the field level, taking into account transport costs as well as price and cost differences between GM and non-GM products) and a spatially-explicit gene flow model. Consequences of different segregation strategies for collection zone organisation can therefore be compared while using the percentage of GM grain in non-GM crops due to cross-pollination. The 'temporal' strategy leads to a uniform area of GM or non-GM maize, depending on the prices and the weather risks. The 'spatial' strategy leads to areas of either GM or non-GM crops surrounding the corresponding collection silos. GM presence in non-GM batches depends on the size of the non-GM zone and on the prevailing wind. We show how divergent commercial strategies of grain merchants could have consequences on GM presence in non-GM batches.

Keywords : GMO, co-existence, decision model, landscape, farming system

1. Introduction

The introduction of GM crops into Europe generated conflict between proponents and opponents of this technology (Levidow et al., 2000). Moreover, as a majority of European consumers is reluctant to eat GM foods (Eurobarometer, 2006), there is a demand for more stringent purity thresholds than those currently operating in existing crops grown in isolation, such as waxy maize or high erucic rapeseed. To satisfy this demand, while allowing farmers to make a practical choice between conventional, organic, and GM crop production, the

European Commission has proposed several recommendations for ensuring coexistence at the field scale (EC, 2003a) and promulgated regulations controlling segregation of GM and non-GM products "from farm to fork" (EC, 2003b and c).

Within the food-processing industry, traceability of GM products has to be implemented throughout the whole supply chain. Indeed, positive labelling is compulsory when a product contains more than 0.9% of GM material per ingredient (EC, 2003c). In order to avoid such a positive labelling, PCR tests (Lüthy, 1999) can be used to assess the presence of GM material when DNA is present in the product. Moreover, the food industry uses risk management methods to identify critical points and to propose quality control methods such as the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) method (Scipioni et al., 2005). As a consequence of potential cumulative risks in the food chain and to guarantee a level lower than 0.9% of GM material in non-GM products, a 0.1% maximum level of GM presence is required by the industry for non-GM batches delivered by farmers and grain merchants (Raveneau, 2005).

In this paper, we consider the consequences of the introduction of Bt maize (resistant to corn stalk borer) into European cropping systems. Indeed, Bt maize is the only GM crop grown commercially in the EU, mainly in Spain, where 60,000 hectares of it were grown in 2006 (James, 2006).

In the field, adventitious presence of GM material can have several sources: pollen flow, impurities in seed lots, and volunteer plants (Colbach et al., 2001). Due to the cold winter climate as well as ploughing in the majority of cropping systems including maize, this latter source can be considered negligible (Angevin et al., 2008). According to European recommendations (EC, 2003a), a farmer using GM seed has to use technical measures to avoid adventitious presence in the neighbouring non-GM fields, such as ensuring isolation distances and flowering time-lags (Beckmann et al., 2006), whose efficiency in decreasing cross-pollination risk is known (Halsey et al., 2005).

At the farm scale, the use of the same agricultural machinery (such as a seed drill or harvester) for both GM and conventional production increases the risk of admixture (Jank et al., 2006; Messéan et al., 2006). For grain merchants, the problem is to ensure segregation of the two products in their supply chain and, as far as possible, to manage cross-pollination risk between GM and non-GM fields in their collecting area.

Several European studies on segregation made in collaboration with grain merchants resulted in the identification of two possible management strategies (Miraglia et al., 2004):

- A 'temporal strategy' where the two products are separated by the timing of the collection period. In this case, each product is delivered to the collection silo nearest to

the farm, but within a given period. It is therefore not necessary to manage product separation in collection silos. Besides, by concentrating the collection of a product over a short period of time it is possible to have a sufficient flow of material to be able to dedicate a drying line to this product and to fill one or more storage bins. The inconvenience of this strategy for the grain merchant is that farmers can choose to deliver to a more flexible competitor when they want to harvest. This leads to a loss of volume collected and thus a loss of market share.

- A 'spatial strategy' based on a geographic grouping decided before sowing. Each collection silo and accompanying dryer(s) receives only one type of product, thereby defining an independent supply chain for each product. The risk of mixing between GM and non-GM products is therefore controlled. Moreover, farmers are informed about this allocation before sowing, so they can choose their crop type taking into account the product accepted by the nearest collection silo and the cost of transportation to other collection silos. This strategy indirectly encourages farmers to choose a particular crop type, but it does not protect grain merchants from farmers that deliver to a competitor closer to their farm who would accept both products.

Both of these strategies have implications for the allocation of GM and non-GM varieties over the agricultural landscape. While the second allows a homogeneous zone of each cultivar around silos, the first lets farmers choose their varieties.

Such strategies have not been developed in Europe, and specifically in France, because of the small GM maize area sown (James et al., 2006). In this paper, we evaluate the efficiency of these strategies to minimize cross-pollination of non-GM by GM crops. Such an evaluation is necessary to elaborate co-existence scenarios at the scale of the collection zone. We used a modelling approach by combining a model of farmer's choice between GM and non-GM varieties for each field in a zone (Coléno, 2008a) with a spatially-explicit model of gene flow, MAPOD® (Angevin et al, 2008).

2. Methods

2.1. The farmer's choice model

The model used is based on maximisation of the farmer's profit at the field level (Coléno, 2008a). To calculate this profit, we took into account the yield (Y); the product price (P); a potential quality loss (L) which is an estimate of the decrease in product quality, when the farmer is compelled to delay harvesting because of collection firm constraints; the seed costs

(C_s); the pesticide costs (C_p) linked to the nature of the GM variety; the transportation costs (C_{tr}); and the distance of the field from the silo where the product is accepted (d).

Thus, we have:

$$Profit_{GM} = Y_{GM}*P_{GM}*L_{GM} - C_s - Ctr*d \quad (1)$$

$$Profit_{nonGM} = Y_{nonGM}*P_{nonGM}*L_{nonGM} - C_s - C_p - C_{tr}*d \quad (2)$$

In the case of spatial separation, L is equal to 0. Farmers can deliver their crop whenever they want to the silo dedicated to the appropriate crop.

2.2. The MAPOD® model

In the case of maize, gene flow is mainly due to intra-specific cross-pollination in crop and seed production fields. Indeed, under normal European conditions, because of the cold winter climate as well as ploughing in the majority of cropping systems including maize, volunteer plants from previous maize crops are rare and may be controlled easily by agricultural techniques.

MAPOD® is a spatially-explicit model that estimates the percentage of varietal impurities due to cross-pollination in maize as well as changes in these percentages due to modifications in cropping techniques (Angevin et al., 2008). It consists of two modules.

The first module determines the flowering date for female flowers, expressed in degree-days, as a function of climate and sowing date (Durand, 1969; Derieux and Bonhomme, 1982, 1990). Most of the varieties currently used display protandry, which means that male flowering begins several days before female flowering. The duration (in days) of this time lag can be used to calculate the flowering time for male flowers. Drought stress and sowing density affect protandry. Modelling the dynamics of male and female flowering then makes it possible to estimate the amounts of pollen produced by GM and non-GM varieties and the number of receptive silks for non-GM maize varieties. Factors affecting the viability of pollen and the receptivity of silks are taken into account. The composition of the pollen cloud in the air around the plants is therefore known on a day-to-day basis for the entire flowering period.

Pollen dispersal is simulated in the second module by a Normal Inverse Gaussian function (NIG; Klein et al., 2003). It is a function of distance from the emitter, and its parameters are the direction and mean speed of the wind during the course of flowering and the difference in height between the panicle from which the pollen is emitted and the receptive silks. The composition of the pollen cloud at a given site in a non-GM field is determined by the pollen dispersal curves for all the plants in the neighbourhood, whether close by or further away.

Each day, the frequency of GM seeds is calculated as the ratio of the number of non-GM ovules fertilised by GM pollen to the total number of ovules fertilised. These daily results are pooled to provide the extent of GM impurities in the non-GM crop.

The input variables for MAPOD® include certain traits of the varieties and certain agricultural practices for each maize field as well as climatic factors for the region studied (Table 1). The output is the percentage of GM impurities in the non-GM harvest on the scale of a field, a group of fields, or a collection area. This model has been used to carry out several co-existence studies (Angevin et al., 2002; Messéan et al., 2006).

The preliminary evaluation of MAPOD® was carried out by comparing simulation results with data from two French and one American gene flow field trials. MAPOD® was found to provide good average predictive values (Angevin et al., 2008). An indirect evaluation was also performed by simulating the French seed production rules with the model. These simulation results are consistent with the rates of impurities measured in commercial seed lots. The effect of sowing male sterile maize rows to diminish risks of cross-pollination, which was empirically tested as efficient by seed growers, appears to be correctly simulated (See Messéan et al., 2006, for details). Further evaluation of the overall predictive quality of the model is on-going in the case of several real agricultural contexts of GM commercial releases in Spain.

2.3. Input data and work assumption

The farmer's choice model was used on a 100 km^2 area (Figure 1), assuming that a field would be sown with GM maize if this were be more profitable than a non-GM variety. All the agricultural area was sown with maize. Four silos are located in this area.

We simulated both separation strategies, assuming that one firm owns silos 1, 2 and 3, and another owns silo 4. For the spatial strategy, silo 3 is dedicated to non-GM harvests and the competing firm would accept all products, whether GM or not, at the same price.

Table 2 shows the values used for the calculation of profit in the farmer's choice models. We choose a 7% difference in price between GM and non-GM products. This difference allows there to be a partition between GM and non-GM production. Using a higher or a lower price difference would lead to a homogeneous landscape. As shown in Figure 2, the effect of a price difference is very large, and all farmers can change their choice quickly depending on price changes (Coléno, 2008a).

For the temporal strategy we tested two assumptions: in one case, the GM crop is collected when maize quality is at its optimum ($L_{GM} = 0$), and in the other, we assumed that non-GM production is collected when maize quality is optimal ($L_{nonGM}=0$). The simulation was carried

out with a loss of quality causing a 10% fall in price, which is consistent with the actions of grain merchants (Raveneau, 2005).

With this model, on the level of an agricultural landscape, we can show the type of variety (GM or non-GM) chosen for every field. The field allocation obtained is one of the input variables of the MAPOD® model (Table 1). To run simulations calculating cross-pollination between fields we assume that non-GM seeds do not contain GM impurities, that GM and non-GM cultivars have similar morphological and phenological characteristics (a risky situation), and that crop management is the same for both cultivars. We tested three types of wind: a north wind, a west wind, and the wind distribution obtained from the meteorological station located at Colmar (48°05' N 7°21'E), which is shown in Figure 3.

Finally, to properly evaluate the efficiency of the various collection strategies on GM impurity rates in non-GM silos, we have simulated one more situation in which the farmers freely choose the type of variety they will sow ('case with no collection strategy'). We represented this situation by a random allocation of both varieties in the agricultural landscape. We assumed a proportion of 60 % of GM maize in the total cultivated area, which is equivalent to the GM proportion in the spatial strategy with one grain merchant, with the values of the variables defined above.

3. Results

3.1. Case with no collection strategy

The first line of Table 3 presents the weighted mean of GM impurity levels in non-GM batches due to cross-pollination for ten random distributions of GM crops in the zone. In all cases, the maize collection did not comply with the 0.9% legal threshold, so it would not have been possible to sell this maize to the non-GM market.

In view of our working assumptions and the features of the landscape studied (a fairly uniform field size), we can see that the GM and non-GM field arrangement has little influence on the GM percentage in non-GM batches. This is shown by the small difference in the percentage of GM caused by wind direction, as well as by the small standard deviations between the distributions of GM and non-GM allocations. For a given wind, the variability in the mean accidental GM presence in the non-GM batches is quite low. On the other hand, the proportion of the non-GM area that is not compliant with the 0.9% threshold varies between 62% and 77% among the 10 crop allocations to fields and the three wind distributions.

3.2. Temporal strategy

Figure 4 presents the distribution of GM and non-GM crops in the collection area when the temporal strategy is implemented. In this case, GM batches are collected at the beginning of the harvesting period, before the non-GM ones, in order to avoid admixture within silos and dryers. We find a homogeneous distribution of the variety when this collection strategy is used. Farmers' incomes are linked to the probability that the optimal maize harvest date is the period of collection for his crop. This probability depends on the period of the collection period. If the GM maize collection period is shorter than the non-GM one, the income of farmers growing GM cultivars is lower. As a result, farmers could therefore choose to only sow non-GM varieties (Figure 4a). The opposite situation is shown in figure 4b.

3.3. Spatial strategy with one grain merchant

We have assumed in this case that there is only one grain merchant in the territory, owning silos 1, 2 and 3 (Figure 1). The distribution of GM and non-GM varieties obtained by using the farmer's choice model is presented in Figure 5. The non-GM crops surround silo 3, which is dedicated to them, while GM crops are located around silos 1 and 2. The size of the non-GM area can be modified according to the price difference between GM and non-GM maize paid by the grain merchant.

The second line of Table 3 shows the percentage of GM grain in the non-GM silo as affected by wind direction. In each case, this percentage is relatively low and below the 0.9 % threshold. It is thus possible to sell the collected batches on the non-GM market. Besides, this percentage depends on the wind distribution and is higher with a northerly wind. Indeed, in this case, the wind is blowing from the GM maize area to the non-GM maize area, which is the worst case. There are two main prevailing winds (north and south) in the Colmar region. A south wind is the more favourable, because the non-GM fields are upwind. That is why the cross-pollination rate is lower and closer to 0.1% with the real wind distribution. Taking into account the most unfavourable wind direction may lead to an overestimate of the risk of GM admixture due to pollen flow. Grain merchants should thus consider the real wind distribution.

If we compare the first and second lines of Table 3, we notice a large decrease in GM grain percentage in the non-GM silo. Therefore, the organization of production in the collection zone can reduce the cross-pollination risk not by using isolation distances between GM and non-GM fields but by indirectly creating field clusters such as those that exist for specific maize crops such as waxy maize (Meynard and Le Bail, 2001). In this case, the core of the

non-GM zone is isolated from GM sources while harvests of 'frontier' fields containing GM impurities could be diluted by mixing in the silo, or they could be collected separately.

3.4. Spatial strategy with two grain merchants

In this case, two grain merchants share the harvest collection within the study zone. The first merchant owns silos 1, 2, and 3, and collects GM maize in silos 1 and 2 and non-GM maize in silo 3. The second owns silo 4 and has a different commercial policy. GM and non-GM harvests are collected in the same silo and the company pays the same price for both products. Figure 6 shows the distribution of GM and non-GM varieties in the agricultural landscape resulting from these two competing commercial policies. We see that the second firm's strategy leads to the creation of a GM zone around silo 4, inducing a decrease in the non-GM area to 30% of the total area grown.

The third line of Table 3 shows the percentage of GM adventitious presence in the non-GM silo simulated by MAPOD®. Although GM production has increased in the zone, the percentage of GM grain in the non-GM batches remains low on average and below 0.9%. It is therefore possible to sell the collected crops to the non-GM market. If we compare the second and the third line of Table 3, we see that the GM percentage remains relatively low. It is thus possible to limit the proportion of GM in the non-GM silo by organising production in the zone, even if it contains a high proportion of GM maize.

However, if we compare the second and the third line of Table 3 we see that the amount of GM adventitious presence is three times as great in the case of a westerly prevailing wind blowing from the GM area (Figure 6). This percentage still complies with the 0.9 % threshold. However, the presence of several competitors in the same zone with different commercial policies can lead to an increase in GM impurity rates in the non-GM silo. Due to the stringent requirements of the maize food chain (Raveneau, 2005), this could lead to the loss of potential outlets for this crop.

3.5. Impact of farmers' behaviour on non-GM silo purity

Table 4 shows the percentage of the non-GM area cultivated in GM necessary to contaminate the non-GM silo to an extent which would deny access to the non-GM market. It also shows that a very small area sown with GM in the non-GM zone (from 0.36 to 0.73%) would result in exclusion from the non-GM market. To prevent such a situation, companies would have to adopt several strategies, such as crop contracts with farmers and information management about farmers' practices. Such a policy would increase the transaction costs associated with co-existence.

4. Discussion

4.1. Limitations of the farmer's choice model

The model of crop allocation that we have used in this study is based on the maximisation of profit for each field. It has two assumptions that warrant discussion.

The first is that the risk covered by the use of GM maize is uniform over the collection zone. In fact, the distribution of the agronomic risk due to the corn borer is not uniform throughout any area, so the farmer's choice between GM and non-GM maize should be linked to this constraint (Bourguet et al., 2005). The use of agronomic variables in the model of farmers' choices might put into perspective the results presented here, because they would apply to larger and more representative geographical zones of the whole collection region of a grain merchant. Taking into account these agronomic factors and a larger area would allow one to search for alternative collection strategies. A spatial strategy with different delivery periods for each product could be considered. It would then be possible to take into account different flowering times to avoid field-to-field cross-pollination (Halsey et al., 2005; Messéan et al., 2006).

The second is that the optimal period for maize harvesting can be relatively short. The probability of being able to harvest during this period is connected to the total duration of collection. Such an assumption must be put into perspective. It applies in northern Europe and in Alsace in particular (Raveneau, 2005). In southern Europe (southwest France or Spain), the climate is more favourable and the optimal period for maize harvesting lasts longer. It is therefore possible to consider temporal strategies of collection that have a lower collection cost (Coléno, 2008b). In this case, farmers would support cross-pollination risk management, possibly growing GM varieties so as to set up isolation distances or non–GM buffer zones around their fields to avoid the risks of cross-pollination (EC, 2003a).

4.2. Effect of the strategies studied on GM crop planting

Introduction of GM varieties on a landscape scale comes up against regulations based mainly on the use of isolation distances (Beckmann et al., 2006), whatever the characteristics of the agricultural landscape. In regions where fields are small and fragmented, GM maize can only be sown in a small number of fields (Devos et al., 2007). Furthermore, when fields are small, with scattered ownership, non-GM production can lead to prohibition of GM production on almost all the land because of a domino effect (Demont et al., 2008). But this domino effect could lead to an exclusion of organic farming in the landscape, because of a greater isolation distance between GM and organic fields.

All this takes only account of farmers' choices at an individual level, and so leads to solution for co-existence at the field level. Taking into account grain merchants' strategies allows GM and non-GM co-existence to be considered at the landscape level. It is thus possible to take into account incentive mechanisms with farmers (contract or price setting) in order to organise GM and non-GM production at a higher level than that of the field. Hence it is possible to bypass the problem of isolation distances between GM and conventional fields by concentrating non-GM production in specific zones. Co-existence of both crops in the zone may then be possible.

4.3. How should the boundaries of the collection zone be managed?

The definition of homogeneous zones, such as are used for waxy maize production in certain regions (Meynard and Le Bail, 2001), raises the question of boundary management. Indeed, we calculated the adventitious presence of GM material for the whole non-GM maize area. This average percentage masks the disparities between fields in the core of the non-GM zone and those located near the boundaries.

In the case of maize, the quantity of dispersed pollen diminishes with distance (Bateman, 1947a; b; Raynor et al., 1972). Non-GM fields in the border zone are closer to the GM pollen-emitting source than those in the core, and consequently have a higher GM rate than the average (results not shown).

The management of these fields thus requires:

- limiting the rate of cross-pollination by implementing co-existence measures such as isolation distances (Jones and Brookes, 1950), time-lag of flowering (Halsey et al., 2005), or non-GM buffer zones (Messéan et al., 2006);
- setting up compensation mechanisms for non-GM crops that would have to be sold as GM. Such mechanisms can be implemented either via producers' clubs (Furtan et al., 2007) or they may be provided by grain merchants in order to ensure a low GM rate in the core of the non-GM zone.

4.4. How to deal with grain merchants with divergent strategies?

Use of appropriate collection strategies realise on the creation of a non-GM production zone of sufficient size to guarantee a low percentage of GM in non-GM batches. A decrease in the size of the non-GM zone, because of competitors with different commercial strategies, causes an increase in the GM percentage in non-GM batches. Consequently, the non-GM zone should be located in areas where the competition between grain merchants is low. Another possibility is that grain merchants coordinate GM and non-GM variety allocation in the zone.

This leads to the development of co-opetition strategies (Nalebuff and Brandenburger, 2002) at the scale of the collection zone. Therefore, GM and non-GM crop co-existence could lead to new collective strategies of the various firms involved in the supply chain, between clients and suppliers as well as between competitors.

5. Conclusion

To overcome difficulties in the segregation of GM and non-GM crops in the supply chain, it is necessary to dedicate silos and dryers to either crop over the course of time or by defining GM and non-GM zones in the agricultural landscape and collection infrastructure.

These two basic solutions lead to an increase in collection costs due to an increase in transport costs and a decrease in the flexibility of the collection process (Bullock and Desquilbet, 2002; Coléno, 2008b). Moreover, these strategies do not have the same effect on landscape organization and on the risk of cross-pollination between GM and non-GM fields. The spatial strategy could allocate parts of the landscape to each crop and thus minimize accidental GM presence. The temporal strategy would lead to uniform GM and non-GM zones while only considering the farmer's economic benefit. In this case, there is no risk of cross-pollination. But, from an agronomic point of view in relation to the different exposures to risk concerning Bt maize, it is possible that the spatial allocation of GM and non-GM crops would no longer be homogeneous. In such a case, considering European regulations, GM production might have to be reduced because of the impossibility of producing a GM crop close to non-GM fields of the same species (Demont et al., 2008; Devos et al., 2007).

Moreover, in order to go further to evaluate collection strategies at the landscape level it id necessary to improve the two models used there. Concerning the farmer's choice model, it would be possible to develop a multi-criterion model of farmer's choice that takes into account economic and agronomic factors. For MAPOD®, the specific effect of canopy discontinuities (such as other crops, hedges or roads) on pollination patterns at field edges needs to be better modelled.

Considering the difficulties of segregation management, it seems necessary to consider landscape governance (Byrne and Fromherz, 2003) in order to define an optimal collection strategy for grain merchants that takes into account the cost management of segregation in the supply chain as well as the costs of managing GM crop distribution in the agricultural landscape. Specifically, it seems necessary to evaluate the feasibility of cooperation between different grain merchant companies in order to manage the collection zone.

Acknowledgments

Original maps were provided by the Institute for the Protection and Security of the Citizen (Joint Research Centre of the European Union) and AUP-ONIGC - ex ONIC (Office National Interprofessionnel des Céréales). We thank Ms Tanis-Plant for editorial advice in english and K. Adamczyk for her technical help.
Funding for this research was provided by the French Ministry of Research through the national program "ACI OGM et environnement" and by the European commission through the Sixth Framework Program, integrated project Co-Extra (contract Food-2005-CT-007158).

References

Angevin, F., Colbach N., Meynard, J.M., Roturier, C., 2002. Analysis of necessary adjustements of farming practices, *In* A.-K. Bock, Lheureux, K., Libeau-Dulos, M., Nilsagard H., Rodriguez-Cerezo, E., eds. Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission. EUR 20394 EN

Angevin, F., Klein, E.K., Choimet, C., Gauffreteau, A., Lavigne, C., Messéan, A., Meynard, J.M., 2008. Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: The MAPOD model., European journal of Agronomy. 28, 471-484

Bateman, A. J., 1947a. Contamination in seed crops I: Insect pollination. J. Genet. 48, 257-275.

Bateman, A. J., 1947b. Contamination in seed crops II: wind pollination. Heredity. I, 235-246.

Beckmann, V., Soregaroli, C., Wesseler, J., 2006. Coexistence rules and regulations in the European Union. American Journal of Agricultural Economics. 88, 1193-1199.

Betbesé, I., Lucas J.A., 2006. Varietats de panís, Dossier tècnic, Ruralcat. 24p

Bourguet, B., Desquilbet, M., Lemarié, S., 2005. Regulating insect resistance management: the case of non-Bt corn refuges in the US. Journal of Environmental Management. 76, 210-220.

Brookes, G., 2002. The farm level impact of using Bt maize in Spain. PGEecnomics, 23p. http://www.pgeconomics.co.uk/pdf/bt_maize_in_spain.pdf

Bullock, D.S., Desquilbet, M., 2002. The economics of non-GMO segregation and identity preservation. Food Policy 27, 81-99.

Byrne, P. F., Fromherz, S., 2003 Can GM and Non-GM Crops Coexist? Setting a Precedent in Boulder County, Colorado, USA, Journal of Food, Agriculture & Environment 1, 258-261.

Colbach, N., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J. M., 2001. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. Agric. Ecosyst. Environ. 83, 255-270.

Coléno, F.C., 2008a. A simulation model to evaluate the consequences of GM and non-GM segregation rules on landscape organization. Journal of International Farm management. 4-3 (www.ifmaonline.org/pdf/journals/Vol4_Ed3_Coleno.pdf)

Coléno, F.C., 2008b. Simulation and evaluation of GM and non-GM segregation management strategies among European grain merchants. Journal of Food Engineering. 88; 306-314

Comité National du Transport. 2006. Simulateur de prix de revient transport régionaux (www.cnt.fr).

Demont, M., Daems, W., Dillen, K., Mathijs, E., Sausse, C., Tollens, E., 2008. Regulating coexistence in Europe: Beware of the domino-effect!. Ecological Economics, 64, 683-689.

Derieux, M., Bonhomme, R. 1982. Heat unit requirements for maize hybrids in Europe. Results of the European FAO sub-network. I. Sowing-silking period. Maydica. 27, 59-77.

Derieux, M., Bonhomme, R. 1990. Heat units requirements of maize inbred lines for pollen shedding and silking: results of the European FAO network. Maydica. 35, 41-46.

Devos, Y., Reheul, D., Thas, O., De Clercq, E. M., Cougnon, M., Cordemans, K., 2007. Implementing isolation perimeters around genetically modified maize fields. Agronomy For Sustainable Development, 27, 155-165.

Durand, R. 1969. Signification et portée des sommes de températures. Bull. tech. inf. 238, 185-190.

Eurobarometer. 2006. Europeans and biotechnology in 2005: Patterns and trends. European Commission's Directorate General for Research, Eurobarometer 64.3, 85 p.

European Commission. 2003a. Commission recommendations of 23 July 2003 on guidelines for the development of national strategies and best practices to ensure the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic farming, 2003/556/EC (notified under document number C(2003) 2624), , pp. pp 36-47. Official Journal of the European Union, 29/07/2003, vol. 46, L189.

European Commission. 2003b. Regulation (EC) N° 1829 / 2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically food and feed, pp. pp1–23. Official Journal of the European Union,18/10/2003, vol. 46, L268.

European Commission. 2003c. Regulation (EC) N° 1830 / 2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 03 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC, pp. pp 24-28. Official Journal of the European Union, L268, 18/10/2003, vol. 46, L268.

Furtan, W.H., Güzel, A., Weseen, A.S., 2007. Landscape clubs: co-existence of genetically modified and organic crops. Canadian Journal of Agricultural Economics, 55, 185-195.

Halsey, M.E., Remund, K.M., Davis, C.A., Qualls, M., Eppard, P.J., Berberich, S.A., 2005. Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance. Crop Science, 45, 2172-2185.

James, C., 2006. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2006. ISAAA Brief No. 35. ISAAA: Ithaca, NY.

Jank, B., Rath, J., Gaugitsch, H., 2006. Co-existence of agricultural production systems. Trends in Biotechnology, 24, 198-200.

Jones, J. M., Brooks, J. S., 1950. Effectiveness and distance of border rows in preventing outcrossing in corn. Oklahoma Agric. Exp. Sta. Tech. Bull.T-38: 1-18

Klein, E. K., Lavigne, C., Foueillassar, X., Gouyon, P. H., Laredo, C. 2003. Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. Ecol. Mon. 73, 131-150.

Levidow, L., Carr, S., Wield, D., 2000. Gentically modified crops in the European Union: regulatory conflicts as precautionary opportunities. Journal of Risk Research 3, 189-208.

Lüthy, J., 1999. Detection strategies for food authenticity and genetically modified foods. Food control, 10, 259-361.

Messéan, A., Angevin, F., Gómez-Barbero, M., Menrad, K., Rodríguez-Cerezo, E., 2006. New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture, Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission, EUR 22102 En, 112 p.

Meynard, J. M., Le Bail, M., 2001. Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ, Rapport du groupe 3 du programme de recherche Pertinence économique et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM. INRA – FNSEA, 56 p.

Miraglia, M., Berdal, K.G., Brera, C., Corbisier, P., Holst-Jensen, A., Kok, E.J., Marvin, H.J.P., Schimmel, H., Rentsch, J., Van Rie, J.P.P.F., Zagon, J., 2004. Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain. Food and Chemical Toxicology. 42, 1157-1180.

Nalebuff, B.J., Brandenburger, A.M., 2002. "Co-opetition". Proflebooks, London. 275p.

Raveneau, A., 2005. Stratégies de séparation des filières OGM et non OGM en amont de la chaîne logistique d'approvisionnement. Mémoire de fin d'étude de l'ENESAD. 33p

Raynor, G. S., Ogden, E. C., Hayes, J. V. 1972. Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. Agron. J. 64, 420-427.

Scipioni, A., Saccarola, G., Arena, F., Alberto, S., 2005. Strategies to assure the absence of GMO in food products application process in a confectionery firm. Food control 16, 569-578.

Agricultural Systems, 2009, 101 (1/2), 49-56, DOI: 10.1016/j.agsy.2009.03.002
The original publication is available at http://www.journals.elsevier.com/agricultural-systems/

Figure 1: Map of the region used for simulations (region of Selomes, Loir et Cher department, France). Silo locations are shown by circles. (Courtesy of the Institute for the Protection and Security of the Citizen, Joint Research Centre of the European Union and AUP-ONIGC - ex ONIC, Office National Interprofessionnel des céréales/French Interprofessional agency for cereal crops)

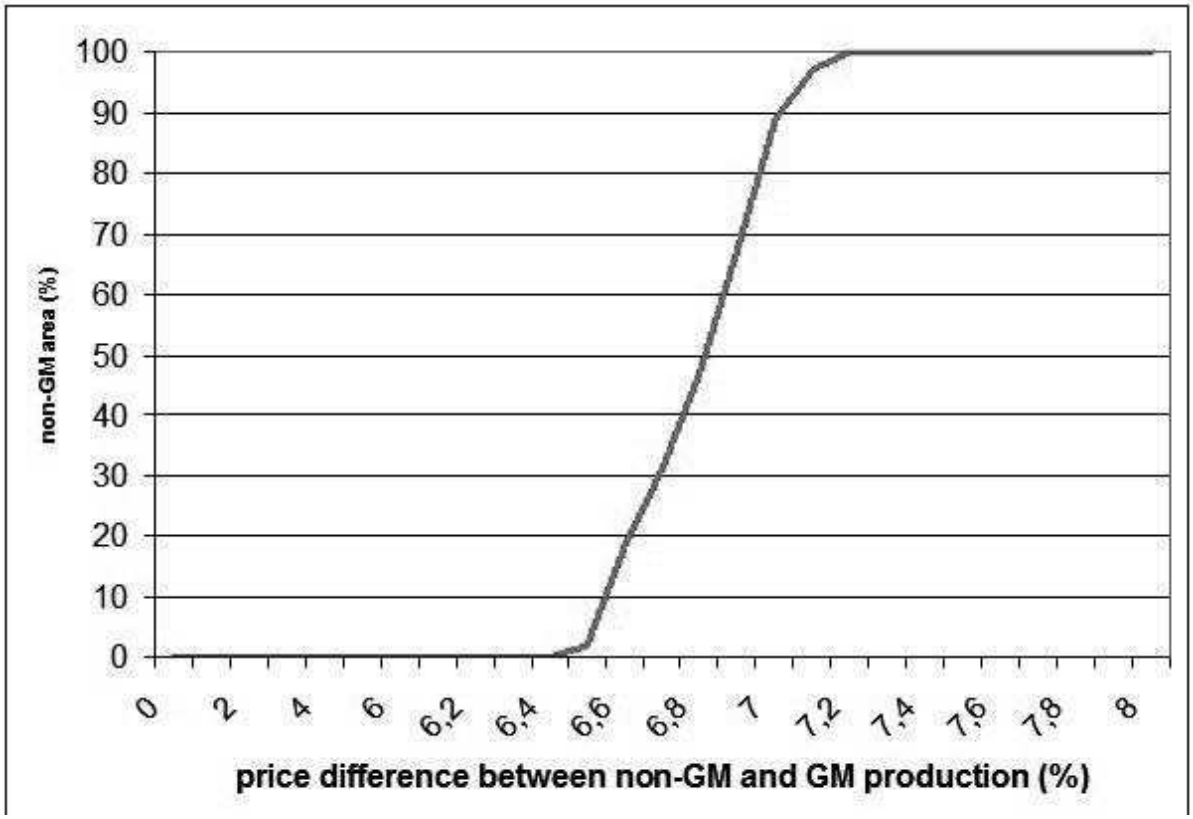


Figure 2: effect of price difference between GM and non-GM production on landscape use with a 7.15% yield difference

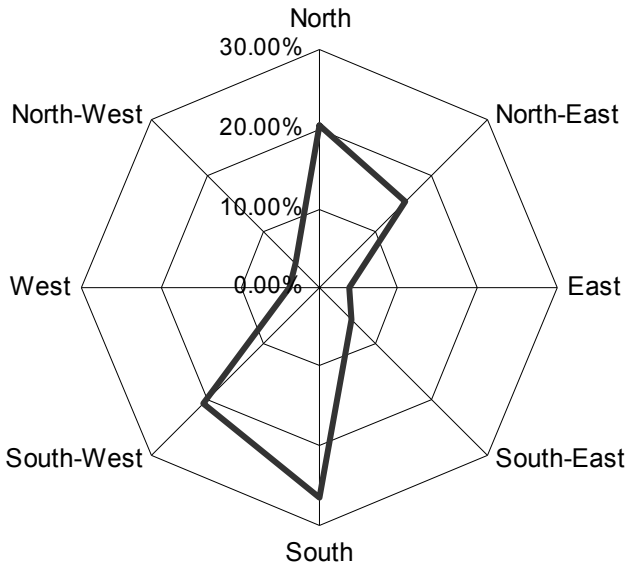


Figure 3: Wind distribution at Colmar

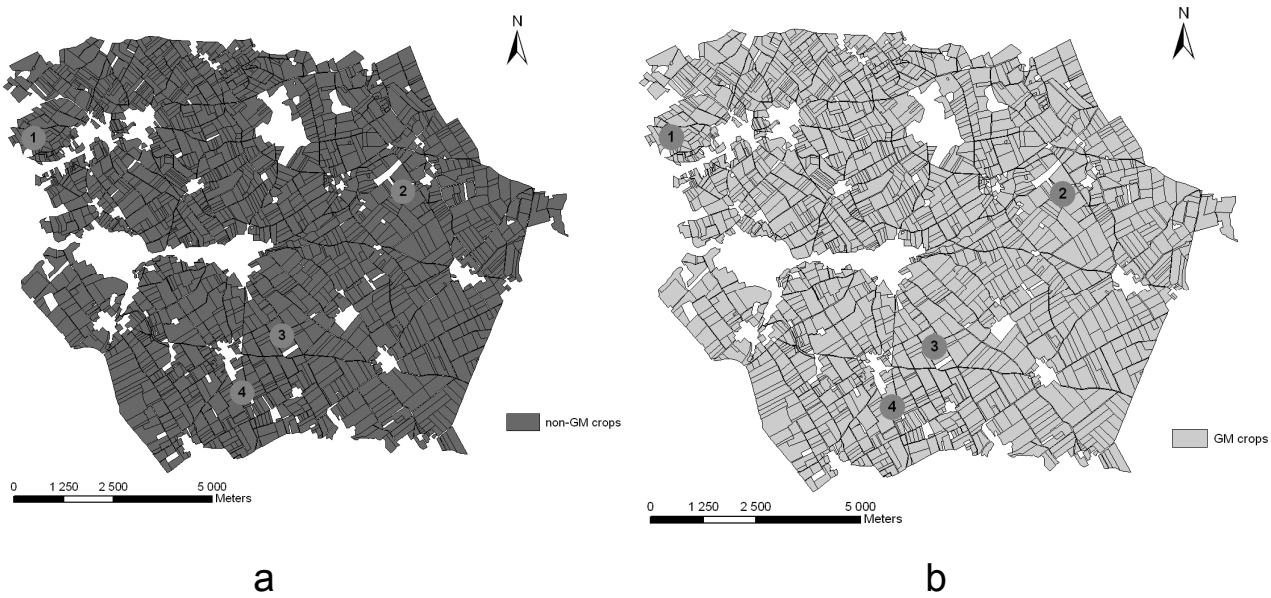


Figure 4: Allocation of GM and non-GM varieties. Temporal strategy
(a) with GM harvest duration shorter than non-GM harvest duration, (b) with GM harvest duration longer than non-GM harvest duration

Figure 5: Allocation of GM and non-GM varieties, spatial strategy with one grain merchant

Figure 6: Allocation of GM and non-GM varieties, spatial strategy with two grain merchants

Table 1: MAPOD® input data

Input data	Description
Field plan	Shape and size of fields, location of GM and non-GM maize crops
Climate (per day)	Temperature; rain; wind speed and direction
Cropping systems	Sowing dates and densities, drought stress before flowering, drought stress during flowering
Variety	Quantity of pollen per plant, pollen sensitivity to high temperature, temperature needs between sowing and female flowering, genotype of GM: homozygous or heterozygous Tassel height of each variety, Ear height of non-GM variety

Table 2: Work hypotheses

	GM maize	Non-GM maize	Sources
Seed price	210/223 €/ha	181/192 €/ha	Brookes, 2002
Treatment	0	24€ / ha	Brookes, 2002
Yield	100%	93%	Betbesé and Lucas, 2006
Price	100 €/t	107€/t	Coléno 2008a
Loss of quality	10 % of the price	10 % of the price	Raveneau, 2005
Transport costs	0.05 €/t/km	0.05 €/t/km	Comité National Routier, 2006

Table 3: GM impurity percentages in non-GM maize batches at the collection silo for the different scenarios.

Strategy	Colmar wind distribution	North wind	West wind
60% of GM randomly allocated and standard deviation in bracket "no collection strategy"	1.41 (0.03)	1.42 (0.04)	1.44 (0.04)
Spatial strategy with one grain merchant	0.16	0.25	0.18
Spatial strategy with two grain merchants	0.54	0.27	0.54

Table 4: percentage of the non-GM zone cultivated with GM that would lead to loss of the non-GM market.

Strategy	Colmar wind distribution	North wind	West wind
Spatial strategy with one grain merchant	0.73	0.63	0.70
Spatial strategy with two grain merchants	0.36	0.61	0.36

Agricultural Systems, 2009, 101 (1/2), 49-56, DOI: 10.1016/j.agsy.2009.03.002
The original publication is available at http://www.journals.elsevier.com/agricultural-systems/

Annexe 10

Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

Spatial sensitivity of maize gene-flow to landscape pattern: a simulation approach

Valérie Viaud • Hervé Monod • Claire Lavigne • Frédérique Angevin • Katarzyna Adamczyk

V. Viaud (corresponding author)
INRA, UMR1069 SAS
65 rue de Saint-Brieuc
CS 84215
F-35042 Rennes, France.
Email : valerie.viaud@rennes.inra.fr
Phone 33 2 23 48 51 42 / Fax 33 2 23 48 54 30

V. Viaud
Agrocampus Ouest, UMR1069 SAS
65 rue de Saint-Brieuc
CS 84215
F-35042 Rennes, France.

H. Monod • K. Adamczyk
INRA, UR341, MIA-Jouy
Domaine de Vilvert
F-78350 Jouy-en-Josas, France.

C. Lavigne
INRA, UR1115, PSH
Domaine Saint-Paul, site Agroparc
F-84000 Avignon, France.

F. Angevin
INRA, UAR1240, Eco-Innov
F-78850 Thiverval-Grignon, France.

Date of the manuscript draft: October 3, 2007

Manuscript word count: 6549

Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

Abstract

Pollen dispersal is a critical process defining connectivity among plant populations. In the context of genetically modified (GM) crops in conventional agricultural systems, strategies based on spatial separation are promoted to reduce functional connectivity between GM and non-GM crop fields. Field experiments as well as simulation studies have stressed the dependence of maize gene flow on distances between source and receptor fields and on their spatial configuration. However, the influence of whole landscape patterns is still poorly understood. Spatially explicit models, such as MAPOD-maize, are thus useful tools to address this question. In this paper we developed a methodological approach to investigate the sensitivity of cross-pollination rates among GM and non-GM maize in a landscape simulated with MAPOD-maize. The influence of landscape pattern on model output was studied at the landscape and field scales, including interactions with other model inputs such as cultivar characteristics and wind conditions. At the landscape scale, maize configuration (proportion of and spatial arrangement in a given field pattern) was shown to be an important factor influencing cross-pollination rate between GM and non-GM maize whereas the effect of the field pattern itself was lower. At the field scale, distance to the nearest GM maize field was confirmed as a predominant factor explaining cross-pollination rate. The metrics describing the pattern of GM maize in the area surrounding selected non-GM maize fields appeared as pertinent complementary variables. In contrast, field geometry and field pattern resulted in little additional information at this scale.

Keywords: Cross-pollination - Global sensitivity analysis - Landscape metrics - Multi-scale analysis - Pollen dispersal

Introduction

Pollen movement is a critical process in the functional connectivity among plant populations in patchy landscapes (Sork et al. 1999). Connectivity here refers to gene flow between two populations. Whereas connectivity plays a fundamental role for the dynamics of natural population it is problematic in agriculture where the objective is to maintain the purity of cultivars. This concern is especially acute in Europe where an EU regulation (EC 1829/2003) stresses the necessity to ensure co-existence between genetically modified (GM) and non-genetically modified (non-GM) supply chains and establishes a 0.9% threshold for maximum admissible level of mixing GM material with conventional material. Maize is a major crop in Europe and is the only GM crop commercially grown there. Accurate prediction of maize gene flow is thus needed to compare coexistence scenarios of GM and non-GM maize under various production systems and landscape features.

Maize pollen is mainly dispersed by wind (Bateman 1947a), and the basic processes leading to connectivity between two fields are well understood. Numerous field experiments have shown that most pollen is transported over short distances (i.e. less than a few hundred meters), although longer dispersal distances (more than 500m) may occur (Bateman 1947b; Paterniani and Stort 1974; Raynor et al. 1972). Additionally, the spatial arrangement of individuals and the sizes of donor and receptor populations have an influence on the probability of field-to-field cross-pollination (here defined as pollination of non-GM individuals by GM pollen). A meta-analysis on gene flow data for oilseed rape indicated that the width of the recipient field relative to the pollen-source field has a large effect on the proportion of GM pollen received by the recipient field (Damgaard and Kjellsson 2005). Recent simulation studies that used a fat-tailed power-law dispersal kernel between two fields of oilseed rape also stressed the influence of source width and recipient depth on cross-pollination rates (Klein et al. 2006).

Situations are more complex at the landscape scale with a large number of interacting fields and a diversity of spatial arrangements of fields. A detailed understanding of the impact of landscape patterns on cross-pollination among fields is thus required to define management strategies to protect the purity of varieties. However, few datasets are available to address this question yet. Simulation studies with spatially explicit gene flow models such as MAPOD-maize (Angevin et al. 2008; Lavigne et al.,2008) offer an alternative. Those gene flow models account for factors such as crop characteristics, agricultural techniques, climatic conditions and the spatial pattern of crop fields. Global sensitivity methods are necessary to take into account these different input variables and parameters as well as their variability (Saltelli et al. 2000). Applied to spatially explicit models, such methods can describe the sensitivity of model output to variation among landscapes (Crosetto et al. 2000), and determine which spatial variables have the most influence on certain predictions (Jager et al. 2005) or their interaction with other variables or parameters. Colbach et al. (2005) used such methodological framework to address the spatial sensitivity of an oilseed-rape gene flow model to landscape pattern, considering cross-pollination to a central non-GM maize field and using a limited number of field patterns (i.e. the spatial structure of fields). However, the critical point to fully capture the relationship between landscape pattern and cross-pollination is to be able to generate a set of landscapes reflecting the diversity found in agricultural areas where GM maize is or may be cultivated.

This landscape diversity arises from field patterns and from the spatial arrangement of GM and non-GM crops within the field pattern.

The aim of this study was to develop a methodology to assess the sensitivity of the gene flow model MAPOD-maize to landscape characteristics. Landscape pattern, here defined as the combination of field pattern and spatial arrangement of GM and non-GM crops in the field pattern, was incorporated into the sensitivity analysis as an explicit input factor. Its influence on model output at the landscape and the field scale was investigated, as were its interactions with other model inputs such as cultivar characteristics and wind conditions. In addition, the relative importance of metrics describing the local environment of individual non-GM maize fields was investigated.

Material and methods

MAPOD-maize model

MAPOD is a spatially explicit model simulating cross-pollination in agricultural landscapes on a daily time-step with a quasi-mechanistic approach (Angevin et al. 2008). During the flowering period pollen is dispersed from each field using an individual Normal Inverse Gaussian dispersal function (Klein et al. 2003). The model uses various types of input data: (1) a landscape pattern delineating the agricultural fields in vector format and transformed into a regular square grid of ‘GM maize’, ‘non-GM maize’ or ‘non-maize’ pixels; (2) daily climate data such as wind data; (3) agricultural practices on each field such as sowing date and density; (4) cultivar characteristics such as the quantity of pollen per plant, the precocity in growing degree days, the heterozygosity of GM cultivars, or the difference in height between male flowers and female flowers of maize. The main output results are the expected proportion of total seeds that are hybrid at harvest (cross-pollination rate) for each non-GM pixel.

Main features considered

A set of contrasting landscapes was generated using real-world field patterns. They differed in field shapes and sizes, GM and non-GM maize areas and crop spatial arrangement. The characteristics of the pollen dispersal curve were studied indirectly through the difference in height between male flowers and female flowers of maize, which influences the distances of GM pollen dispersal and the probability of its reception by non-GM individuals (Klein et al. 2003). Wind speed and direction were also considered. Flowering dynamics were not varied. Consequently, we simulated the maximum risk of cross-pollination, since GM and non-GM cultivars were assumed to flower simultaneously (Romary 2005).

Factorial simulation design

A complete factorial design (Campolongo and Saltelli 2000) was built with the input factors described below, requiring 5760 simulation runs.

Landscape factors

Field pattern (MAP). Six 1500?1500m contrasting real-world field patterns located in France were chosen. They differed in the configuration of field size, shape and arrangement (Table 1).
Maize area (MAIZ) and GM-maize area (GM). Total maize area was set to either 70% or 20% of the agricultural land, simulating French production areas, where maize is or is not a major crop. GM maize area was set to either 10% or 50% of the total maize area, simulating low or high acceptance of GM maize by farmers.
Maize spatial arrangement (AGGR). In some agricultural areas, maize fields are clustered due to soil constraints, water availability for irrigation or farm organization. Farmers may either collectively decide to isolate GM from non-GM maize fields by allocating them to different areas or to grow GM crops on an individual basis. Consequently, three spatial arrangements of maize fields were considered: (1) random distribution of non-GM and GM maize fields; (2) aggregated distribution of maize with non-GM and GM maize fields in different areas; (3) aggregated distribution of maize with non-GM and GM maize fields mixed within aggregates (Fig. 1).

The four factors *MAP*, *MAIZ*, *GM* and *AGGR* resulted in 72 (6?2?2?3) combinations. Ten allocations of GM and non-GM maize to fields were randomly generated for each combination under the constraints induced by the factors *MAIZ* (±5%), *GM* (±5%), and *AGGR*. One allocation among the ten was selected after visual inspection.

Grid cell size (Step)

Two grid cell sizes were considered: field patterns were divided into either 5?5m or 10?10m regular square grids.

Ratio between GM and non-GM pollen production per unit area (Poll)

The ratio between the quantities of pollen produced by GM and non-GM cultivars per unit area was set to either 0.33 or 3.75. These values represent the large range of possible ratios when considering the range of sowing densities and pollen productivity in France, according to experts consulted at GEVES (Groupe d'Etude et de Contrôle des Variétés et des Semences: French group for the study and inspection of varieties and seeds) and other technical institutes.

Difference in height between male flowers and female flowers of maize (Heig)

According to measurements of 30 cultivars, the difference in height between male flowers and female flowers of maize varies between 0.83 and 1.52m. Two levels were considered: 0.8m and 1.75m, assumed to be equal for GM and non-GM maize (GEVES, pers. comm.)

Wind direction (Wdir) and speed (Wspe)

Ten different conditions during pollen dispersal were studied, combining wind speed and direction: (1) no wind, implying isotropic dispersion; (2) (3) (4) (5) a $4ms^{-1}$ wind uniformly blowing from each on the four cardinal points (North, East, South, West); (6) a $4ms^{-1}$ wind blowing from each of the four cardinal points for equal proportions on each day; (7) (8) (9) (10) a $14ms^{-1}$ wind uniformly blowing from each of the four cardinal points. The latter correspond to an extreme wind speed.

MAPOD-maize simulations and response variables

MAPOD output was integrated into response variables at two different scales. At the landscape scale, the response variables of interest were the average cross-pollination rate of all non-GM maize cells by GM pollen and the proportion of non-GM maize fields whose average cross-pollination rate by GM pollen was higher than 0.9% (EU threshold) or 0.1% (detection threshold). At the field scale, the response variables of interest were the average GM cross-pollination rates of each non-GM field and a binary response y_x indicating whether average cross-pollination rate y was higher than a targeted threshold x% or not: $y_x = 1$ if $y>x$, $y_x = 0$ if $y \leq x$. We focused on two values of y_x, y_{01} and y_{09}, corresponding to the thresholds 0.1% and 0.9% respectively.

Additionally, geometry and environment of non-GM maize fields were described for each simulation. Area (*Area*), perimeter (*Peri*), main orientation (*Orie*) and elongation (*Elon*) of the non-GM maize fields were calculated. The main orientation was defined as a categorical variable with three modalities: "no preferential orientation"; "North-South"; "East-West". Elongation was defined as the ratio between the largest and shortest widths of a field.

The environment of non-GM maize fields with respect to pollen sources was characterized with two metrics: the surrounding surface area occupied by GM or non-GM maize and the distances to the nearest GM or non-GM maize fields.

The surface areas of GM and non-GM maize within 20, 50 and 100m-wide buffers around each non-GM maize field, were calculated. The GM and non-GM maize areas were also calculated within 20, 50 and 100m-wide "orientated buffers" restricted to locations within ± 45° of lines extending from each pixel in the field towards the origin of the dominant wind (Fig. S1). Note that in simulations with no dominant wind direction, orientated buffers were the same as non-orientated ones.

Several metrics were then calculated from these measures. Let be x_1=20, x_2=50 and x_3=100, let bx_0 denote the area of the non-GM maize field F, and for i =1, 2 or 3 let bx_i denote the total area of F plus its x_i-meter-wide buffer. In addition let $bx_i.gm$ and $bx_i.ngm$ denote the corresponding sub-areas occupied by GM and non-GM maize respectively (so that $bx_0.gm$=0 and $bx_0.ngm=bx_0$), and let obx_i, $obx_i.gm$ and $obx_i.ngm$ denote the same quantities for the orientated buffers. The following quantities were calculated:

(1) buffer area proportion of GM and non-GM maize

$$pbx_i.gm = \frac{bx_i.gm - bx_{i-1}.gm}{bx_i - bx_{i-1}} \text{ and } pbx_i.ngm = \frac{bx_i.ngm - bx_{i-1}.ngm}{bx_i - bx_{i-1}} \;;$$

(2) GM maize ratio within buffers

$$rx_i.gm = \frac{bx_i.gm}{bx_i.gm + bx_i.ngm} \;;$$

(3) GM maize ratio within orientated buffers

$$orx_i.gm = \frac{obx_i.gm}{obx_i.gm + obx_i.ngm},$$

where $rx_i.gm$ and $orx_i.gm$ are more synthetic measures than $pbx_i.gm$ since they give the proportions of GM area versus total maize area within x_i meters from field F, including F.

Four different euclidean metrics were used to describe the distance to the nearest GM and non-GM maize fields: edge-to-edge distance (*de.gm*), centroid-to-centroid distance (*dc.gm*), edge-to-edge "orientated" distance (*ode.gm*), and centroid-to-centroid "orientated" distance (*odc.gm*). Like for the buffers, orientated distance was defined as the distance to the nearest field in the direction of the dominant wind ± 45°. The same variables were calculated for the distance to the nearest non-GM maize field (*de.ngm, dc.ngm, ode.ngm, odc.ngm*).

Statistical analyses

To avoid edge effects only the fields with more than 50% of their area further than 100m from the map edge were kept in the statistical analyses, since the non-GM maize fields located on the borders of the field map were expected to receive less pollen than more central fields. The sizes of the non-GM maize fields kept in the statistical analyses ranged from 0.25 to 11.70ha. Grid cell size appeared to have negligible effects on simulated cross-pollination rates. Hence, analyses were restricted to the 2880 simulations performed with the smaller cell size (5?5m).

Landscape scale

The objectives were to assess the global range of cross-pollination rates across simulated situations and to evaluate their sensitivity to the main input factors. Thus, graphical representations and analyses of variance (ANOVA) were performed on three response variables: log-average cross-pollination rate of non-GM maize fields and proportions of non-GM maize fields with a cross-pollination rate higher than either 0.1% or 0.9%. Before log-transformation, the lowest average cross-pollination rates were truncated at the minimum value $4.53?10^{-5}$. The ANOVA model combined four fixed synthetic input factors: field pattern (*MAP,* 6 modalities), maize pattern (combinations of *MAIZ, GM, AGGR,* 12 modalities), wind condition (combinations of *WDIR, WSPE,* 10 modalities), and cultivar traits (combinations of *POLL, HEIG,* 4 modalities). A sensitivity index of each factorial term was calculated by dividing its sum of squares by the total sum of squares (Monod et al. 2006).

Field scale

The objectives were to assess the sensitivity of the field-average cross-pollination rate to local field characteristics (geometry and maize environment) and its possible dependence on landscape features (*MAP, MAIZ, GM, AGGR*), wind (*WDIR, WSPE*) and cultivar traits (*HEIG, POLL*). Thus, we first ranked field characteristics and input factors with respect to their influence on the risk that a non-GM field would exceed the 0.1% or 0.9% thresholds. This was done by random forest analyses on both y_{01} and y_{09}, using the variables for field geometry and environment and the design factors as potential predictors. Random forest is a data mining method based on classification and regression trees (Breiman 2001). It is well suited to the analysis of complex ecological data (De'ath and Fabricius 2000). Random forests were grown on the basis of 1000 bootstrap samples using the R randomForest package (Breiman and Cutler

2003). Interpretation was based on the Gini importance criterion, which measures the decrease in a node's impurity every time the variable is used for splitting (Breiman 2001).

The second step aimed to identify and compare parsimonious logistic regression models that were efficient for predicting the average risk that the cross-pollination calculated by MAPOD would exceed a given threshold. The candidate predictor variables were the field characteristics not discarded in random forest analysis. Model selections were performed separately at the levels of the input factors that had been ranked as highly influential in the random forest procedure. In principle, stepwise selections were performed with the Akaïke information criterion (AIC). In practice, the models minimizing AIC contained highly correlated predictor variables and their parameter estimates were hardly interpretable because of confusion effects. Consequently we further limited the size of the selected models.

In a third step, the classification performances of the logistic models and their prediction accuracy were assessed by Receiver Operating Characteristics (ROC) analyses, and interactions with the field map and input factors were introduced in the models to check how robust they were with respect to landscape features. Recall that the output of the logistic models is an estimated probability P that cross-pollination would exceed the targeted threshold x (0.1% or 0.9%). When associated with a decision threshold (t_d), this output can be used to classify the fields into two classes: if $P > t_d$, the field is classified as "positive"; otherwise, i.e. $P \leq t_d$, the field is classified as "negative". These predicted classes based on the output of the logistic model can then be compared to the true classes as simulated by MAPOD using several criteria. The sensitivity or true positive rate (TP) is defined as the number of fields with $P > t_d$ and $y>x$ divided by the total number of fields with $y>x$, while the specificity or true negative rate (TN) is defined as the number of fields with $P \leq t_d$ and $y \leq x$ divided by the total number of fields with $y \leq x$. The ROC curve is obtained by plotting sensitivity against the false positive rate (1-specificity) when the decision threshold t_d is varied from 0 to 1. The accuracy of the model is measured by the area under the ROC curve (AUC), which is equal to 0.5 for a non-informative model leading to random decisions and to 1.0 for a perfect model (Swets 1988; Makowski 2005).

Results

Landscape scale

The factorial simulation design ensured a large diversity of simulated landscapes with regard to the geometry and environment of non-GM maize fields (Table S1) and resulted in a large range of simulated cross-pollination rates over these landscapes (Fig. S2). The average rate was null in 16 out of the 2880 scenarios due to the specific locations of non-GM and GM maize fields and wind direction in two field maps (maize fields were few, located near the map border, and GM-maize fields were located leeward of the non-GM ones, so that GM pollen was mainly dispersed in the opposite direction). In 150 scenarios, all non-GM maize fields in the map had cross-pollination rates higher than 0.9%. GM-maize proportion was high (50%) in all those cases, and the ratio between GM and non-GM pollen production was also at the higher level (3.75) in 140 of the 150 scenarios. Similarly, all non-GM maize fields had cross-pollination

rates higher than 0.1% in 402 scenarios, and GM proportion within maize was high (50%) in most of these scenarios.

Almost all variability at the landscape scale was explained by an ANOVA model including all main effects, all two-factor interactions and two three-factor interactions (Table 2; R^2 = 0.99, 0.96, and 0.94 for the three response variables). As expected from the variability of the input factors, cultivar traits and maize pattern were the most influential factors. The ranking of factors was similar for all three response variables; however the relative influence of maize pattern was much larger for the proportion of non-GM fields with cross-pollination over 0.9% and even more for those with cross-pollination over 0.1% than for the log average rate. On the contrary, cultivar traits had much less influence on the proportions of non-GM maize fields over a threshold than on the log-average cross-pollination rate. Effects of maize pattern were mainly due to the effects of *MAIZ, GM,* and *AGGR*. The influence of field pattern was weak, but field pattern was involved in non-negligible interactions with maize pattern and wind factors. Overall, the sensitivity indices including field pattern summed to over 0.28, 0.12, and 0.19 for log-average cross-pollination rate, proportion of non-GM maize fields with cross-pollination over 0.9% and proportion of non-GM maize fields with cross-pollination over 0.1% respectively.

Field scale

The cross-pollination rate simulated with MAPOD was null in 32% (21081 fields) of the non-GM maize fields. The median cross-pollination rate was 0.003, the mean was 0.047 and the maximum was 0.97. Cross-pollination rate was higher than 0.1% in 57% (38123 fields) of the non-GM maize fields and higher than 0.9% in 40% of them.

Importance ranking of input factors and field characteristics

According to the random forest analyses (Fig. 2), the minimum distance to a GM maize field and the GM maize ratios within buffers were the most important field characteristics to predict the risk of exceeding the 0.9% and 0.1% thresholds of cross-pollination. The orientated versions of these field characteristics had more influence, showing the importance of wind direction. Additionally, edge-to-edge distances were more relevant than centroid-to-centroid distances. A second group consisted of the factors in the factorial design, in particular *POLL,* but also *GM, WSPE, WDIR* and *HEIG*. In contrast, the distances to non-GM maize fields and the variables describing the non-GM environment of the fields and field geometry had low importance. The rank of the top splitting variables was similar for both dependent variables. As expected, *POLL* had a higher Gini importance index for y_{09} than for y_{01}: only 15% of the fields had a cross-pollination rate above 0.9% and, among them, 89% occurred in a scenario with the quantity of pollen produced by GM maize at its highest level. The minimum distance to a GM maize field was more important than orientated ratios for y_{01}, but not for y_{09}.

Interactions between the main input factors and field characteristics

Above, GM orientated factors and the distance to the nearest GM maize field were identified as the most important variables to predict cross-pollination. Their interactions with *POLL* and *WSPE* were investigated graphically through conditioning plots (Venables and Ripley 2002). The relationship between *or100.gm* and the cross-pollination rate was approximately linear,

with a slope highly dependent on the levels of *POLL* and *WSPE* (Fig. 3). For a given ratio of GM maize inside the 100m-wide orientated buffer, the cross-pollination rate was higher and much more variable when the ratio between GM and non-GM pollen production was high, and it increased with wind speed. Similar effects were observed for the ratios in the 20 and 50m-wide buffers. Similar but smaller effects were also observed for interactions with *HEIG*.

The relationship between *or100.gm* and the cross-pollination rate was much less dependent on the levels of *MAP* and *WDIR* (Fig. S3). However the slope was systematically larger with unidirectional wind than with wind blowing uniformly from all four cardinal points. In addition, the slopes for an O1 field pattern were greater between north or south winds and east or west winds. Note that O1 is made of long narrow fields, elongated in the east-west direction (Table 1).

Logistic regression models to predict the risk of exceeding cross-pollination thresholds

Logistic regression was applied to the binary variables y_{01} and y_{09} as dependent variables and field characteristics as predictors. Based on the random-forest results, the field characteristics *pbxi.ngm* were discarded, and the orientated (*orxi.ngm)* rather than the non-orientated GM maize ratios within buffers were used. To get a better view of model behaviour, analyses were performed separately for different wind speeds (0, 4 or 14ms^{-1}) and two levels pollen ratio. Thus, twelve stepwise regressions (2 dependent variables ? 3 wind speeds ? 2 pollen ratios) were performed, starting from the null model with no intercept and limited to three predictors for simplicity and parsimony (Table 3). In all twelve cases, edge-to-edge orientated distance (*ode.gm)* and one of the (*orxi.ngm)* characteristics were the first two selected predictors. Next came either a geometry field descriptor (*Area* or *Peri*) or another distance ratio. The best models according to AIC included some additional predictors, but most of the deviance reduction was obtained by the first three predictors. The deviance reduction was much larger at null wind speeds (more than 85%) than at the non-null wind speeds (less than 70%) (Figure 4). As a consequence, the ability to predict the risk for a field to exceed a threshold was higher when wind speed was null. As distance to the closest GM maize field increased, the risk of exceeding a threshold decreased more slowly as wind speed or GM pollen ratio increased.

Interactions between local field characteristics and global landscape features

Models including interactions between local predictors and the landscape pattern input factors were fitted to evaluate whether global landscape features still had influence after accounting for the local field environment in the previously selected logistic models. *GM* was the input factor showing the largest interactions with the local field characteristics (results not shown). However, ROC analyses showed that including these interactions helps to predict the risk of exceeding cross-pollination thresholds only marginally (Figure S4).

Discussion

Methodology

Sensitivity analyses are essential complementary tools to extract information from models such as MAPOD. In this study, we investigated the influence of landscape pattern and field environment on cross-pollination in co-existing GM and non-GM maize crops. Formalized

sensitivity analyses procedures are not commonly used to test for model sensitivity to landscape pattern (Delgado and Sendra 2004). However, similar approaches are used in spatial uncertainty analyses in order to assess the range of model predictions generated from spatial uncertainty in landscape data. The methodology described in this paper offers a way to derive operational rules of landscape management from simulations with spatially explicit ecological models. However, sensitivity analyses describe the behaviour of a model and not the behaviour of the real system under study. Hence, caution must be exerted when interpreting results.

The use of global sensitivity analysis methods was justified by the complexity of the MAPOD model and by the numerous potential interactions of input data with landscape-pattern and field-environment variables. Exploring the effect of landscape organization on cross-pollination rate within the known range of variability of other input variables and parameters is indeed relevant since the effects of landscape characteristics were shown to depend on wind conditions and cultivar traits.

With respect to the global-sensitivity principle, this study is innovative in two important aspects for models with landscape features as input data. First, analysis was based on realistic landscapes designed to represent the diversity of landscape patterns where GM maize is cultivated in France and other European regions. We used real-world field patterns with contrasting field size, shape, and allocations of GM and non-GM maize. Second, several metrics were compared that had been identified in previous two-field studies (Klein et al. 2006; Kuparinen et al. 2007).

The sensitivity analyses were based on the combined use of classical statistical methods (factorial design and ANOVA) dedicated to analysis of variability and of data-mining methods (random forest, ROC curve analysis). The analyses were associated with a complete factorial simulation design, which was simple to implement, facilitated the interpretation at the landscape scale, and made it possible to perform analyses at the field scale as a function of the most influential factors at the landscape scale.

Sensitivity of cross-pollination to landscape pattern and field environment

Contrasting maize patterns and cultivar traits were used in the simulations and identified as the most influential factors at the landscape scale. Maize pattern had a particularly strong influence on the number of fields that were cross-pollinated by GM pollen and on the average risk for a field to exceed the 0.1% or 0.9% thresholds of cross-pollination. This result confirmed the results of other simulations on maize (Messéan et al. 2006) and on oilseed rape (Ceddia et al. 2007). Beyond these major effects, additional factors such as wind speed and direction or overall field pattern were shown to have a large impact on cross-pollination at the landscape scale, and these impacts depended on the maize and GM maize proportions at the landscape scale as well as on their arrangement.

Among the metrics describing landscape patterns in the local environment of non-GM maize fields, distance to the nearest GM maize field was confirmed as a major variable to predict cross-pollination rate. The ratio of GM maize versus total maize within a given distance from the target field appeared as a pertinent complementary variable. It can be considered as a synthetic measure of the field environment and the field geometry, as it includes field area in its denominator and, indirectly, the field perimeter (with GM maize area) in the buffer

surrounding the target field. The protective effect of a non-GM maize environment around these fields appeared to be small compared with the effect of the other factors.

In our simulations, the geometry of the non-GM maize fields was shown to play a weak role in predicting the risk of cross-pollination, first, indirectly through the GM-maize ratio variables, second, directly through the perimeter variable. However, effects of elongation, size and perimeter of the non-GM crop fields were weaker than those in other simulation studies (Klein et al. 2006; Kuparinen et al. 2007). This is at least partly due to the focus of other studies on a single emitting GM crop fields and single recipient non-GM crop fields. We assume therefore that, when upscaling from two fields to a landscape, the effect of field geometry becomes less crucial because of the spatial interactions among fields and because of other factors varying at the landscape scale. Field geometry, for example, had only a small effect as compared to that of the cropping system in a simulation model for oilseed rape (Colbach et al. 2005).

For given crop-cultivar properties, local field characteristics provided efficient predictors of the risk for a non-GM maize field to exceed a cross-pollination threshold when wind speed was null, but they were less efficient when non-null wind speed was introduced. Our results indicate that the extent to which a neighbouring area influences cross-pollination rate depends greatly on wind conditions. This suggests that the definition of separation distances between GM and non-GM crop fields should be adapted to the local climatic context. The effect of wind conditions on field-to-field cross-pollination also has been stressed by Hoyle and Cresswell (2007). However, further work is needed to evaluate these dynamics; in particular, the influence of the dispersal kernel used in MAPOD-maize must be evaluated more closely by specific sensitivity analyses.

Field pattern and characteristics of the landscape were not substantially informative for local cross-pollination rate. On the other hand, our results show that considering only a non-GM crop field's topological and geometrical relationships with its nearest GM crop field is not sufficient to explain cross-pollination observed at the field scale. Our study thus suggests that considering an intermediate scale, one between the local and the landscape scale, will be most relevant when establishing management rules for controlling cross-pollination from GM crops.

Supplementary material

Supplementary material is available online: www.springerlink.com

Table S1 Summary statistics on the average values of variables describing the geometry and environment of the non-GM maize fields across the whole set of simulated scenarios.

Fig. S1 Delineation of the 20, 50 and 100m-wide buffers around a non-GM maize field F and definition of the 20, 50 and 100m-wide orientated buffers for a single point P_y in F. The total 20, 50 and 100m-wide orientated buffers around F are the union of the corresponding orientated buffers of all points within F.

Fig. S2 Histograms of MAPOD output variables at the map scale. (A) Average cross-pollination rate; (B) log-transformed average cross-pollination rate; (C) proportions of non-GM maize fields with cross-pollination over 0.1%; (D) proportions of non-GM maize fields with cross-pollination over 0.9%.

Fig. S3 Cross-pollination rate *versus* 100m-wide orientated GM maize ratio as a function of *MAP* (A1, O1, P1, S1, S4, and T1) and wind direction *WDIR* (N, S, E, W: wind blowing

uniformly from north, south, east and west, respectively; NWSE: wind blowing from the four cardinal points in equal proportions of time) and restricted to $POLL$=3.75, $HEIG$=1.75m and $WSPE$=4ms^{-1}.

Fig. S4 Receiver-operating characteristics (ROC) curves for several logistic models including *ore.gm+or100.gm+peri* fitted on the dependent variable y_{01}, when GM pollen ratio equals 3.75: field descriptors only (AUC=0.902) (black line); field descriptors + *GM* input factor + interactions (AUC=0.921) (dotted line); field descriptors + all maize pattern and map input factors + interactions (AUC=0.935) (broken line).

Acknowledgements

We thank the Institute for the Protection and Security of the Citizen (Joint Research Centre of the European Union) and AUP-ONIGC for providing the maps of actual landscapes. We are very grateful to Mathieu Leclaire for his assistance with using MAPOD and to Mickael Corson for English corrections. This work was supported by the research program “Impact des OGM" (2002-2006) funded by the French Ministry of Research and by the European project SIGMEA (Contract n°502981).

Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

Table 1 Main geometrical characteristics and maps of the six field patterns.

Field patterns	**A1**	**O1**	**P1**	**S1**	**S4**	**T1**
Number of fields	100	124	175	93	62	180
Mean field area (ha)	2.1	1.7	1.1	2.3	3.5	1.1
Mean field perimeter (m)	610	640	450	660	780	430
Mean field elongation [a]	3.07	6.57	2.47	3.34	2.55	3.95
Field orientation (% fields)						
- East-West	27%	56%	30%	35%	32%	38%
- North-South	56%	19%	50%	56%	49%	36%
- No orientation	17%	25%	20%	9%	19%	26%
Maps [b]						

[a] Elongation equals the ratio between the largest and shortest widths of a field.

[b] Grey polygons indicate agricultural fields whereas white polygons indicate non-agricultural areas (roads or built areas).

Table 2 ANOVA type I sums of squares (fixed effects) and sensitivity indices (SI) at the landscape scale, associated with main effects and some interactions of field pattern (*MAP*), maize pattern (*MAIZ, GM, AGGR*), wind (*WDIR, WSPE*), and cultivar traits (*HEIG, POLL*). SI equals the sum of squares divided by the total sum of squares.

Factorial effects	Degrees of freedom	Log average outcrossing rate (R^2=0.99)		Proportion of non-GM fields > 0.009 (R^2=0.94)		Proportion of non-GM fields > 0.001 (R^2=0.96)	
		Sum of Squares	SI (%)	Sum of Squares	SI (%)	Sum of Squares	SI (%)
Maize pattern	11	7591.7	34.5	313.9	55.6	365.3	62.4
Cultivar	3	6455.5	29.4	100.1	17.7	31.5	5.4
Wind	9	1053.9	4.8	15.1	2.7	25.5	4.4
Map	5	158.9	0.7	2.0	0.4	1.7	0.3
Map x Maize pattern	55	2820.0	12.8	18.4	3.3	29.9	5.1
Maize pattern x Wind	99	309.7	1.4	12.0	2.1	17.4	3.0
Map x Wind	45	261.4	1.2	5.9	1.0	9.6	1.6
Cultivar x Wind	27	35.0	0.2	5.1	0.9	4.2	0.7
Maize pattern x Cultivar	33	23.2	0.1	17.2	3.1	6.1	1.0
Map x Cultivar	15	7.9	0.0	0.3	0.1	0.3	0.1
Map x Maize pattern x Wind	495	2965.1	13.5	36.3	6.4	67.4	11.5
Map x Maize pattern x Cultivar	165	75.3	0.3	4.2	0.7	2.7	0.5

Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

Table 3 Results at the field scale. Estimated parameter values for logistic regressions using y_{01} and y_{09} as dependent variables as a function of pollen ratio (*POLL*) and wind speed (*WSPE*). Models are restricted to the best three predictors among the field characteristics.

Pollen ratio	Dependent variable	Wind speed 0ms^{-1} (3248 fields, null deviance = 4502.7)			Wind speed 4ms^{-1} (16240 fields, null deviance = 22513.4)			Wind speed 14ms^{-1} (12992 fields, null deviance = 18010.7)		
		Factor	**Estimate**	**z-value**	**Factor**	**Estimate**	**z-value**	**Factor**	**Estimate**	**z-value**
0.33	y_{01}	*ode.gm*	0.092	11.3	*ode.gm*	0.0046	53.6	*ode.gm*	0.0048	37.5
		or20.gm	-35.4	-5.2	*or20.gm*	-76.7	-11.1	*or100.gm*	-11.3	-26.5
		or50.gm	-17.1	-7.0	*or100.gm*	-12.5	-23.9	*Peri*	-0.00060	-11.4
		Residual deviance		646.3	Residual deviance		10966.8	Residual deviance		10431.7
	y_{09}	*ode.gm*	0.41	13.3	*ode.gm*	0.017	25.7	*ode.gm*	0.0069	32.1
		or20.gm	-28.5	-16.5	*or20.gm*	-32.0	-33.0	*or100.gm*	-9.31	-33.8
		Area	0.00011	2.0	*Peri*	0.0010	18.5	*Peri*	0.00084	14.7
		Residual deviance		744.8	Residual deviance		7096.7	Residual deviance		7921.1
3.75	y_{01}	*ode.gm*	0.019	17.8	*ode.gm*	0.0046	38.5	*ode.gm*	0.0047	37.5
		or20.gm	-365.0	-2.1	*or100.gm*	-30.5	-18.6	*or100.gm*	-16.4	-21.0
		or100.gm	-49.8	-12.8	*Peri*	-0.0017	-29.5	*Peri*	-0.0013	-22.3
		Residual deviance		586.4	Residual deviance		11754.9	Residual deviance		10190.4
	y_{09}	*ode.gm*	0.044	8.5	*ode.gm*	0.0038	50.4	*ode.gm*	0.0046	37.0
		or50.gm	-45.8	14.4	*or20.gm*	-85.6	-10.2	*or100.gm*	-11.6	-26.0
		Peri	0.0017	7.0	*or100.gm*	-14.7	-24.4	*Peri*	-0.00067	-12.8
		Residual deviance		599.5	Residual deviance		11662.4	Residual deviance		10611.2

Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

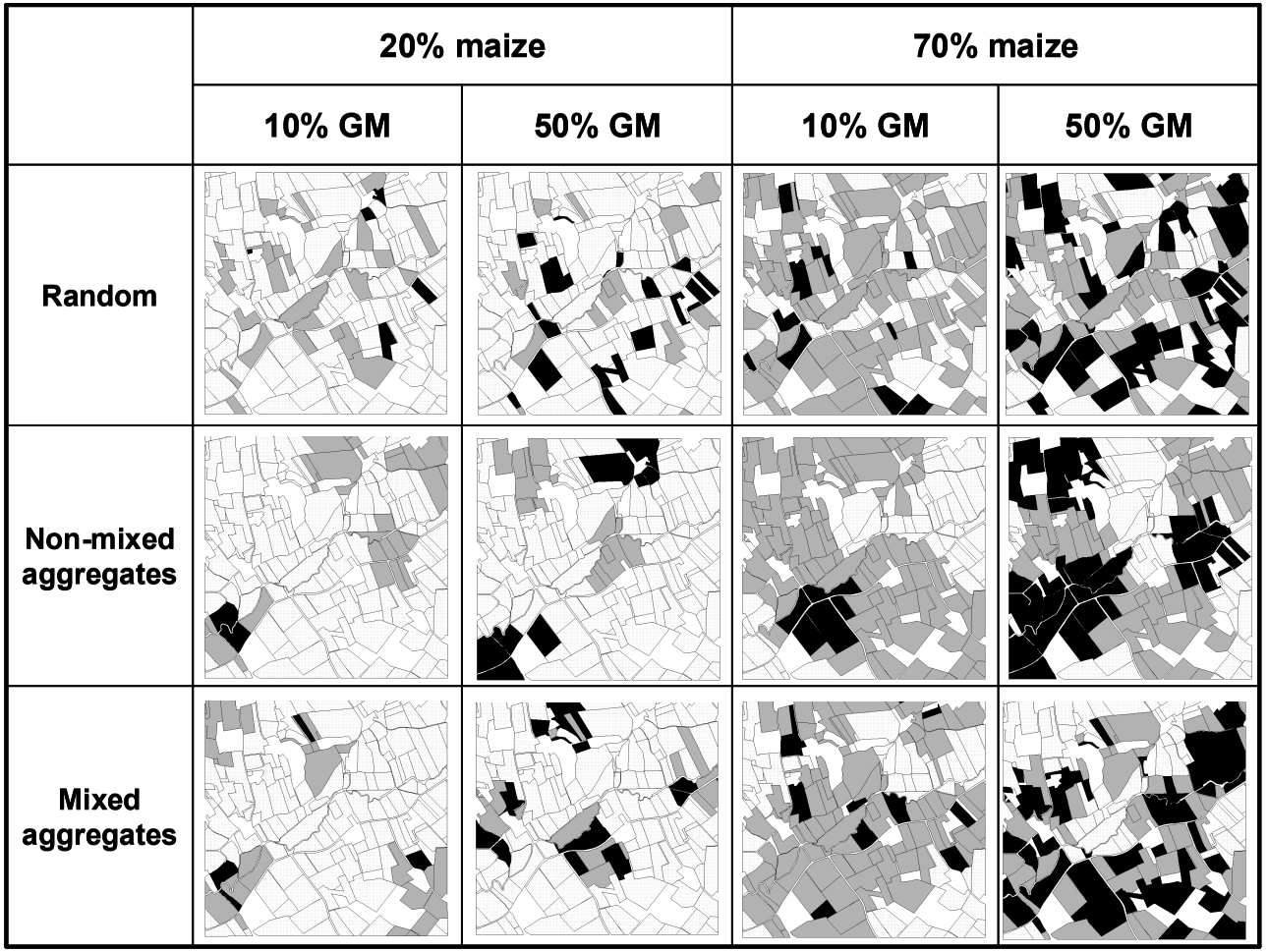


Fig. 1 Maize spatial organization simulated on field map P1. Gray fields indicate non-GM maize, black fields indicate GM maize, and non-shaded fields indicate non-maize land uses.

Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

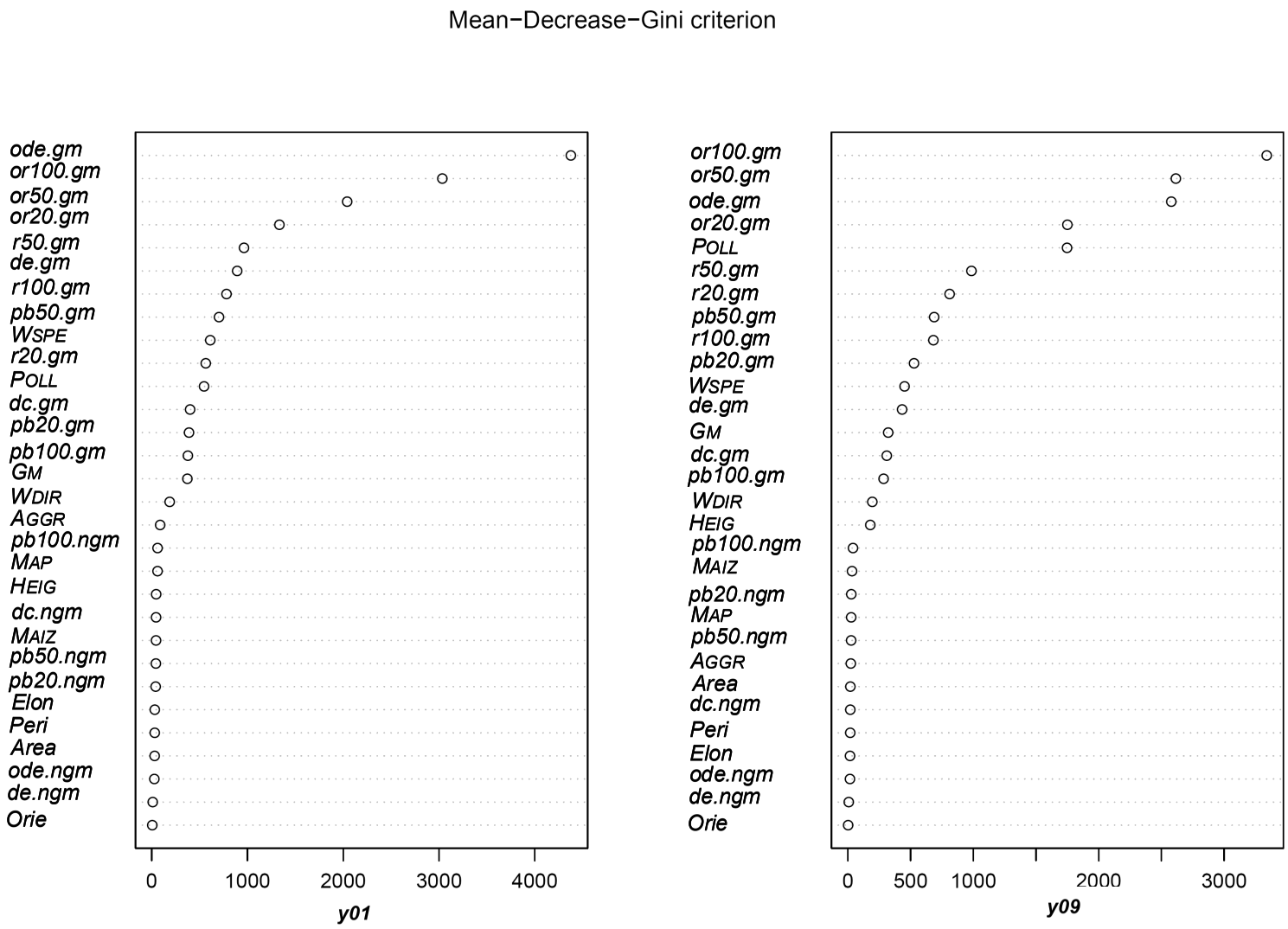


Fig. 2 Random forest importance rankings for the dependent variables y_{09} and y_{01}. Predictor variables are ranked according to the mean decrease in Gini index.

Landscape Ecology, 2008, 23(9), 1067-1079, DOI: 10.1007/s10980-008-9264-1
The original publication is available at www.springerlink.com

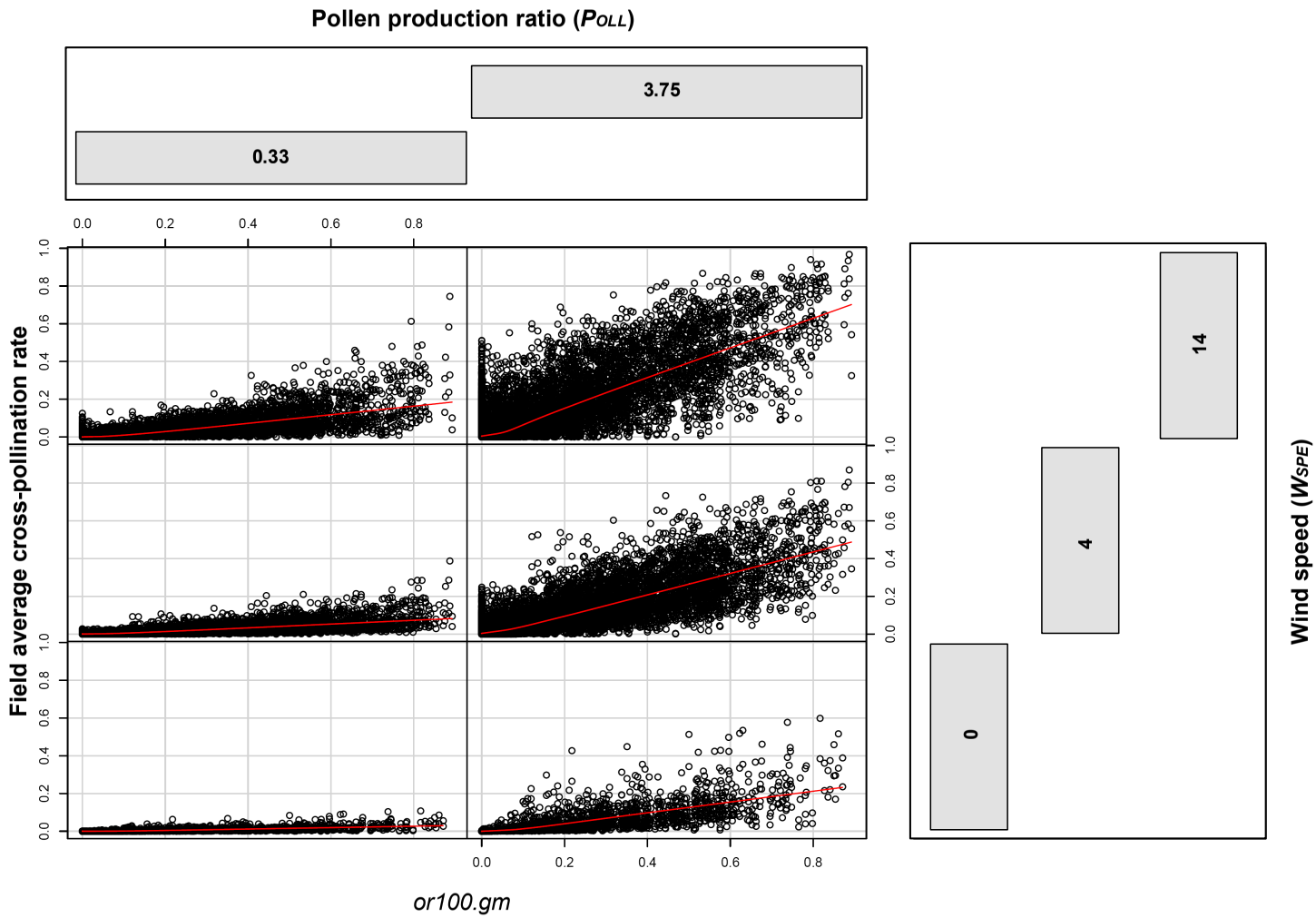


Fig. 3 Cross-pollination rate *versus* 100m-wide orientated GM maize ratio as a function of pollen production ratio *POLL* (0.33 or 3.75) and wind speed *WSPE* (0, 4 or 14ms^{-1}).

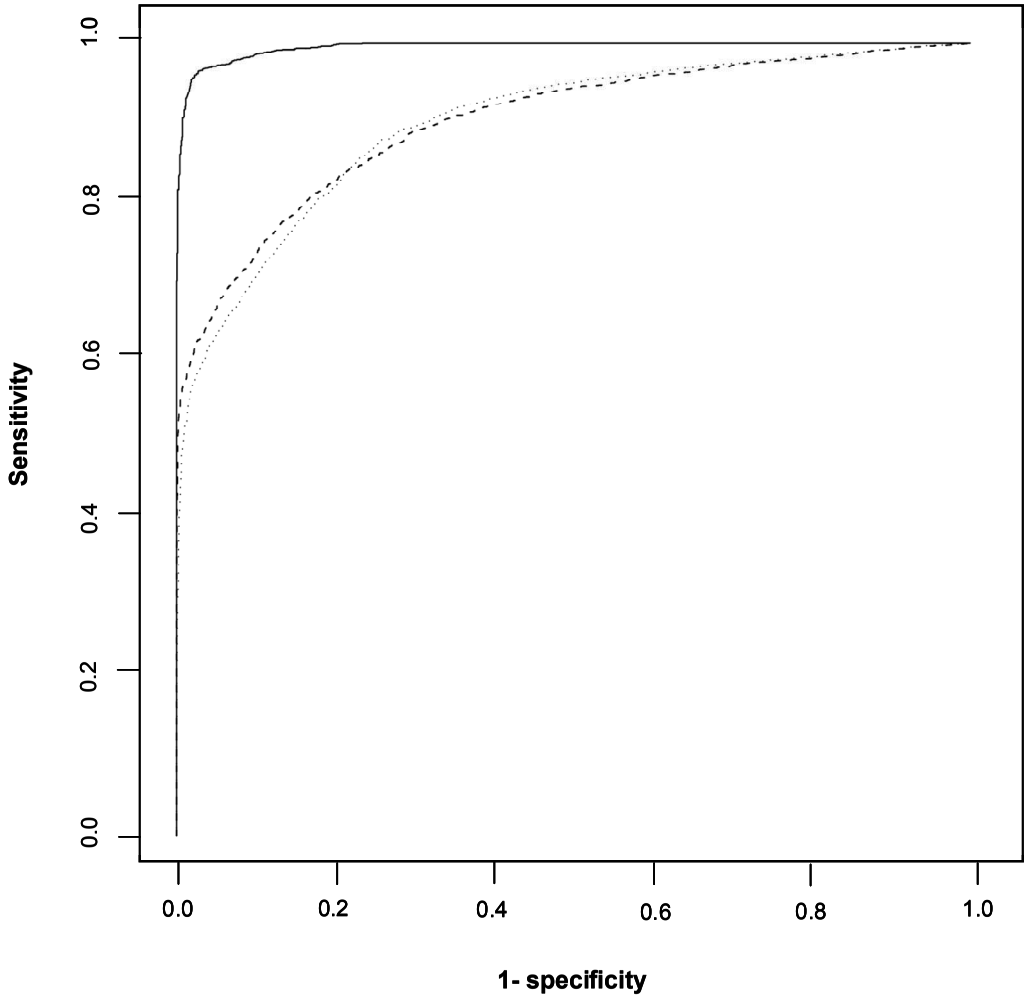


Fig. 4 Receiver-operating characteristics (ROC) curves for the logistic model including *ore.gm+or100.gm+peri* fitted on the dependent variable y_{01}, when GM pollen ratio equals 3.75. Null wind speed (AUC=0.995) (black line); wind speed $4ms^{-1}$ (AUC=0.902) (broken line); wind speed $14ms^{-1}$ (AUC=0.899) (dotted line).

References

Angevin F, Klein EK, Choimet C, Gauffreteau A, Lavigne C, Messéan A, Meynard JM (2008) Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: the MAPOD model. Eur J Agron 28:471-484.

Bateman AJ (1947a) Contamination in seed crops II: Wind pollination. Heredity 1:235-246.

Bateman AJ (1947b) Contamination in seed crops. III. Relation with isolation distance. Heredity 1:303-336.

Breiman L (2001) Random forests. Mach Learn 45:5-32.

Breiman L, Cutler A (2003) Random Forests Manual v4.0. Technical report, UC Berkeley, available online at ftp://ftp.stat.berkeley.edu/pub/users/breiman/Using random forests v4.0.pdf.

Campolongo F, Saltelli A (2000) Design of experiments. In: Saltelli A, Chan K, Scott M (eds), Sensitivity analysis, Wiley, New-York, pp51-63.

Ceddia MG, Bartlett M, Perrings C (2007) Landscape gene flow, coexistence and threshold effect: The case of genetically modified herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*). Ecol Model 205:169-180.

Colbach N, Molinari N, Meynard JM, Messéan A (2005) Spatial aspects of gene flow between rapeseed varieties and volunteers. Agron Sustain Dev 25:355-368.

Crosetto M, Tarantola S, Saltelli A (2000) Sensitivity and uncertainty analysis in spatial modelling based on GIS. Agr Ecosyst Environ 81:71-79.

Damgaard C, Kjellsson G (2005) Gene flow of oilseed rape (*Brassica napus*) according to isolation distance and buffer zone. Agr Ecosyst Environ 108:291-301.

De'ath G, Fabricius KE (2000) Classification and regression trees: a powerful yet simple technique for ecological data analysis. Ecology 81:3178-3192.

Delgado MG, Sendra JB (2004) Sensitivity analysis in multicriteria spatial decision-making: A review. Hum Ecol Risk Assess 10:1173-1187.

Hoyle M, Cresswell JE (2007) The effect of wind direction on cross-pollination in wind-pollinated GM crops. Ecol Appl 17:1234-1243.

Jager HI, Ashwood TL, Jackson BL, King AW (2005) Spatial uncertainty analysis of population models. Ecol Model 185:13-27.

Klein EK, Lavigne C, Foueillassar X, Gouyon PH, Laredo C (2003) Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. Ecol Monogr 73:131-150.

Klein EK, Lavigne C, Picault H, Michel R, Gouyon PH (2006) Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. J Appl Ecol 43:141-151.

Kuparinen A, Schurr F, Tackenberg O, O'Hara RB (2007) Air-mediated pollen flow from genetically modified to conventional crops. Ecol Appl 17:431-440.

Lavigne C, Klein EK, Mari JF, Le Ber F, Adamczyk K, Monod H, Angevin F (2008) How do genetically modified (GM) crops contribute to background levels of GM pollen in an agricultural landscape? J Appl Ecol 45:1104-1113.

Makowski D (2005) Comparison of risk indicators for *Sclerotinia* control in oilseed rape. Crop Prot 24:527-531.

Messéan A, Angevin F, Gomez-Barbero M, Menrad K, Rodriguez-Cerezo E (2006) New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture. Technical Report EUR 22102 EN.

Monod H, Naud C, Makowski D (2006) Uncertainty and sensitivity analysis for crop models. In: Wallach D, Makowski D, Jones JW (eds), Working with dynamic crop models, Elsevier, Amsterdam, pp55-99.

Paterniani E, Stort AC (1974) Effective maize pollen dispersal in the field. Euphytica 23:129-134.

Raynor GS, Ogden EC, Hayes JV (1972) Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. Agron J 64:420-427.

Romary T (2005) Impact de la structure d'un paysage sur les flux de gènes entre parcelles, approche par des méthodes d'analyse de sensibilité de modèle. Master Recherche, Mathématiques option Statistique, Université de Rennes 1.

Saltelli A, Tarantola S, Campolongo F (2000) Sensitivity analysis as an ingredient of modeling. Stat Sci 15:377-395.

Sork VL, Nason J, Campbell DR, Fernandez JF (1999) Landscape approaches to the study of gene flow in plants. Trends Ecol Evol 142:219-224.

Swets JA (1988) Measuring the accuracy of diagnostic systems. Science 240:1285-1293.

Venables WN, Ripley BD (eds) (2002). Modern applied statistics with S. Springer, New-York.

Annexe 11

Journal of Applied Ecology, 2008, 45 (4), 1104-1113, DOI: 10.1111/j.1365-2664.2008.01504.x
The definitive version is available at www3.interscience.wiley.com

How do genetically modified (GM) crops contribute to background levels of GM pollen in an agricultural landscape?

Claire Lavigne[1], Etienne K. Klein[2], Jean-François Mari[3], Florence Le Ber[4], Katarzyna Adamczyk[5], Hervé Monod[5], Frédérique Angevin[6]

[1] INRA, UR 1115 Plantes et Systèmes de culture Horticoles, F-84000 Avignon, France

[2] INRA, UR 546 Biostatistique et Processus Spatiaux, F-84000 Avignon, France

[3] Université Nancy 2, UMR 7503 LORIA, F-54500 Vandœuvre-Lès-Nancy, France

[4] ENGEES, UMR MA101 CEVH, F-67000 Strasbourg, France

[5] INRA, UR 341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78352 Jouy-en-Josas, France

[6] INRA, UAR 1240 Eco-Innov, F-78850 Thiverval Grignon, France

Corresponding author:

Claire Lavigne

INRA, PSH, domaine Saint-Paul, site Agroparc, F-84914 Avignon cedex 9, France

Email: Claire.lavigne@avignon.inra.fr

Fax: 33 4 32 72 24 32

Running title: Background levels of GM pollen in the landscape

Summary

1. It is well established that pollen-mediated gene flow among natural plant populations depends on a complex interaction between the spatial distribution of pollen sources and the short- and long-distance components of pollen dispersal. Despite this knowledge, spatial isolation strategies proposed in Europe to ensure the harvest purity of conventional crops are based on distance from the nearest GM crop and on empirical data from two-plot experiments. Here, we investigated the circumstances under which the multiplicity of pollen sources over the landscape should be considered in strategies to contain GM crops.
2. We simulated pollen dispersal over eighty 6 x 6 km simulated landscapes differing in field characteristics and in amount of GM and conventional maize. Pollen dispersal was modelled either via a Normal Inverse Gaussian (NIG, currently used for European coexistence studies) or a bivariate Student (2Dt) kernel. These kernels differ in their amount of short- and long-distance dispersal. We used linear models to analyse the impact of local and landscape variables on impurity rates (i.e. proportion of seeds sired by pollen from a transgenic crop) in conventional fields and quantified their increase due to dispersal from other than the closest GM crops.
3. The average impurity rate over a landscape increased linearly with the proportion of GM maize over that landscape. The increase was twice as fast using the NIG kernel and was governed by the short-distance dispersal component.
4. Variation in impurity rates largely depended on the distance to the closest GM crop and the size of the receptor field. However, impurity rates were generally underestimated when only dispersal from the closest GM field was considered.
5. *Synthesis and applications.* Distance to the closest GM crop had most impact on impurity rates in conventional fields. However, impurity rates also depended on intermediate- to long-distance dispersal from distant GM crops. Isolation distances as currently defined will thus probably not allow long term coexistence of GM and conventional crops, in particular as the proportion of GM crops grown increases. We suggest strategies to account for this impact of long distance dispersal.

Key words: Coexistence, corn, cross-pollination, landscape, model, pollen dispersal, spatial distribution, transgenic, upscaling.

Word count: 6997

Introduction

As the area of GM crops grown continues to increase globally, the proportion of fields cultivated with GM crops (termed 'GM fields' for brevity in this article) is also likely to increase within areas where both GM and conventional crops coexist. However, the impact of distant fields is not taken into account in the definition of isolation distances required to ensure conventional harvest purity.

Several pollen dispersal models attempt to predict rates of adventitious transgene presence in a conventional crop (i.e. here, the proportion of seeds sired by pollen from a transgenic crop and termed 'impurity rate' along this article) at various spatial distributions of GM and conventional fields within a landscape (Colbach et al., 2005 ; Ceddia, Bartlett & Perrings, 2007). Other models consider pairs of fields consisting of one GM and one conventional field. The latter use data only from the closest GM field to each particular conventional field (e.g. Klein et al., 2006b; Hoyle & Cresswell, 2007; Kuparinen et al., 2007) without accounting for the possible impact of more distant fields. The paired-field approach might be an inappropriate method for predicting impurity rates and deriving effective isolation distances between fields: in presence of long-distance pollen dispersal, higher impurity rates are expected in conventional fields when there are more GM fields distributed throughout the local landscape (Ramsay, Thompson & Squire, 2003; Shaw *et al.*, 2006) and such long-distance dispersal is a widespread phenomenon as evidenced by estimations of pollen dispersal using a neighbourhood model (Adams & Birkes, 1991) that generally conclude about the existence of a large 'external' pollen cloud (Smouse & Sork, 2004 in natural populations; Devaux *et al.* 2007 for oilseed rape), observations of pollen far away from any source (Shaw *et al.*, 2006) or of small impurity rates independent of distance from the source (Rieger *et al.*, 2002).

The relative impact of distant GM fields compared to that of the neighbouring GM field is, in fact, likely to depend on the amount of long-distance dispersal (LDD) of pollen. LDD can be quantified as the proportion of dispersal further than a specified threshold distance (absolute distance definition) or by the distance beyond which only a specified fraction of dispersal is found, e.g. 1/1000 (proportional distance definition) (Nathan, 2005). LDD can also be quantified by the shape of the tail of the dispersal kernel. In this case, the main distinction is whether the functions are exponentially bounded (i.e. thin-tailed) or not (i.e. fat-tailed) (Mollison, 1977). Fat-tailed kernels generally provide better fits to pollen dispersal data (e.g. Devaux *et al.*, 2007 for oilseed rape).

The impurity rate in a conventional field depends both on the proportion of seeds sired by a pollen cloud from outside the field (and thus on its opposite, local pollination), and on the composition of that pollen cloud. For self-compatible pollen sources of large areas such as maize fields, it is likely that short (and medium) distance dispersal governs the amount of local pollination as opposed to point sources where local pollination depends on selfing. Indirect evidence was reported by Robledo-Arnuncio & Austerlitz (2006) who found that for dense clumps of point sources, more leptokurtic pollen dispersal resulted in more intra-clump pollination. The diversity of outcrossing pollen clouds (i.e. the number of effective fathers) depends on plant density, pollination vector and population size (Sork & Smouse, 2006). Moreover, isolated individuals tend to receive a more diverse pollen cloud as isolation from pollen sources increases (i.e. smaller rates of correlated paternities within sibship in Robledo-

Arnuncio *et al.*, 2004 for trees; lesser contribution of closest field in Ramsay *et al.*, 2003 for oilseed rape). This can be explained by an increasing expected number of sources located at increasing distances (Adams & Birkes, 1991). Additionally, such behaviour is expected under pollen dispersal via fat-tailed but not thin-tailed dispersal kernels (Klein, Lavigne & Gouyon, 2006a). As a consequence, the frequency of GM pollen in the external pollen cloud over an isolated conventional field should mostly depend on its distance to the nearest GM field under thin-tailed dispersal kernels and on the proportion of GM crops over the landscape under fat-tailed kernels.

The regulation concerning coexistence of GM and conventional crops in Europe is mainly based on keeping a minimum distance from conventional to the closest GM field but there is a margin for regional adaptation of rules. Given existing empirical results and landscape models, isolation distances should be adjusted to the regional GM frequency. Two major differences between agricultural landscapes and natural populations are (i) that sources have shapes and areas, and (ii) that two sources may have the same genetic composition. Thus, results from point sources cannot be directly extrapolated and a better understanding of the interactions between the spatial pattern of pollen sources and the components of the dispersal kernel would help to design isolation strategies. We investigate how characteristics of pollen dispersal kernels and field patterns affect impurity rates in conventional fields by first simulating such rates over realistic landscapes using two dispersal kernels that differ in their amount of LDD. We then compare these simulated impurity rates to those obtained assuming conventional plots that only receive pollen from their closest GM crop neighbour, using a paired-field approach. Finally, we fit linear models (including or excluding landscape factors) on simulated impurity rates and assess their ability to correctly classify fields as being above or below threshold values of impurity rates.

Material and methods

Simulation of field patterns

To simulate realistic maps in terms of field sizes and distances among fields, and to test whether impurity rates were sensitive to systematic variation among maps (i.e. largely different field sizes) as well as small random variations, we digitized aerial photographs from five 1.5 x 1.5 km contrasted French landscapes. Random variation was introduced with respect to the spatial distribution of field centroids in these original maps. This spatial distribution was modelled using a point process model of centroids that accounts for 1) mean number of centroids per unit area, and 2) the distribution of the distance of each centroid to its nearest neighbour. This model was fitted for each of five original maps (Adamczyk *et al.*, 2007). To generate a simulated map, we first simulated a point pattern using the above model with parameters estimated on the corresponding original map and we then delineated field margins by performing a Voronoi tessellation using these points as seeds (Okabe, Boots & Sugihara, 1992). This procedure has been shown to simulate different maps with numbers of fields and distribution of distances among field centroids close to those of the original map (Adamczyk *et al.*, 2007). It was implemented using R.2.4.1 (R Development Core Team 2006) and the GenExp software (http://www.loria.fr/~jfmari/GenExP/). We thus obtained 10

(5 original maps x 2 replicates) 1.5 x 1.5 km simulated maps that were set in a raster format with 5 x 5 m cells.

We simulated a total area of maize of either 70% or 20% of landscape area, mimicking production areas where maize is either a major crop or not. The proportion of GM maize was set either to 10% or 50%, simulating low or high farmer acceptance of the GM crop. The resulting proportions of GM maize over the landscape were thus 2%, 7%, 10% and 35%. GM and conventional fields were allocated randomly. Two replicate allocations of maize were performed per proportion of GM crop per simulated map. We thus obtained 80 (8x10) field patterns (Fig. 1).
To clearly see the impact of long distance dispersal and to avoid border effects due to the fewer neighbours available to edge fields, we transformed each 1.5 x 1.5 km field pattern into a 6 x 6km field pattern by pasting it 16 (4 x4) times.

We recorded local characteristics of each conventional field, namely its size (*Area_target_field*), its border to border distance to the closest GM field (*Dist_gm*) and the size of that GM field (*Area_GM_field*).

Simulations of pollen dispersal and cross-pollination

Pollen dispersal was simulated with a modified version of the MAPOD software used to estimate cross-pollination in maize (Angevin *et al*., 2008). To maintain focus on the impact of spatial characteristics of landscapes, we kept agronomic and climatic inputs constant and identical for the GM and conventional crops. Both crops were assumed to be homozygous. Impurity rates were simulated over each 6 x 6 km field pattern but they were only recorded within the 3 x 3 km central area to avoid border effects.
We used two dispersal kernels (Fig. 2) differing in their behaviour over long distances. The first kernel is a NIG (Normal Inverse Gaussian). This is the default kernel in MAPOD which was used in coexistence studies (Angevin *et al.*, 2002; Messéan *et al.*, 2006). It has a power-law decrease at short distances and an exponential decrease at long distance, and is given as follows:

$$\gamma(x,y) = \frac{\delta_x \delta_y e^{\lambda_z}}{(2\pi)} \frac{\left(q(x,y)^{-1/2} + p^{1/2}\right)}{q(x,y)} e^{-\sqrt{pq(x,y)}} e^{\delta_x \lambda_x x + \delta_y \lambda_y y}, \qquad \text{eqn 1}$$

with $p = \lambda_z^2 + \lambda_x^2 + \lambda_y^2$ and $q(x,y) = 1 + \delta_x^2 x^2 + \delta_y^2 y^2$, and where (*x, y*) is the pollination position relative to the emission position. The values of $\lambda_z, \lambda_x, \lambda_y, \delta_x, \delta_y$ were estimated at $\lambda_z = 0.027$; $\lambda_x = 0.165$; $\lambda_y = 0$; $\delta_x = \delta_y = 0.499$ in Klein *et al.* (2003).

The second kernel is a 2Dt (bivariate Student) (Clark, 1998):

$$\gamma(x,y) = \frac{b-1}{\pi a^2}\left(1 + \frac{r^2}{a^2}\right)^{-b} e^{\kappa \cos(\theta - \theta_0)}, \qquad \text{eqn 2}$$

where (x, y) is the pollination position relative to the emission position, $r=(x^2+y^2)^{0.5}$ and θ is the angle of the direction from (0, 0) to (x, y). The parameters were estimated at a=1.55; b=1.45; κ=1.12; θ_0=0.
Unlike the NIG, this kernel is fat-tailed, with a power-law decrease at every distance. The NIG and 2Dt only differ at very short and very long distances (Fig. 2).

Parameters for anisotropic versions of these two kernels were estimated on an approximately 1 ha maize dispersal experiment by maximum likelihood (Klein *et al*., 2003 for the NIG; same method, unpublished for the 2Dt). Parameters were estimated on anisotropic versions of these kernels because the experimental data presented a clear anisotropy due to dominant winds. However, to maintain the focus on spatial issues, we modelled isotropic dispersal by setting the wind angle to 16 regularly spaced values from 0 to 2Π each with a 1/16 frequency. This procedure models isotropic dispersal accounting for actual wind speed.

For each simulation we computed the average impurity rate of each conventional field as the mean of the proportions of GM pollen grains above each 5 x 5 m pixel of the field, which we assumed equal to the proportion of seeds sired by GM plants.
Over each pixel of conventional field, this proportion is written as:

$$\mu(x,y)=\frac{\int_{GM}\gamma(x-x',y-y')dx'dy'}{\int_{GM}\gamma(x-x',y-y')dx'dy'+\int_{extnonGM}\gamma(x-x',y-y')dx'dy'+\int_{localnonGM}\gamma(x-x',y-y')dx'dy'} \qquad \text{eqn 3}$$

where γ is the dispersal kernel, *GM* is the area of GM maize, *ext non-GM* is the area of non-GM maize excluding the target field, and *local non-GM* is the area of the target field (Lavigne *et al*., 1998).

The average landscape impurity rate was computed as the mean of rates from all conventional fields weighted by field area.

Statistical analyses

To compare impurity rates of individual conventional fields obtained over landscape-level field patterns to those obtained considering only the closest GM field, all fields were erased from field patterns except one pair involving a conventional field and its closest GM neighbour. Impurity rates were thus calculated by considering only two fields.

$$\mu_{closest-GM}(x,y)=\frac{\int_{closest-GM}\gamma(x-x',y-y')dx'dy'}{\int_{closest-GM}\gamma(x-x',y-y')dx'dy'+\int_{local\ non\ GM}\gamma(x-x',y-y')dx'dy'}$$

where *closest-GM* is the area of the closest GM field, and *local non-GM* is the area of the target field.
This was repeated for each conventional field in a 1.5 x 1.5 km central area of the 80 field patterns. The ratio $\mu_{closest\text{-}GM}$ over μ was computed for each field. We expected the landscape influence to be smaller when GM and conventional fields were close, therefore we distinguished average ratios for neighbouring (i.e. borders less than 2 pixels (=10 m) distant) and non-neighbouring pairs of fields.

The relative importance of landscape versus local characteristics on impurity rates of individual conventional fields was assessed through the fit of linear models including or excluding landscape effects (Proc Mixed in SAS 8.01, SAS Institute). Models were run independently for each dispersal kernel. Impurity rates were log transformed to stabilize the variance. In the most complete models, landscape factors were original map (5 levels), simulated map (2 levels per original map, nested within original map), proportion of maize (2 levels), proportion of GM maize (2 levels) and their interaction, as well as field pattern (nested within all landscape factors). Local variables were target field size (quantitative), size of closest GM field (quantitative), and distance to the closest GM crop (quantitative). Both distance and log(distance) were introduced in the model which allowed both a power-law and an exponential component to be included in the model describing the decline in impurity rates with distance to the closest GM field.
For comparisons of model fit, models were adjusted independently for each kernel on the 10692 field impurity rates from all 80 field patterns, including or excluding landscape factors. Comparisons were performed using the Akaike information criterion (AIC). In the complete model, mean square ratios (the usual F statistics) were used to assess the importance of landscape and local variables relative to their respective residual variability. Because of computational limits, the default denominator degrees of freedom provided in SAS PROC MIXED were used.

We also checked the accuracy of field classification with respect to threshold values, by comparing simulated impurity rates used as a reference to either (i) simulations based on two plots only, or linear predictions based on (ii) local variables only, or (iii) all variables and their interactions. We used 0.01%, 0.05%, 0.1% and 0.9% as threshold values. Values of 0.05% and 0.1% approximate the detection and quantification limits of 0.045% and 0.09%. The value 0.9% corresponds to the EU labelling threshold and 0.01% was used for a better understanding of model behaviour (http://gmo-crl.jrc.it/doc/Method%20requirements.pdf).

Results

Simulated landscapes and field patterns

Simulated maps differed in field number, ranging from 42 to 180 per 1.5 x 1.5 km, field size and variability of field size. Voronoï tessellations homogenized field sizes within a landscape (Fig. 3). Distances between conventional fields and their closest GM field were comparable among maps and depended largely on crop allocation, increasing with the decreasing proportion of maize over the landscape or of GM maize among maize. In most configurations, the closest GM field to a target conventional field was further than 100 m, except for landscapes with the highest proportion of GM maize where the closest GM fields were on average at distances ~ 15m (Table 1).

Impurity rates

The average landscape impurity rates (i.e. mean of rates from all conventional fields weighted by field areas) varied mainly with the dispersal kernels and with the proportions of conventional and GM maize but little with the original map (Fig. 4). Within the range of simulated situations, the average landscape impurity rate increased linearly with the proportion of GM maize per unit area (i.e. proportion of maize x proportion of GM maize) for both kernels. This increase was twice as fast with the NIG as with the 2Dt model (Fig. 4).

Field impurity rates were systematically lower when simulated with the 2Dt kernel (mean $\pm$ sd = $0.87\ 10^{-3} \pm 1.13\ 10^{-3}$ for the 2Dt and $1.71\ 10^{-3} \pm 2.03\ 10^{-3}$ for the NIG) and showed larger variation (CV=1.30 for the 2Dt and CV=0.84 for the NIG) (Fig. 5). Absolute differences between predictions with 2Dt and with NIG kernels decreased with increasing distance between the target conventional field and the nearest GM crop because the predicted values decreased (Fig. 6). However, the ratio NIG/2Dt, indicating whether the difference is in the order of magnitude of the predicted impurity rate, increased until distances were about 300 m and then stabilized around 3.3 (see Figure S1 in Supplementary Material).
Field impurity rates were smaller when simulated only from the closest GM field rather than from the whole landscape (Fig. 7). Despite the large difference in predicted rates outlined above, underestimation was similar for the NIG and the 2Dt kernels. As expected, underestimation was stronger (smaller ratios) when there was more GM maize in the landscape and when the closest GM field was not a neighbour of the target conventional field (Fig. 7). Surprisingly, even when the closest GM field was a neighbour of the target field, ratios were smaller than 1 as soon as there was more than 2% GM maize over the landscape. As a consequence, when considering pairs of fields instead of all fields to determine whether impurity rates were above the defined thresholds, error rates were high, in particular for small thresholds (Fig. 8). Most errors were false negatives, i.e. declaring values below the threshold when they were above the threshold (see Table S1).

Linear modelling of impurity rates in conventional fields

Local variables were more important than landscape variables in the linear models on field log-impurity rates as indicated by a much larger reduction in AIC (Table 2). When considering the most complete model (Table 3), the distance to the closest GM field was the

main local factor affecting these rates. As expected, rates decreased with increasing distance to the closest GM field. Whatever the dispersal kernel, this decrease was a geometric type but somewhat slower than expected under a purely geometric decrease, with, unexpectedly, a faster decrease for the 2Dt than for the NIG (not shown). As expected, impurity rates also decreased with increasing size of the target field and increased with increasing size of the closest GM field, although this latter effect was very small. Landscape variables had some importance in interaction with distance. The (log) distance effect in particular was less important when the proportion of GM maize in the landscape was high, probably because there was less variability in distances.

The quality of linear predictions from models including only local variables confirmed their adequacy: they were generally correct regarding the defined thresholds and almost as good as predictions from the complete linear model (Fig. 8). Furthermore, error rates were smaller than those obtained by simulating dispersal from two fields only (Fig. 8).

Discussion

It has been known for some time that small-scale experiments would not be appropriate to assess the safety of GM crops and that effort should be put into large-scale field tests (Stone 1994). Some experiments have estimated long-distance dispersal (e.g. Halsey *et al.*, 2005; Bannert & Stamp, 2007 on maize), and some models have considered long-distance dispersal (e.g. Aylor, Schultes & Shields, 2003 for mechanistic approaches on maize). Despite this, most recommendations about isolation distances between GM and conventional crops are based on two-plot experiments that fail to account for the multiplicity of GM pollen sources (see however Shaw *et al*., 2006 on *Brassica napus*). Here we show that background pollen increases the potential for cross-pollination between GM and conventional crops. Moreover, as the proportion of GM crops increases, so will the failure to keep impurity rates below thresholds when using isolation distances derived from two-plot experiments.

To ensure realism in our study, we used (i) simulated landscapes based on real contrasted landscapes and (ii) pollen dispersal kernels estimated from real data on maize. The NIG kernel in particular was used for studies on the coexistence of GM and non-GM crops in Europe (Angevin *et al.*, 2002; Messéan *et al.*, 2006). Nevertheless, we made a number of simplifications. First, landscapes were characterised by field patterns and maize crop allocations, ignoring physical discontinuities such as hedges, forests or slopes because modelling the impact of landscape discontinuities on pollen dispersal is still ongoing research (Aylor *et al.*, 2003, Dupont, Brunet & Jaroz., 2006). Secondly, the Voronoi tessellation used for simulating fields resulted in convex and compact fields with a small variance in area. Thirdly, we assumed isotropic pollen dispersal even though this is clearly not usual for wind dispersed species. However, our results concerning landscape level pollination rates can probably be extrapolated to anisotropic dispersal provided that orientations of GM and conventional fields are random with respect to wind direction. Our conclusions at the field level can also probably be extrapolated by considering distances to the closest GM field that account for wind direction. Furthermore, the impact of the prevailing wind direction has been specifically studied elsewhere (Hoyle & Cresswell, 2007). Finally, we assumed synchronous flowering of GM and conventional crops as it is already recognised that their asynchronous flowering is efficient in reducing cross-pollination rates in maize (e.g. Angevin *et al.*, 2002;

Halsey *et al.*, 2005). Given these simplifications, and also because the dispersal kernels used were not validated at the longest distances considered here, precise values of simulated impurity rates should be considered with caution. However, compared to the highly variable data (e.g. in Halsey *et al.*, 2005; Bannert & Stamp, 2007), the range is correct. Further, as in co-existence studies (Messéan *et al*., 2006), our simulations indicate that in general the 0.9% regulatory threshold is achievable (Fig. 5).

As expected, at the landscape level, given some proportion of GM maize, the average impurity rate increased with an increasing maize area and, for a given amount of maize, also increased with the proportion of GM fields. Interestingly, these rates increased linearly with the proportion of GM maize throughout the whole landscape. Within a conventional field, the impurity rate is the ratio of GM pollen over all pollen (i.e. both conventional local pollen and external GM and conventional pollen, eqn 3). Contrary to expectations for point sources, it is likely that for most dispersal kernels the vast majority of pollen over a field comes from the field itself and that the quantity of external pollen (GM and non-GM) is negligible compared to local pollen. These large differences in the amount of pollen would explain the linear increase of landscape impurity rates with the GM crop area. Equation 3 indicates that the slope of the linear relationship is in fact determined by the ratio of GM pollen received over local pollen. Our results are consistent with the fact that the amount of local pollen was on average about twice as large for the 2Dt kernel than for the NIG kernel (impurity rates and slope are twice as small) and that the external pollen cloud was small and of similar magnitude for both dispersal kernels (similar ratios of simulations with two versus all fields). Unexpectedly, both individual field impurity rates and the slope of the linear relation between landscape average impurity rates and GM crop area were thus mostly affected by the shape of the dispersal kernel at short distances rather than by long-distance dispersal. However, more contrasted types of dispersal kernels should be considered before drawing general conclusions.

A linear response of landscape average impurity rate with GM crop area was also reported in a simulation study with oilseed rape (Ceddia *et al.*, 2007). The slope of the relationship was 0.033, i.e. a faster increase than found here (0.011 and 0.006). Results are difficult to compare because of differences in crop biology and simulation design. It follows nevertheless that the linear increase can probably be considered a general property but that the slope of increase is highly dependent on conditions of simulations. Caution should be exercised when deriving advice about maximum acceptable GM crop surface area over a landscape (as in Ceddia *et al.*, 2007).

It is recognised that species with a high dispersal ability interact with the landscape structure at a larger spatial scale (Keitt, Urban & Milne, 1997). We thus expected that impurity rates predicted with the 2Dt dispersal kernel would depend to a larger extent on landscape variables but we found no evidence of this. The ratios of impurity rates simulated from all fields in the landscape over the rate from only the closest GM field were similar for both kernels. This results from a complex interplay between the probability of dispersing at each distance and the presence of pollen sources at each of these distances (Adams & Birkes, 1991). The 2Dt kernel exhibited a higher probability of long distance dispersal than the NIG kernel but a

lower probability for intermediate distance dispersal. Pollen sources were placed randomly over the landscape and it is likely that the lesser contribution from long distance sources to the external pollen cloud with the NIG kernel was compensated by a larger contribution from sources placed at intermediate distances. This result questions the way long-distance dispersal is defined for pollen data. The two dispersal kernels we used indeed differ considering either the absolute distance definition of LDD (NIG: 1045 m and 2Dt: 3245 m for a quantile of 0.999) or its proportional distance definition (2Dt: 0.55% and NIG: 0.40% at 500 m or 2Dt: 0.29% and NIG: 0.11% at 1000 m). They also differ if the dispersal tail is considered (exponential like versus fat-tailed), although the NIG is not typical of an exponential decrease because it is governed by a power-law function over short and intermediate distances. However, none of these three characteristics ensured that more effective long distance cross-pollination occurred here with the 2Dt, because long distance cross-pollination events depend both on short and long distance dispersal and on the spatial distribution of pollen sources.

Numerous studies investigating the effect of field size or isolation distances (i.e. distance from a conventional field to its closest GM neighbour) on impurity rates are based on two-plot experiments (e.g. Halsey *et al.*, 2005; Weekes *et al.*, 2007 on maize). Our results clearly indicate that considering only two fields may lead to an underestimation of these rates and that dispersal should be considered from multiple sources. It is worth noting that the larger the isolation distances, the larger the underestimation and thus the more important it is to consider the impact of GM fields farther away. We thus advocate a new strategy for defining isolation distances that includes the contribution made by background GM pollen at a landscape level. There are a few non-exclusive options for this. First, if the goal is to predict the impurity rate for a specific field, and information about the location of surrounding GM crop fields is known, simulations should be performed considering all fields; if only the area of GM crop over the landscape is known (the minimum information necessary), the impurity rate may be simulated from the closest GM field only, and it may be increased to account for the impact of other fields. Here, for example, we found that rates should be multiplied by a factor of about 1.05 for neighbouring GM and conventional fields and 2% GM maize over the landscape, and by a factor of 6.7 if fields are not neighbours and the GM proportion is 35%. However, these ratios most probably depend on dispersal kernels together with landscape and should be considered with caution. Secondly, if the goal is to test the impact of field characteristics and isolation distance on impurity rates, abacuses could be built based on numerous simulations performed at the landscape scale for various sizes and isolation distances from the target field and random allocation of other GM and conventional fields, although computational time is high. As reported here, a final option would be to predict impurity rates using linear models that only consider local variables but have been previously fitted to a moderate number of pertinent simulations at the landscape scale.

Obvious choices for variables in such linear models are the size of the source and the target fields, as well as distance between them (e.g. Ingram, 2000; Smouse, Robledo-Arnuncio & Gonzalez-Martinez,, 2007; Weekes et al. 2007). More sophisticated approaches also consider field shape (e.g. Klein *et al.*, 2006b; Kuparinen *et al.*, 2007), which we omitted here because

the Voronoi tesselation does not provide elongated fields. We did not expect such a small impact of the size of the closest GM field compared to that of the receptor field. The large effect of the size of the receptor field, basically a dilution effect, is usual (Devos, Reheul & De Schrijver, 2005). The minor effect of the source field is more controversial. A small effect of source field area has been reported on cross-pollination data (Devaux *et al.*, 2008 for oilseed rape) and deduced from models (Gustafson *et al.*, 2005). In the latter case, it was argued that this was due to a lack of LDD in the dispersal model (Willenborg & Van Acker, 2006). Other studies, however, report a substantial effect of source field size (Kuparinen *et al.*, 2007). Discrepancies might, to a certain extent, depend on the range of variability tested. Here, field sizes in simulated maps were realistic as compared to the original maps, but variability was somewhat reduced (Fig. 3). This is, however, not the only explanation because variability was sufficient for conventional field size to have a large effect. Most probably, the whole GM area within a buffer surrounding the conventional field should have been considered, rather than restricting the analysis to the closest GM field. Testing the ability of these models to correctly predict classification of fields over independent landscapes is the next necessary step before their use can be recommended for decision purposes.

Acknowledgments: Original maps were provided by the Institute for the Protection and Security of the Citizen (Joint Research Centre of the European Union) and AUP-ONIGC - ex ONIC (Office National Interprofessionnel des Céréales). We thank F. Austerlitz for very useful comments, M. Leclaire for his technical help and Suzette Tanis-Plant for editorial advice. We acknowledge support from the French national programme "ACI OGM et environnement".

References

Adamczyk, K., Angevin, F., Colbach, N., Lavigne, C., Le Ber, F., & Mari, J.-F. (2007) GENEXP, un logiciel simulateur de paysages agricoles pour l'étude de la diffusion de transgènes. *Revue internationale de Géomatique*, **17**, 469-487.

Adams, W.T. & Birkes, D.S. (1991). Estimating mating patterns in forest tree populations. In *Biochemical markers in the population genetics of forest trees* (eds S. Fineschi, M. Malvolti, F. Cannata & H. Hattemer), pp. 157-172. SPB Academic Publsh., The Hague, The Netherlands.

Angevin, F., Klein, E.K., Choimet, C., Gauffreteau, A., Lavigne, C., Messéan, A., Meynard, J.M. (2008) Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: The MAPOD model. *European Journal of Agronomy*, **28**,471-484.

Angevin, F., Colbach, N., Meynard, J.M., & Roturier, C. (2002). Analysis of necessary adjustements of farming practices. In *Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture.* (eds A.-K. Bock, K. Lheureux, M. Libeau-Dulos, H. Nilsagard & E. Rodriguez-Cerezo). Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission, EUR 20394 EN.

Aylor, D., Schultes, N., & Shields, E. (2003) An aerobiological framework for assessing cross-pollination in maize. *Agricultural and Forest Meteorology*, **119**, 111–129.

Bannert, M. & Stamp, P. (2007) Cross-pollination of maize at long distance. *European Journal of Agronomy*, **27**, 44-51.

Ceddia, M.G., Bartlett, M., & Perrings, C. (2007) Landscape gene flow, coexistence and threshold effect:The case of genetically modified herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*). *Ecological Modelling*, **205**, 169–180.

Clark, J. (1998) Why trees migrate so fast: confronting theory with dispersal biology and the paleorecord. *American Naturalist*, **152**, 204-224.

Colbach, N., Fargue, A., Sausse, C., & Angevin, F. (2005) Evaluation and use of a spatio-temporal model of cropping system effects on gene escape from transgenic oilseed rape varieties - Example of the GENESYS model applied to three co-existing herbicide tolerance transgenes. *European Journal of Agronomy*, **22**, 417-440.

Devaux, C., Klein, E.K., Lavigne, C., Sausse, C., & Messéan, A. (2008) Environmental and landscape effects on cross-pollination rates observed at long-distance among French oilseed rape (*Brassica napus*) commercial fields. *Journal of Applied Ecology*. **45**, 803-812.

Devaux, C., Lavigne, C., Austerlitz, F., & Klein, E.K. (2007) Inferring oilseed rape pollination patterns from microsatellite markers data at the landscape scale. *Molecular Ecology*, **16**, 487-499.

Devos, Y., Reheul, D., & De Schrijver, A. (2005) The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross-fertilization. *Environmental Biosafety Research*, **4**, 71-87.

Dupont, S., Brunet, Y., & Jaroz, N. (2006) Eulerian modelling of pollen dispersal over heterogeneous vegetation canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, **141**, 82-104.

Gustafson, D.I., Horak, M.J., Rempel, C.B., Metz, S.G., Gigax, D.R., & Hucl, P. (2005) An Empirical Model for Pollen-Mediated Gene Flow in Wheat. *Crop Science*, **45**, 1286–1294.

Halsey, M.E., Remund, K.M., Davis, C.A., Qualls, M., Eppard, P.J., & Berberich, S.A. (2005) Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance. *Crop Science*, 2172-2185.

Hoyle, M. & Cresswell, J.E. (2007) The effect of wind direction on cross-pollination in wind-pollinated GM crops. *Ecological Modelling*, **17**, 1234-1243.

Ingram, J. (2000) The separation distances required to ensure cross-pollination is below specified limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape. *Plant varieties and seed*, **3**, 181-199.

Keitt, T., Urban, D., & Milne, B. (1997) Detecting critical scales in fragmented landscapes. *Conservation Ecology*, **1**, 1-17.

Klein, E.K., Lavigne, C., Foueillassar, X., Gouyon, P.H., & Larédo, C. (2003) The corn pollen dispersal: quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecological Monographs*, **73**, 131-150.

Klein, E.K., Lavigne, C., & Gouyon, P.-H. (2006a) Mixing of propagules from discrete sources at long distance: comparing a dispersal tail to an exponential. *BMC Ecology*, **6**, 3.

Klein, E.K., Lavigne, C., Renard, M., & Gouyon, P.-H. (2006b) Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology*, **43**, 141-151.

Kuparinen, A., Schurr, F., Tackenberg, O., & O'Hara, R.B. (2007) Air-mediated pollen flow from genetically modified to conventional crops. *Ecological applications*, **17**, 431-440.

Lavigne, C., Klein, E.K., Vallee, P., Pierre, J., Godelle, B., & Renard, M. (1998) A pollen-dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theoretical and Applied Genetics*, **96**, 886-896.

Messéan, A., Angevin, F., Gómez-Barbero, M., Menrad, K., & Rodríguez-Cerezo, E. (2006) New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture, Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission, EUR 22102 En, 112 p.

Mollison, D. (1977) Spatial contact models for ecological and epidemic spread. *Journal of the Royal Statistical Society B*, **39**, 283-326.

Nathan, R. (2005) Long-distance dispersal research: building a network of yellow brick roads. *Diversity and Distributions*, **11**, 125-130.

Okabe, A., Boots, B., & Sugihara, K. (1992) *Spatial Tessellations-Concepts and Applications of Voronoi Diagrams* John Wiley and Sons, New York.

R Development Core Team (2006) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, http://www.R-project.org.ISBN.

Ramsay, G., Thompson, C., & Squire, G. (2003). Quantifying landscape-scale gene flow in oilseed rape. Final Report of DEFRA Project RG0216. DEFRA, London.

Rieger, M., Lamond, M., Preston, C., Powles, S.B., & Roush, R.T. (2002) Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science*, **296**, 2386-2388.

Robledo-Arnuncio, J.J., Smouse, P.E., Gila, L., & Alía, R. (2004) Pollen movement under alternative silvicultural practices in native populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in central Spain. *Forest Ecology and Management*, **197**, 245-255.

Robledo-Arnuncio, J.J. & Austerlitz, F. (2006) Pollen dispersal in spatially aggregated populations. *American Naturalist*, **168**, 500-511.

Shaw, M., Harwood , T., Wilkinson, M., & Elliott, L. (2006) Assembling spatially explicit landscape models of pollen and spore dispersal by wind for risk assessment. *Proceedings of the Royal Society B*, **273**, 1705-1713.

Smouse, P., Robledo-Arnuncio, J., & Gonzalez-Martinez, S. (2007) Implications of natural propagule flow for containment of genetically modified forest trees. *Tree Genetics and Genomes*, **3**, 141-152.

Smouse, P. & Sork, V. (2004) Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. *Forest Ecology and Management*, **197**, 21-38.

Sork, V. & Smouse, P. (2006) Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology*, 821-836.

Stone, R. (1994) Agricultural biotechnology - large plots are next test for transgenic crop safety. *Science*, **266**, 1472-1473.

Weekes, R., Allnutt, T., Boffey, C., Morgan, S., Bilton, M., Daniels, R., & Henry, C. (2007) A study of crop-to-crop gene flow using farm scale sites of fodder maize (Zea mays L.) in the UK. *Transgenic Research*, **16**, 203–211.

Willenborg, C.J. & Van Acker, R.C. (2006) Comments on ‘‘An Empirical Model for Pollen-Mediated Gene Flow in Wheat’’. *Crop Science*, **45**, 1286-1294.

Table 1: Average distances between conventional fields and their closest GM neighbour (m) on simulated landscapes as a function of the original map, the proportions of maize area and of GM maize.

Maize		20%		70%	
GM in maize		10%	50%	10%	50%
Original map	A1	290	103	126	15
	P1	284	67	123	20
	S1	403	101	153	13
	S4	479	146	225	15
	T1	346	206	99	10

Table 2: AIC values for linear models on log-impurity rates including either no factor (Intercept), landscape factors, local factors or both (see material and methods for details). Models were fitted separately for the two kernels. N=10692 conventional fields.

Model	AIC	
	NIG	2Dt
Intercept	$2.72\ 10^4$	$3.18\ 10^4$
Landscape only	$2.70\ 10^4$	$3.17\ 10^4$
Local only	$1.19\ 10^4$	$1.55\ 10^4$
Local+landscape	$1.18\ 10^4$	$1.53\ 10^4$
Local+landscape +interactions	$1.08\ 10^4$	$1.45\ 10^4$

Table 3: Analysis of variance on landscape and local variables affecting log-impurity rates.

Model term		df Num	df Den	Mean square ratio	
				NIG	2Dt
Landscape variables	Orig. map	4	67	1.0	1.1
	rep(orig. map)	5	67	1.0	0.8
	% maize	1	67	42	63
	% gm	1	67	70	115
	% maize*% gm	1	67	20	20
Estimated landscape residual variance				*0.050*	*0.052*
Local variables	Log(distgm)	1	10602	**13401**	**11360**
	Distgm	1	10602	629	416
	Area target field	1	10602	**804**	**711**
	Area GM field	1	10602	20	41
Interactions	Log(Distgm)*orig. map	4	10602	15	15
	Log(Distgm)* % gm	1	10602	**645**	**731**
	Log(Distgm)*%maize	1	10602	613	499
Estimated local residual variance				*0.15*	*0.22*

Largest mean square ratios in bold. Orig. map: original map, Distgm: distance to closest GM field, Df Num: degrees of freedom of numerator, Df Den: degrees of freedom of denominator

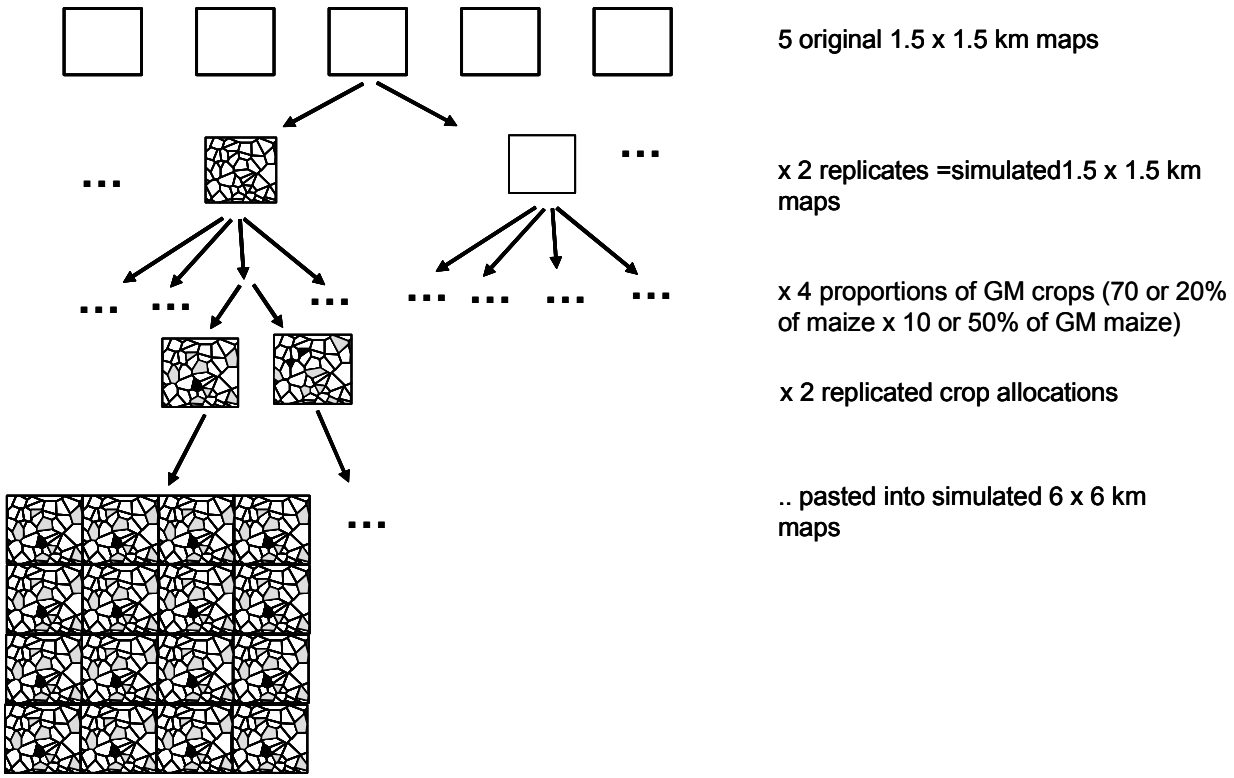


Figure 1: Simulation design.

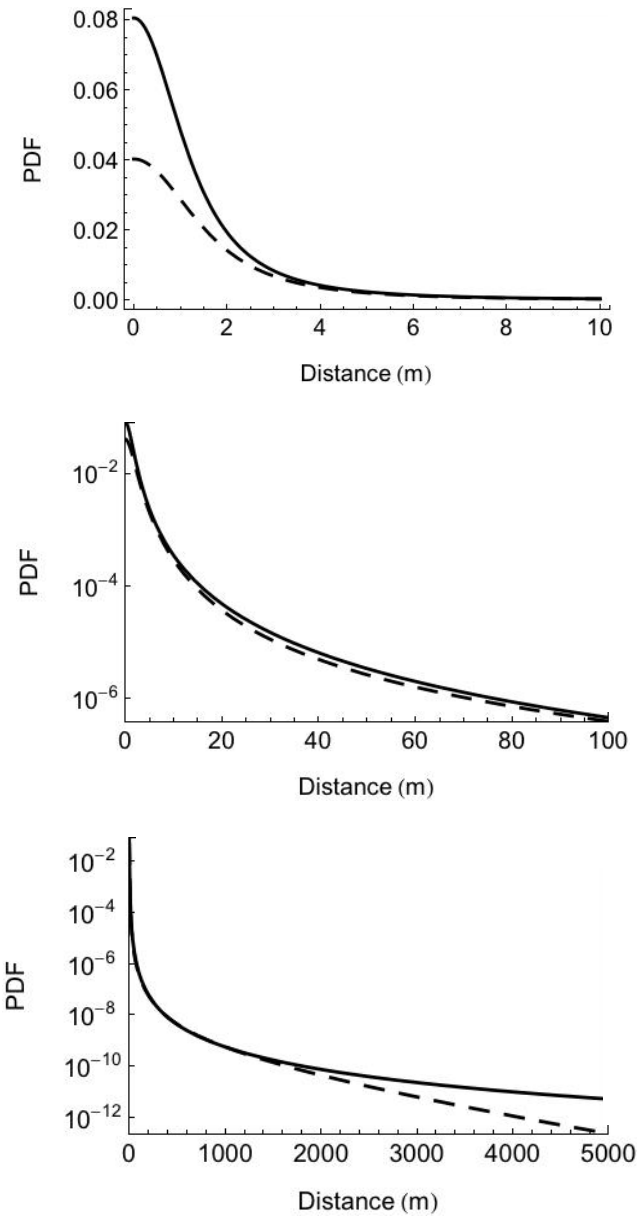


Figure 2: Probability functions used as dispersal kernels over three ranges of distances. Full line: 2Dt, dotted line: NIG.

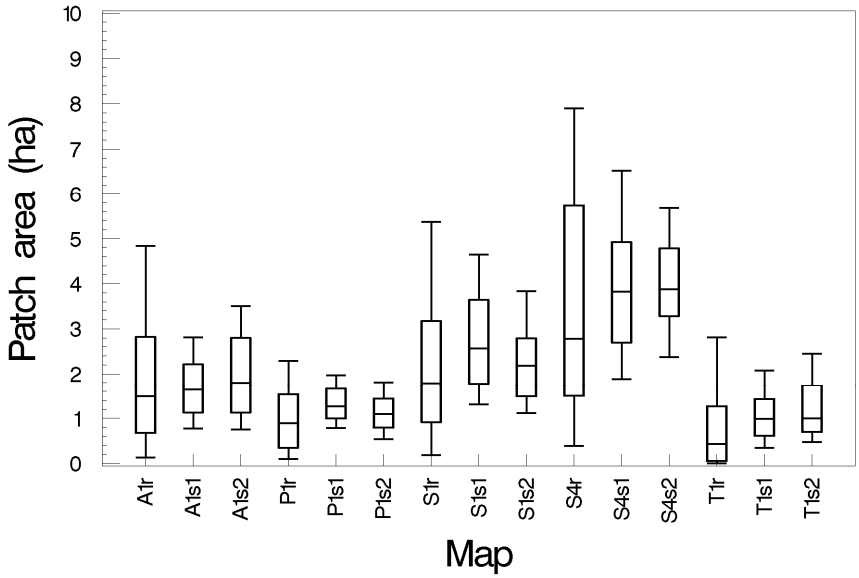


Figure 3: Field area distribution of the five real and their two associated simulated 1.5 x 1.5 km maps (Xr = real mapX , Xsy = yth simulation of map X). Within each box plot: horizontal line = median; box limits = first and third quartiles; whiskers limits = 10th and the 90th percentiles.

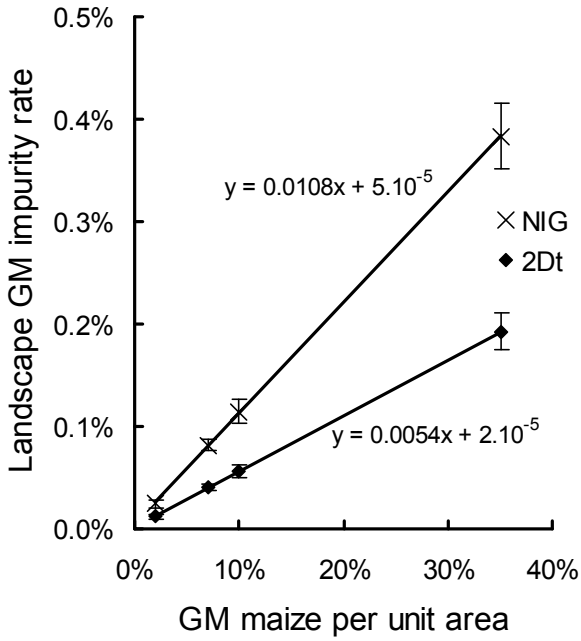


Figure 4: Average landscape impurity rates simulated either with the 2Dt or the NIG dispersal kernel. Error bars represent standard errors calculated over the 5 x 4 simulated field patterns.

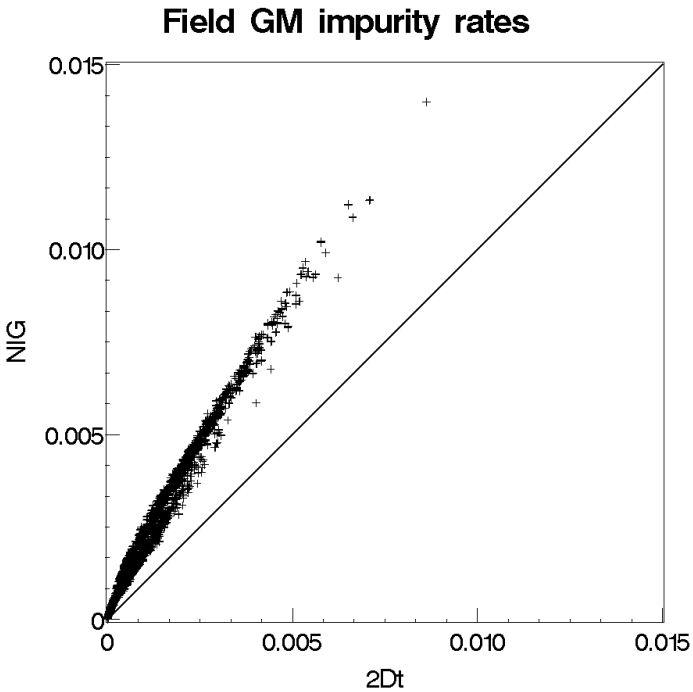


Figure 5: Impurity rates simulated with the NIG versus those simulated with the 2Dt, one point per conventional field.

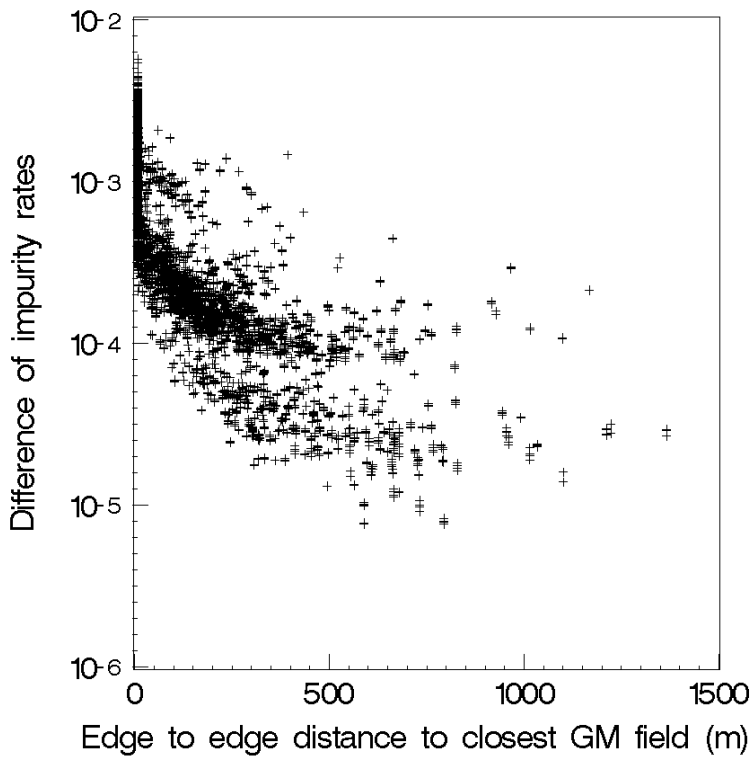


Figure 6: Difference between impurity rates predicted with the NIG and with the 2Dt versus distance to closest GM field.

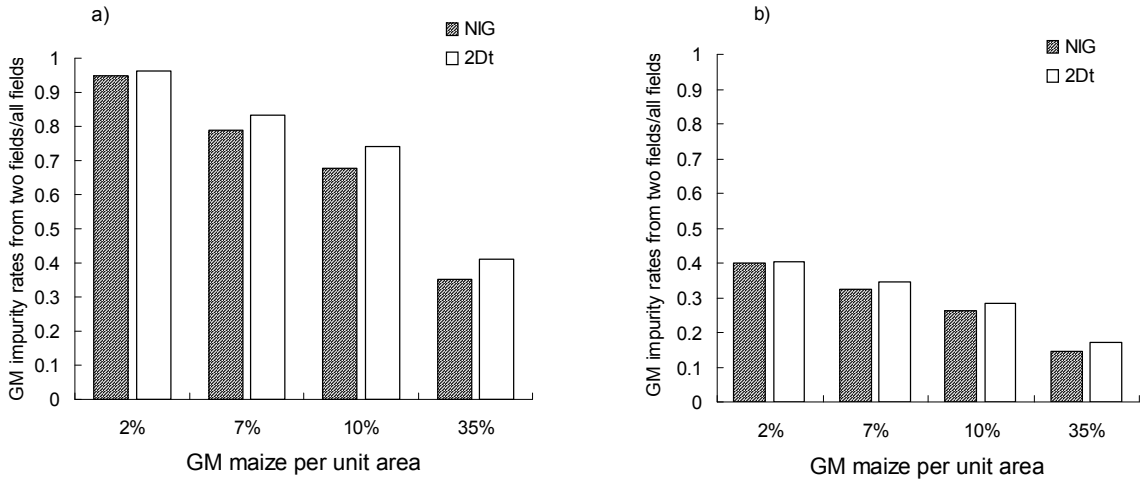


Figure 7: Ratio of impurity rates predicted with two-field simulations over those predicted with landscape simulations as a function of the proportion of GM maize over the landscape. a) neighbouring GM and conventional plots; b) non-neighbour GM and conventional plots.

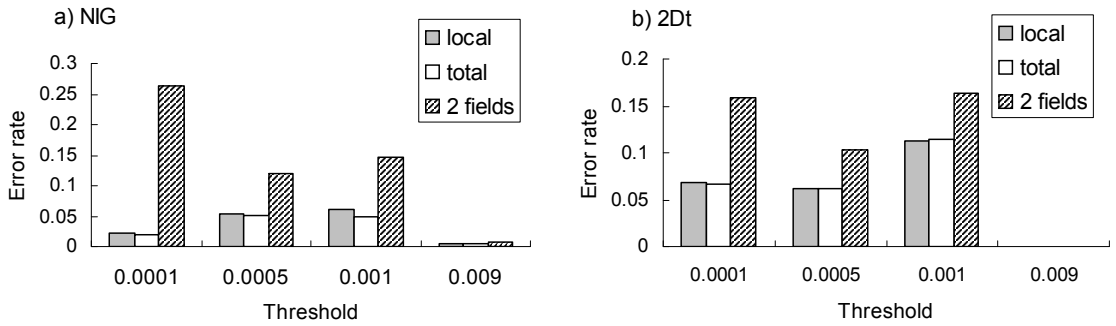


Figure 8: Error rates when classifying fields with respect to four thresholds using simulations at the landscape level as the reference. Classification was based either on linear predictions (model with local variables only (local) or model with all variables (total)) or on values simulated with two fields only (2 fields).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Figure S1: Distribution of ratios of impurity rates predicted with the NIG versus those predicted with the 2Dt as a function of distance between each conventional field and its closest GM neighbour. Within each box plot: horizontal line = median; box limits = first and third quartiles; whiskers limits = 10th and the 90th percentiles.

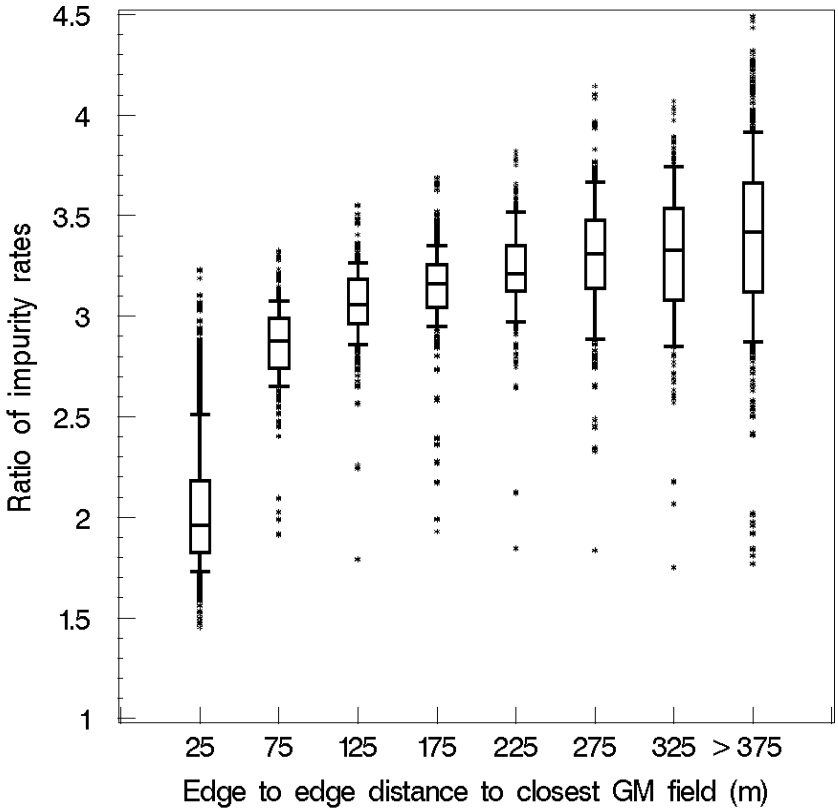


Table S1: Details of error rates when classifying predictions of GM impurity rates with respect to four thresholds using landscape simulations as the reference. Predictions are performed for both kernels either with linear models including all variables and interactions (-total) or only local variables (-local) or with simulations only from the closest GM field (-2 fields). Note that impurity rates simulated with the NIG never exceed 0.009.

NIG-local

Threshold	False positive	True positive	False negative	True negative	Error rate
0.0001	0.0084	0.8812	0.0135	0.0969	0.0219
0.0005	0.0246	0.5170	0.0301	0.4282	0.0548
0.001	0.0370	0.4324	0.0237	0.5067	0.0608
0.009	0	0	0.0056	0.9944	0.0056

NIG-total

Threshold	False positive	True positive	False negative	True negative	Error rate
0.0001	0.0041	0.8803	0.0144	0.1012	0.0185
0.0005	0.0224	0.5189	0.0282	0.4304	0.0507
0.001	0.0372	0.4456	0.0107	0.5065	0.0479
0.009	0	0	0.0056	0.9944	0.0056

NIG-2fields

Threshold	False positive	True positive	False negative	True negative	Error rate
0.0001	0	0.6326	0.2641	0.1032	0.2641
0.0005	0	0.4306	0.1189	0.4504	0.1190
0.001	0	0.3105	0.1470	0.5425	0.1470
0.009	0	0	0.0063	0.9936	0.0064

2DT-total

Threshold	False positive	True positive	False negative	True negative	Error rate
0.0001	0.0252	0.6231	0.0411	0.3105	0.0664
0.0005	0.0486	0.4250	0.0138	0.5125	0.0625
0.001	0.0495	0.2561	0.0642	0.6302	0.1137
0.009	0	0	0.0004	0.9968	0.0004

2DT-local

Threshold	False positive	True positive	False negative	True negative	Error rate
0.0001	0.0269	0.6229	0.0413	0.3088	0.0683
0.0005	0.0408	0.4175	0.0213	0.5204	0.0621
0.001	0.0421	0.2489	0.0713	0.6377	0.1133
0.009	0	0	0	1	0

2Dt- 2 fields

Threshold	False positive	True positive	False negative	True negative	Error rate
0.0001	0	0.5080	0.1586	0.3333	0.1586
0.0005	0	0.3374	0.1036	0.5589	0.1036
0.001	0	0.157	0.1635	0.6790	0.1635
0.009	0	0	0.0004	0.9996	0.0004

Modelling impacts of cropping systems on maize cross pollination in agricultural landscapes: a tool for the design of coexistence rules

Frédérique Angevin

Consumer demand for food free of GMOs is growing and if production standards are to be met, food and non-food chains must be separated. Indeed, European Commission regulations 1829/2003 and 1830/2003 stipulate that food and feed thought to be GMO-free but found to be containing more than a 0.9% portion of an adventitious presence of authorized GMOs have to be distinguished, traced and labelled as such. Moreover, to ensure that producers have a choice a choice among differing types of production, the European Commission has issued recommendations that permit the coexistence of non-GM and GM crops. This poses the problem of how to deal with coexistence in an agricultural supply chain dedicated to handling a single crop species.

To help in the elaboration of coexistence rules, and then assess their feasibility and their consequences as well as for setting up monitoring and control schemes, specific field experiments, even if necessary, are not sufficient as their predictive value remains restricted to a given context. It is necessary to be able to forecast the fate of GM crops at the landscape level taking into account the various cropping systems and agricultural practices that may occur across Europe. The key to forecasting spread and behaviour of GM plants and seeds as well as their impacts under a wide range of agro-ecosystems is modelling. Models reproduce the functioning of agro-systems and take into account the relevant factors and processes as well as their interactions. They thus make it possible to simulate the behaviour of agro-systems in non-observed situations and on a long term basis.

This doctoral thesis establishes a methodological framework for the development of biological flow models thanks to the dynamic interactions of modelling, evaluation and experimentation. In a first phase, the work involved the design of the MAPOD® model developed in relationship to literature and varietal experiments carried out by GEVES. MAPOD® simulates gene flow between maize crops at the landscape scale. It is based on an individual dispersal function which depends on biological and climatic parameters. It calculates the probability of fecundation at a (x, y) point as a function of distance from the pollen emitter (efficient pollination). Its flowering dynamics module makes it possible to take into account of the consequences of flowering time – lags on GM adventitious presence in harvests. MAPOD® evaluates the effect of the spatial distribution of maize plots, varietal characteristics, and climate as well as agricultural practices on cross-pollination.

In this investigation, in a second phase the initial version of MAPOD® was evaluated with another dataset provided by GEVES. Ways to improve the algorithm were thereby defined. In a third phase, the predictive quality of MAPOD® was estimated by comparing model outputs to cross-pollination rates which were obtained by monitoring farmers' fields in Catalonia (Spain) over a 5-year period. The relevance of decisions made according to model output was also evaluated.

In a fourth phase, MAPOD® was used to simulate different scenarios involving the introduction of GM varieties into European cropping systems. The efficiency of individual coexistence measures was tested. Afterwards, the effect of combining different types of practices was simulated, leading to a set of decision-support tables elaborated according to the cropping context. At the scale of the collecting basin, with the enhanced version of MAPOD®, the efficiency of segregation strategies (spatial or temporal) that could be implemented by collecting and storing organisations was also studied. Lastly, model outputs were used as a basis for the design of a decision-support tool for use by farmers and extension workers.

Keywords: corn, pollen dispersal, flowering dynamics, cropping system, adventitious presence, coexistence, gene flow, GMO

Modélisation de l'impact des systèmes de culture sur la pollinisation croisée chez le maïs dans le cadre de l'établissement de règles de coexistence

Frédérique Angevin

La perspective de la culture de variétés transgéniques pose, pour de multiples raisons, le problème de la ségrégation de filières de production basées sur la même espèce dans les paysages agricoles : demande d'une filière « sans OGM » ; coexistence de productions alimentaires et non alimentaires… La réglementation européenne fixe un seuil de présence fortuite d'OGM au-delà duquel un produit, même issu d'une variété non-OGM, doit être étiqueté comme contenant des OGM. La Commission européenne a émis des recommandations sur l'adoption de pratiques favorisant la coexistence entre cultures OGM et non-OGM de façon à ce que les agriculteurs puissent garder la liberté de choisir le mode de production qu'ils souhaitent. Dans ce contexte, il est important de pouvoir estimer *a priori* le taux d'impuretés OGM dans les récoltes de parcelles non-OGM, en fonction de leur organisation spatiale et du climat, mais aussi de comprendre et prédire l'effet de modifications de pratiques agricoles sur ce taux. L'expérimentation peut apporter des éléments de connaissances des phénomènes, la modélisation s'avère cependant plus pertinente pour répondre aux demandes d'aide à la décision (principalement publique) pour des situations agricoles et climatiques diversifiées. L'objectif de la thèse est donc de dégager un cadre méthodologique générique pour le développement de modèles de flux biologiques combinant de façon dynamique modélisation, évaluation et expérimentation.

Le travail de thèse a consisté en la conception et l'évaluation du modèle MAPOD qui simule les flux de gènes chez le maïs à l'échelle du paysage. Ce modèle est basé sur une fonction de dispersion individuelle qui dépend de paramètres biologiques et climatiques et qui calcule une probabilité de fécondation en un point (x, y) en fonction de la distance à la source émettrice de pollen (pollinisation efficace). Il comporte un module de dynamique de floraison qui rend compte des conséquences des synchronismes ou asynchronismes de floraison entre champs sur les taux d'OGM dans les récoltes.

Le modèle permet de déterminer l'effet de la distribution spatiale des parcelles de maïs, des caractéristiques variétales, du climat et des itinéraires techniques sur les taux de pollinisation croisée. MAPOD a été mis au point à partir de données de la littérature et d'expérimentations menées par le GEVES. Cette première version a été évaluée grâce à un second jeu de données provenant du GEVES. Elle a aussi fait l'objet d'une analyse de sensibilité. Les résultats obtenus ont permis de définir les pistes d'amélioration de l'algorithme. La qualité prédictive de MAPOD a ensuite été estimée grâce à des données issues de suivis effectués pendant 5 ans dans des parcelles d'agriculteurs en Catalogne, région où le maïs Bt est cultivé à grande échelle. La pertinence des décisions prises grâce aux sorties du modèle a aussi été caractérisée.

MAPOD a été utilisé pour simuler différents scénarios d'introduction de variétés OGM dans les systèmes de culture européens. L'efficacité de mesures individuelles de coexistence a été testée. Ensuite, c'est l'effet de combinaison de pratiques qui a été simulé, aboutissant à l'établissement de tables de décision en fonction du contexte de culture. À l'échelle du bassin de collecte, l'efficience des stratégies de ségrégation (spatiale, temporelle) pouvant être mises en place par les organismes de collecte-stockage a aussi été étudiée grâce au modèle. Enfin, les sorties de MAPOD ont servi comme support pour la mise au point d'un outil d'aide à la décision à destination des agriculteurs et de leurs conseillers.

Mots-clefs : maïs, dispersion du pollen, dynamique de floraison, système de culture, présence fortuite, coexistence, flux de gènes, OGM