ETUDE EN PLEIN CHAMP DE L'IMPACT DE COLZAS RESISTANTS A UN HERBICIDE SUR LES POPULATIONS D'INSECTES POLLINISATEURS ET LEUR COMPORTEMENT DE BUTINAGE.

J. Pierre¹, D. Marsault², M.-H. Pham-Delègue², J. Champolivier³, H. Picault⁴, M. Renard⁴

1 UMR INRA/ENSAR, Bio 3P, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex

²INRA Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés, La Guyonnerie, BP 23, 91440 Bures-sur-Yvette

³CETIOM, BP 04, 78850 Thiverval Grignon

⁴UMR INRA/ENSAR, Amélioration des Plantes et Biotechnologies Végétales, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex

RÉSUMÉ

Deux expérimentations ont été conduites sur colza en plein champ, chacune dans un site différent. L'objectif était d'étudier un possible effet pléiotropique du transgène pat (conférant la résistance à l'herbicide glufosinate) sur la plante, effet susceptible d'avoir une incidence sur les populations d'insectes pollinisateurs et sur leur comportement de butinage. Sur chaque site, on a comparé une variété avec son homologue génétiquement modifié (respectivement : Site 1, Artus/Artus LL ; Site 2, Falcon/Falcon pat). Sur les 2 sites, au cours de la floraison l'évolution de la densité de fleurs a été enregistrée et les densités d'insectes/1000 fleurs ont été mesurées en distinguant 4 taxons (abeille domestique, abeilles solitaires, bourdons et Diptères). De plus, sur le Site 1 des piégeages d'insectes ont été faits. Sur le Site 2, le comportement de butinage des abeilles mellifères et des bourdons a été observé (nombre de fleurs butinées/min.; passage entre les deux génotypes). Excepté le fait que la floraison d'Artus a été plus précoce que celle d'Artus LL et que ceci a entraîné une plus grande densité d'insectes sur Artus, l'ensemble des résultats montrent qu'il n'existe aucune différence entre les colzas conventionnels et leurs homologues transgéniques aussi bien au niveau de la population d'insectes pollinisateurs qu'au niveau comportemental. Les insectes semblent incapables de distinguer les génotypes homologues entre eux. Ceci est en accord avec l'absence d'effet pléiotropique du transgène pat sur le nectar et le pollen enregistrée par ailleurs.

INTRODUCTION

L'introduction du transgène *pat* dans le colza pour lui conférer la résistance au glufosinate ne devrait avoir *a priori* aucune incidence sur les insectes auxiliaires qui se nourrissent de pollen et de nectar. En effet, la protéine est produite en très petite quantité dans les tissus de la plante, elle ne vise pas une perturbation de la physiologie des insectes et, de plus, le mode de transfert de ce gène par le promoteur Ca MV 35s est par ailleurs connu pour ne pas induire d'expression dans le pollen (Jouanin *et al.*, 2000). Cependant, sans parler de toxicité à proprement parler, l'insertion d'un transgène peut avoir des effets pléiotropiques difficiles à prévoir. Parmi ceux-ci, on peut imaginer une modification de la production de fleurs, de la production de pollen et de nectar au plan quantitatif voire qualitatif (composition en sucres du nectar). Ce sont autant d'éléments qui pourraient modifier la valeur attractive de la plante pour les insectes pollinisateurs.

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'incidence de ces éventuels effets pléiotropiques sur le comportement des pollinisateurs en comparant le comportement des insectes visitant deux variétés de colzas transgéniques par rapport à deux colza conventionnels homologues, ceci en situation de plein champ et dans des conditions environnementales différentes.

MATERIEL ET METHODES

Les expérimentation ont été conduites sur deux sites très différents et selon deux dispositifs distincts.

- L'essai 1, situé dans le Sud Ouest, avec pour génotypes Artus (conventionnel) et Artus LL (transgénique) disposés en 4 blocs de 22m x 22m séparés par des allées de 5m.
- L'essai 2, situé en Bretagne, avec pour génotypes Falcon (conventionnel) et Falcon *pat* (transgénique) disposés sur deux bandes parallèles de 6m x 30m séparée de 24m et une microparcelle de 3m x 7m composée des 2 génotypes placés côte-à-côte.

Dans l'essai 1 la population d'insectes était celle environnante alors que dans l'essai 2 une ruche a été apportée en début de floraison.

La diversité et la densité des insectes pollinisateurs /1000 fleurs ont été mesurée sur des placettes de 5m² en regroupant les insectes selon les 4 taxons les plus représentatifs (abeille domestique, diverses espèces d'abeilles solitaires, bourdons et Diptères). En outre,

- sur l'essai 1 (Artus/Artus LL) les insectes ont été capturés au piège jaune et dénombrés ;
- sur l'essai 2 (Falcon/Falcon pat) le nombre de fleurs visitées par min. par les abeilles domestiques et les bourdons a été noté et le taux de passage entre les deux génotypes a été évalué sur la microparcelle selon une technique déjà décrite par ailleurs (Pierre *et al.*, 1996).

RÉSULTATS

Densité de fleurs

Le suivi de l'évolution des floraisons montre que :

- sur le site 1, la floraison s'est déroulée graduellement mais Artus a été légèrement plus précoce (2 à 3 jours) qu'Artus LL. La différence de densité de fleurs entre les 2 génotypes a été particulièrement notable en début de floraison.
- sur le site 2, la floraison s'est faite de manière sporadique en raison des variations de conditions climatiques mais Falcon et Falcon *pat* ont fleuri de manière très synchrone avec des densités de fleurs très similaires.

Densité d'insectes

Nombre d'insectes butineurs/1000 fleurs épanouies ± ES. Essai 1 (44 observations, 11 dates) et Essai 2 (59 observations, 11 dates). Présentation partielle de l'analyse ANOVA

	COLZA CONVENTIONNEL COLZA TRANSGÉNIQUE		Effet génotype	
Essai 1	Artus	Artus LL	F	Р
Ab. Domestique	10.4 ± 5.05 8.7 ± 4.26		5,87	0,018
Ab. Solitaires	0.4 ± 0.83 0.3 ± 0.43		0,78	0,381
Bourdons	ns 0.1 ± 0.20 0.1 ± 0.17		0,28	0,598
Diptères	0.4 ± 1.03	0.3 ± 0.59	0,26	0,610
ESSAI 2	Falcon Falcon pat			
Ab. Domestique	1,1 ± 0,15	1,4 ± 0,14	1,56	0,215
Ab. Solitaires	0.3 ± 0.07	0.3 ± 0.05	0,08	0,784
Bourdons	0,7 ± 0,11	0,8 ± 0,13	2,76	0,100
Diptères	0.3 ± 0.04	0.3 ± 0.05	3,16	0,079

La densité d'abeilles/1000 fleurs a été très élevée dans l'essai 1 situé en région Sud bien qu'il n'y ait pas eu d'apport de ruche. Dans cet essai, on observe significativement plus d'abeilles sur le colza conventionnel que sur le colza transgénique. Ceci peut être attribué à la différence de précocité de floraison entre les 2 génotypes. L'analyse Anova à 2 facteurs (génotype, date) effectuée montre par ailleurs (résultats non présentés ici) qu'il existe un effet date très important et qu'une interaction entre date et génotype est possible. Ainsi, une

analyse date par date montre que certains jours le colza transgénique est plus fréquenté par un taxon donné mais que ceci peut s'inverser le jour suivant.

Piégeage d'insectes sur le site 1

Nombre d'insectes piégés ± ES et proportion en (%) dans la population piégée (10

prélèvements par génotype, 5 dates de piégeage)

	COLZA CONVENTIONEL	NVENTIONEL COLZA TRANSGÉNIQUE Effet génotype		énotype
Essai 1	Artus	Artus LL	F	Р
Ab. Domestique	32.2 ± 18.4 28.2 ± 15.7		0,61	0,451
	(30,7%)	(31,8%)		
Ab. Solitaires	$30,6 \pm 22,1$ $27,6 \pm 22,1$		0,46	0,513
	(29,2%)	(28,9%)		
Bourdons	2,1 ± 2,3	2,0 ± 1,7	0,01	0,919
	(2,0%)	(2,6%)		
Diptères	$27,0 \pm 8,6$	24,9 ± 14,3	0,36	0,561
	(25,8%)	(26,3%)		
Autres divers	12,9 ± 12,9	9,8 ± 10,8	1,44	0,258
	(12,3%)	(10,5%)		

Les résultats présentent une grande variabilité mais sont similaires entre Artus et Artus LL.

Comportement de butinage sur le site 2

	Nombre de fleurs visitées/min.		Taux de passage		
	Falcon	Falcon pat	Intra Falcon	Inter Falcon et Falcon pat	
Ab. Domestique	13,9 ± 0,58	13,6 ± 0,63			
Bourdons	$32,3 \pm 0,44$	$32,3 \pm 0,38$	2,22	2,21	

Les résultats sont totalement similaires entre Falcon et Falcon pat.

CONCLUSION

Les résultats relatifs aux densité d'insectes pour 1000 fleurs épanouies montrent que la seule différence significative notée concerne la plus grande abondance d'abeilles domestiques dans l'essai 1 sur le colza Artus par rapport à son homologue transgénique Artus LL. Cette différence est sans doute imputable à la différence de précocité de floraison entre ces deux génotypes (Artus ayant fleuri 2 à 3 jours plus tôt que Artus LL) et à la très forte densité d'insectes présents sur la parcelle pour une densité de fleurs très faible en début de floraison. Une telle différence ne se retrouve pas dans l'essai 2.

De plus, toutes les autres données (piégeage, comportement de butinage) attestent que les insectes sont incapable de différencier les colzas conventionnels des colzas transgéniques résistants au glufosinate. Ceci est en accord avec l'absence de différence qui a été observée par ailleurs quant à la production de pollen et de nectar de Falcon et Falcon pat. Ainsi, le transgène pat n'induit pas d'effets pléiotropiques pouvant avoir une incidence sur les insectes pollinisateurs.

REMERCIEMENTS

Les expérimentations conduites sur le Site 1 ont été réalisées dans le cadre de l'Action Inter-Institut pilotées par le CETIOM, et la mise en place des parcelles a été effectuées par la Société Aventis. Les expérimentations conduites sur le site 2 ont été réalisées dans le cadre d'une AIP de l'INRA « OGM et Environnement ». Le matériel biologique a été fourni par Aventis (Artus LL) et par NPZ (Falcon pat).

RÉFÉRENCES

Jouanin L., Bonadé-Bottino M., Girard C., Lerin J., Pham-Delègue M.H., 2000 . Expression fo protease inhibitors in rapeseed. In: D. Michaud (ed), Recombinant protease inhibitors in plants, pp 179-190.

Pierre J., Pierre J.S., Marilleau R., Pham-Delègue M.H., Tanguy X., Renard M., 1996. Influence of the apetalous character in rape (*Brassica napus*) on the foraging behaviour of honeybees (*Apis mellifera*). Plant Breeding 115, 484-487.

Pierre J., Marsault D., Genecque E., Renard M., Champolivier J., Pham-Delègue M.H., 2002. Effects of herbicide tolerant transgenic oilseed rape genotype on honey bees and other pollinating insectes under field conditions (soumis).

Marsault D., Pierre J., Pham-Delègue M.H., 2001. Biodiversity and foraging behaviour of pollinating insects on herbicide-tolerant transgenic oilseed-rape genotypes under field conditions. Proc. Meeting of the International Union for the Study of Social Insects, 25-29 September, 2001, Berlin, Germany