

VARIABILITÉ DU COMPORTEMENT DE BUTINAGE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE (*APIS MELLIFERA*) SUR DES MUTANTS DE COLZA (*BRASSICA NAPUS OLEIFERA*). CONSÉQUENCE POUR LA POLLINISATION

Jacqueline PIERRE¹, Michel RENARD²

¹ INRA, Laboratoire de Zoologie, BP 26, F-35653 Le Rheu cedex (France)

² INRA, Station d'Amélioration des Plantes, BP 26, F-35653 Le Rheu cedex (France)

Résumé : Le comportement de butinage de l'abeille domestique vis-à-vis de 3 mutants de Colza (colza nain, apétale et cléistogame) a été comparé à celui présenté vis-à-vis du colza classique, au cours d'expérimentations séparées. L'étude a porté sur la valeur attractive des plantes (nombre de butineuses/1000 fleurs butinables), sur la capacité des abeilles à effectuer des passages entre type mutant et type non mutant (taux de passage), et sur les postures de butinage de nectar. Sur colza nain, la valeur attractive de la plante ne dépend pas de la taille mais de l'interaction entre le nanisme et la fertilité-mâle (présence ou absence de pollen). De même, la différence de taille (de l'ordre de 80 cm) seule n'entraîne pas de baisse significative des taux de passage, par contre les taux sont divisés en moyenne par trois lorsque les 2 colzas en présence diffèrent par leur fertilité. La forme de la fleur du colza nain étant inchangée ; la posture de butinage de nectar adoptée sur le mutant nain est identique à celle utilisée sur colza classique, à savoir de type surmontant (contact de l'abeille avec les organes reproducteurs). Le colza apétale malgré son absence de pétales est aussi attractif que le colza classique, voire plus à certaines dates. Dans ce cas, les passages d'un type à l'autre sont très rares car la morphologie florale étant très différente, chaque individu se spécialise sur un type floral en adoptant une posture latérale (70% des cas) sur les apétales qui conduit à peu de contacts pollinisants. Chez le colza cléistogame, la fermeture complète de la fleur ne modifie pas la valeur attractive de la plante mais les passages entre mutants et non mutants sont réduits de 60% et les postures sur fleurs cléistogames sont majoritairement latérales (86%). Les incidences sur la pollinisation par les abeilles sont les suivantes : la production de semences hybrides de colza demi-nain est possible, les transferts de pollen entre colza avec et sans pétales sont quasi nuls, les transferts de pollen (dispersion et réception) chez le colza cléistogame sont extrêmement réduits sous réserve que les fleurs restent bien fermées.

Mots-clés : *Apis mellifera*, pollinisation entomophile, colza, nain, apétale, cléistogame

Abstract: Variability in the behaviour of honeybees (*Apis mellifera*) foraging on developmental mutants of oilseed rape (*Brassica napus oleifera*). Incidence on pollination.

The foraging behaviour of honeybees on three mutants of oilseed rape (dwarf, apetalous and cleistogamous lines) was compared to conventional oilseed rape in separated experiments. The plant attractiveness (number of foraging honeybees/1000 available flowers, the flights of honeybees between both types (passing ratio) and their nectar foraging postures were studied. Results showed that the attractiveness of the plant did not depend on its height but that an interaction existed between dwarfism and male-sterility (presence or absence of pollen). In the same way, the difference in height alone (of about 80 cm) did not induce a significant decrease of the passing ratio, whilst it was divided by three when the both rape seed tested differed in their male-fertility. The floral morphology of the dwarf line being unchanged, the nectar foraging postures were similar on dwarf line to those on the conventional line, i.e. a

crawling-over posture was exhibited (honeybees contacts with the reproductive organs). The apetalous line, albeit its lack of petals, was as attractive as conventional line, and even more at some dates. Flights between both types were very seldom because the flower morphology was quite different and individuals were specialised on one type. They acquired a side-working posture on the apetalous flowers (70%) getting few pollinating contacts. In the case of the cleistogamous line, the complete shutting of the flower did not alter the attractiveness but flights between mutant and non mutant flowers were reduced by 60% and foraging postures on the cleistogamous line were side-working in a major part (86%). The incidence on honeybees pollination are: the hybrid seed production of semi-dwarf lines can be achieved, the pollen transfer between apetalous and petalous oilseed rape is nearly null, the pollen transfer from and on the cleistogamous line are extremely reduced when the flowers are kept closed.

Key-words: *Apis mellifera, insect pollination, oilseed rape, dwarf line, apetalous line, cleistogamous line*

INTRODUCTION

Divers mutants de colza, obtenus par mutagenèse MSE, ont été sélectionnés par l'INRA (Renard et coll., 1999) de manière à répondre à différents besoins agronomiques. Ainsi la sélection de colza nains et demi-nains permet d'obtenir une meilleure résistance au froid. De ce fait, ces colzas présentent l'avantage de pouvoir être semés tôt dans la saison et d'être utilisés comme piège à nitrates. De plus, de par leur faible taille, ils sont résistants à la verse. Les lignées de colza sans pétale permettent de réduire la transmission par les pétales d'une maladie fongique, la sclérotiniose, (MacLean, 1958 ; Kapoor et coll., 1983 ; Morall et coll. 1991) pour laquelle la seule méthode de lutte efficace est l'utilisation répétée de fongicides (Dueck et coll., 1983). L'absence de pétales offre en outre l'avantage de mieux laisser passer les rayonnements lumineux jusqu'au feuillage, ce qui se traduit par une meilleure photosynthèse et de meilleurs rendements (Rao et Mendham, 1987 ; Mendham et coll., 1991 ; Fray et coll., 1995). Enfin, sachant que le colza est hermaphrodite et habituellement autogame à 70%, la sélection de colzas à fleurs fermées (cléistogames) répond à un double objectif : d'une part éviter les allofécondations, c'est-à-dire maintenir la pureté variétale en favorisant l'autofécondation et d'autre part éviter la dispersion de pollen lorsque celui-ci est porteur de caractères spécifiques (cas des transgènes).

Ces modifications dans la morphologie de la plante ou de la fleur peuvent avoir des conséquences sur le comportement de butinage des principaux insectes vecteurs de pollen de colza que sont les abeilles domestiques. L'objectif de notre travail a été d'étudier plus particulièrement la valeur attractive de ces 3 phénotypes vis-à-vis des abeilles et la capacité de celles-ci à effectuer des transferts de pollen entre un type mutant et un non mutant.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Trois expérimentations ont été menées séparément pour étudier les 3 colzas mutants, nain, apétale et cléistogame. Les méthodes d'observation utilisées dans les 3 cas sont celles précédemment décrites par Mesquida et coll. (1987) et Pierre et coll. (1996). La valeur attractive de la plante a été appréciée en calculant le nombre de butineuses/1000 fleurs butinables comptabilisées le long de transects de 0,5 m x 7,5 m ou 0,5 m x 10 m. La capacité des abeilles à effectuer des transferts de pollen d'un type à

l'autre a été mesurée par des taux de passage d'une population de butineuses entre 2 zones contiguës A et B de 0,5 m x 3 m chacune (Taux de passage = nombre de passages entre A et B / nombre total de butineuses présentes sur A et B, durant 3 ou 5 mn). Afin de pouvoir effectuer des comparaisons, 2 taux de passage ont été pris en compte : le taux de passage « inter », le type A et B étant différent (mutant versus non mutant) et le taux de passage « intra » de référence, les types A et B étant identiques. Enfin, les postures de butinage de nectar ont été notées. Elles peuvent se résumer à 2 catégories : i) les postures surmontantes caractérisées par le fait que l'insecte, placé au sommet de la fleur, a des contacts avec les anthères et le stigmate ; ii) les postures insérantes, caractérisées par une position latérale de l'insecte par rapport à la fleur, et conduisant à peu de contacts avec les organes reproducteurs.

Toutes les observations ont été faites en pleine floraison dans les conditions climatiques les plus favorables au butinage. Afin d'éviter tout effet des conditions environnementales sur le comportement, les délais entre les observations sur colza mutant et non mutant n'ont jamais excédé 10 mn.

Les analyses statistiques, pratiquées pour chaque essai, sont des analyses de variance à un ou deux facteurs (effet génotype, effet date d'observations) suivies d'un test de comparaison de moyennes (Newman-Keuls) au seuil de risque d'erreur 5%. Les valeurs affichées dans les tableaux sont accompagnées de l'erreur type ($\pm$ SE)

Expérimentation Colza nain

Le mutant nain de la variété Darmor a été obtenu à partir d'une mutation au locus *Bzh*. La différence de taille maximale enregistrée entre Darmor (D) et Darmor *Bzh* (D *Bzh*) est de l'ordre de 80 cm. L'objectif à terme étant d'obtenir des colzas hybrides demi-nains à partir de géniteurs mâle et femelle haut et nain, l'expérimentation était composée de 3 essais comportant les formes mâle-stériles (colzas « femelles », sans pollen) du type mutant et non mutant semées en bandes alternées de 6 m de large. L'essai 1, destiné à étudier l'effet du nanisme seul, comprenait du Darmor nain mâle-fertile (MF D *Bzh*) et du Darmor mâle-fertile (MF D), l'essai 2 comprenait du Darmor nain mâle-stérile (MS D *Bzh*) et du Darmor mâle-fertile (MF D) et, à l'inverse, l'essai 3 du Darmor nain mâle-fertile (MF D *Bzh*) et du Darmor mâle-stérile (MS D).

Expérimentation Colza apétale

Le mutant apétale a été sélectionné à partir de lignées résultant d'un croisement interspécifique entre *B. oleracea* et *B. napus* suivi de rétrocroisements par *B. napus*. Le colza avec pétales de référence était un haploïde doublé de l'hybride « Prota x Brutor ». Le dispositif était composé de 2 microparcelles contiguës de chaque type, de 1,5 m x 7,5 m chacune et répété 2 fois en position inversée afin d'éviter un éventuel effet d'orientation. Les observations des postures de butinage ont été faites au champ mais ont été l'objet d'études préalables sous cage (3 x 3 x 2 m) à l'aide d'enregistrements vidéo.

Expérimentation Colza cléistogame

Le caractère cléistogame a été obtenu à partir d'une seule mutation au locus *Clg1*. La lignée cléistogame du cultivar Bienvenu a été retenue pour cette expérimentation. Elle a été comparée dans l'essai 1 au colza mâle-fertile Gaspard et dans l'essai 2 à la forme mâle-stérile de Darmor. Le dispositif expérimental était le même que celui appliqué au colza apétale.

RÉSULTATS

Expérimentation Colza nain

Le nombre de butineuses/1000 fleurs (Tableau 1) n'est pas significativement différent sur colza nain ou colza classique (Essai 1). En revanche, les butineuses sont moins nombreuses sur le colza nain mâle-stérile quand celui-ci est confronté au colza classique (Essai 2). Cependant cette différence n'apparaît pas dans la situation inverse (Essai 3).

Essai	Type nain	Type classique	Différence
1	MF D Bzh = 6,05 ($\pm 0,9$)	MF D = 5,52 ($\pm 0,8$)	NS (p = 0,4651)
2	MS D Bzh = 3,16 ($\pm 0,4$)	MF D = 4,51 ($\pm 0,6$)	S (p = 0,0308)
3	MF D Bzh = 4,16 ($\pm 0,9$)	MS D = 3,92 ($\pm 0,4$)	NS (p = 0,4104)

Tableau 1. Nombre de butineuses/1000 fleurs butinables ($\pm SE$) ; NS = non significatif ; S = significatif.

Table 1. Number of foraging honeybees/1000 available flowers ($\pm SE$), NS = not significant; S = significant.

L'étude des taux de passage (Tableau 2) montre que la seule différence de hauteur (Essai 1) n'a pas d'incidence sur les vols entre les 2 génotypes. Par contre les taux de passage sont réduits d'un tiers lorsque les colzas diffèrent à la fois par leur taille et la fertilité mâle (en moyenne pour les essais 2 et 3 : taux inter = 0,56 versus taux intra = 1,68).

Essai	Intra nain	Intra classique	Inter nain-classique	Différence
1	MF D Bzh = 1,33 a	MF D = 1,42 a	0,94 a	NS (p = 0,2158)
2	MS D Bzh = 1,55 a	MF D = 1,42 a	0,59 a	S (p = 0,0008)
3	MF D Bzh = 1,33 b	MS D = 2,44 a	0,53 c	S (p = 0,0001)

Tableau 2. Taux de passage intra- et inter génotypes. Les valeurs suivies d'une lettre différente diffèrent entre elles au seuil de risque de 5% (test de Newman-Keuls).

Table 2. Passing ratio within and between genotypes. The numbers followed by different letters are significantly different at risk level 5% (Newman-Keuls test).

L'analyse des postures de butinage de nectar montre que, dans 95% des cas, la posture adoptée est la posture surmontante quel que soit le type de colza visité.

Expérimentation Colza apétale

Les fleurs sans pétale sont tout aussi attractives que les fleurs normales. Au cours de certaines observations, date où la densité de butineuses est assez élevée, il arrive même que la densité de butineuse/1000 fleurs soit significativement supérieure sur colza apétale (Tableau 3).

	Colza apétale	Colza classique	Différence
Date 1	1,6 ($\pm 0,1$)	1,8 ($\pm 0,1$)	NS (p = 0,6541)
Date 2	3,2 ($\pm 0,4$)	2,2 ($\pm 0,2$)	S (p = 0,0385)

Tableau 3. Nombre de butineuses/1000 fleurs butinables ($\pm SE$) ; NS = non significatif ; S = significatif.

Table 3. Number of foraging honeybees/1000 available flowers ($\pm SE$), NS = not significant; S = significant

Les données des taux de passage (tableau 4) montrent clairement que les abeilles passent très rarement d'un génotype à l'autre quand ils diffèrent fortement par leur morphologie florale.

Intra Colza classique	Inter apétale-classique	Différence
2,5 ($\pm 0,32$)	0,25 ($\pm 0,04$)	S ($p = 0,0001$)

Tableau 4. Taux de passage intra- et inter génotypes ($\pm SE$).

Table 4. Passing ratio within and between genotype ($\pm SE$).

Les contraintes physiques induites par l'absence de pétale ont pour effet que les abeilles adoptent une posture latérale insérante sur ce type de fleurs dans environ 70% des cas contre 6% sur le colza avec pétale Protax Brutor.

Expérimentation Colza cléistogame

Malgré la fermeture des fleurs, le colza cléistogame présente une attractivité quasi équivalente à celle du colza classique que ce dernier soit mâle-fertile ou non (Tableau 5).

Essai	Colza Cléistogame	Colza classique	Différence
1	MF = 0,97 ($\pm 0,20$)	MF = 1,66 ($\pm 0,30$)	NS ($p = 0,0557$)
2	MF = 0,96 ($\pm 0,18$)	MS = 1,43 ($\pm 0,20$)	NS ($p = 0,0829$)

Tableau 5. Nombre de butineuses/1000 fleurs butinables ($\pm SE$) ; NS = non significatif ; S = significatif.

Table 5. Number of foraging honeybees/1000 available flowers ($\pm SE$), NS = not significant; S = significant

Les taux de passages (tableau 6) entre colza cléistogame et colza classique mâle-fertile ou non sont diminués dans des proportions assez identiques soit de 59 à 62%.

Essai	Intra colza classique	Inter cléistogame-classique	Différence
1	MF = 0,84 ($\pm 0,06$)	0,34 ($\pm 0,04$)	S ($p = 0,0001$)
2	MS = 0,97 ($\pm 0,09$)	0,37 ($\pm 0,04$)	S ($p = 0,0001$)

Tableau 6. Taux de passage intra- et inter génotypes ($\pm SE$).

Table 6. Passing ratio within and between genotypes ($\pm SE$).

En conditions de plein champ, la fermeture de la fleur conduit les abeilles à butiner de manière latérale dans 86% des cas alors qu'elles butinent à 99% de manière surmontante sur les 2 formes de colza classique. Sous cage, la proportion de butinage latéral de nectar n'est que de 43% car le degré de fermeture de la fleur cléistogame est moins grand dans cette situation mais si l'on ne prend en compte que les fleurs les

mieux fermées ce pourcentage passe à 72%. Il faut également signaler qu'en milieu clos les butineuses de pollen tendent à ouvrir les fleurs cléistogame par le sommet, seul moyen pour récolter le pollen. Ceci facilite secondairement l'ouverture par les butineuse de nectar (pour des raisons mécaniques) ou par les butineuses mixtes (par apprentissage). Ce comportement n'est pas observé en plein champ.

DISCUSSION

Le colza Darmor nain (mâle-fertile) ne diffère du colza Darmor classique que par sa taille. En particulier sa production de nectar est relativement élevée (Pierre et coll., 1999) par conséquent sa valeur attractive est équivalente à celle de son homologue. En revanche, Darmor nain sous la forme mâle-stérile est beaucoup moins productif en nectar et sa valeur attractive face à Darmor s'en trouve significativement diminuée. De plus les abeilles présentent sur le colza nain la posture de butinage surmontante qui est très fréquemment observée sur le colza classique et qui permet la charge et décharge en pollen par l'insecte. La différence de hauteur, même lorsqu'elle est relativement importante (80cm), entre deux colzas se trouvant à proximité l'un de l'autre n'est pas un frein en soi au passage des abeilles. En revanche, lorsque l'on se trouve dans un dispositif de production de semences d'hybrides demi-nains faisant alterner des colzas mâles et femelles, l'un étant nain et l'autre non, les taux de passage se trouvent divisés par 3. Ceci est lié à la différence de ressource que représentent les 2 types. Néanmoins, on sait que cette baisse des passages n'est pas suffisante pour compromettre la production de semences hybrides lorsque la bande femelle la plus éloignée se trouve à 19m de la bande mâle, que le mâle soit nain et la femelle haute ou réciproquement (Pierre et Renard, 1999).

Le colza sans pétale est tout aussi attractif pour les abeilles qu'un colza classique, quand sa production en nectar est égale au colza avec pétales auquel il est comparé (Pierre et coll., 1996). Il arrive même qu'il soit plus fréquenté certains jours. La forme de la fleur ne permettant pas aux abeilles de se poser aisément, elles adoptent préférentiellement sur ce colza une posture latérale insérante qui permet moins les échanges de pollen sans toutefois les supprimer totalement (Pierre et Renard, 1997). Le résultat le plus important pour la pollinisation est l'absence quasi totale des passages des individus entre type sans pétale et avec pétales. La fidélité de l'abeille à une espèce florale est un phénomène qui a été décrit depuis longtemps (Free, 1963), elle se manifeste ici au sein d'une même espèce végétale. Il apparaît donc que la morphologie de la fleur et ce qu'elle implique comme acquisition posturale est suffisante pour déterminer la spécialisation individuelle sur l'un des 2 types floraux. Cet aspect du comportement constitue dans ce cas un frein efficace aux transferts de pollen durant l'activité de butinage.

Bien que la fermeture de la fleur soit également une modification importante de la morphologie, elle n'a pas les mêmes incidences que le caractère apétale. La fleur fermée est productive en nectar (Pierre, non publié) et est bien fréquentée par les abeilles. Celles-ci sont obligées de prélever le nectar par les espaces situés à la base des sépales et des pétales ce qui entraîne une spécialisation dans la posture semblable à celle observée sur le colza sans pétale mais à un degré plus élevé (86% des cas contre 70%)

car les contraintes physiques sont plus fortes. Malgré cela, les passages d'un type à l'autre se font de manière beaucoup plus fréquente que dans le cas précédent même s'ils sont réduits de manière notable (60%). Il semblerait que, dans ce cas, la fleur fermée ne soit pas perçue comme étant totalement différente de la fleur classique. On peut émettre 2 hypothèses pour expliquer cette différence. La première est que la fleur fermée correspond à un stade floral normal du colza classique auquel les butineuses sont accoutumées. La seconde, est liée au fait que le caractère cléistogame n'est pas parfaitement stable et qu'une ouverture partielle voire totale de la fleur peut survenir lorsque les conditions climatiques sont défavorables. Bien que les données rapportées ici ne portent que sur des observations faites quand les fleurs cléistogames étaient fermées, il se peut que la variabilité dans l'expression de ce caractère ait conduit les abeilles à moins bien fixer leur choix sur un type floral, la différence entre les 2 types n'étant pas constante. Cependant, du point de vue agronomique, ce type de fleur permet de réduire très fortement la dispersion de pollen à la fois par le vent et les abeilles et permet de favoriser l'autofécondation puisque les butineuses de nectar et surtout de pollen ne tentent pas d'ouvrir la fleur lorsqu'elles butinent librement. Des études avec marqueurs sont en cours pour analyser les croisements entre colza cléistogame et colza classique. La sélection pour une meilleure stabilité du caractère cléistogame se poursuit.

RÉFÉRENCES

- Dueck J., R.A.A. Morall, D.L. McKenzie, 1983. Control of *Sclerotinia sclerotiorum* in rapeseed with fungicides. *Can. J. Plant Pathol.* 5: 289-293.
- Free J.B., 1963. The flower constancy of honeybees. *J. Anim. Ecol.* 32: 119-131.
- Kapoor K.S., C. Lamarque, J. Berrier, 1983. Control of host-parasite relations between *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary and rapeseed. *Proc. 6th International Rapeseed Congress, 1983, Paris, France*, pp. 991-994.
- MacLean D.M., 1958. Role of dead flower parts in infection of certain crucifers by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.). *Plant Dis.* 42: 663-666.
- Mendham N., M.S.S.Rao, G.C.Buzza, 1991. The apetalous flower character as a component of high yielding ideotype. *Proc. 8th International Rapeseed Congress, 1991, Saskatoon, Canada*, pp. 596-600.
- Morall R.A.A., T.K.Turkington, K.A. Kaminski, J.A. Thomson, R.K. Gugel, S.V. Rude, 1991. Forecasting *Sclerotinia* stem rot of spring rapeseed by petal testing. *Proc. 8th International Rapeseed Congress, 1991, Saskatoon, Canada*, pp. 483-488.
- Pierre J., J. Mesquida, R. Marilleau, M.H. Pham-Delègue, M. Renard, 1999. Nectar secretion in winter oilseed rape, *Brassica napus*: quantitative and qualitative variability among 71 genotypes. *Plant Breeding* (accepté).
- Pierre J., J.S. Pierre, R. Marilleau R., M.H. Pham-Delègue, X. Tanguy, M. Renard, 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., M. Renard, 1997. Relation between pollen deposition by honeybees and their loading postures on rapeseed flowers. *Abstracts of 10th International Society for Horticultural Science, Brassica 97, 1997, Rennes, France*, p. 74.

- Pierre J., M. Renard, 1999. Étude de dispositifs en bandes alternées pour la production de semences de colzas hybrides demi-nains en présence d'abeilles. *OCL Ol. Corps gras Li.* (sous presse).
- Rao M.S.S., N.J. Mendham, 1987. The apetalous flower character and its interaction with irrigation. *Proc. 4th Australian Agronomy conference, Australian Society of Agronomy, Melbourne, Australia*, pp. 335.
- Renard M., J. Mesquida, 1987. Significance of nectar secretion for honey bee foraging (*Apis mellifera*) and consequences on pollination in oil seed rape (*Brassica napus*) seed production. *Proc. 7th International Rapeseed Congress, 1987, Poznan, Poland*, pp. 215-221.
- Renard M., R. Delourme, X. Tanguy, P. Barret, J. Pierre, 1999. Plant developmental mutants in rapeseed (*Brassica napus*). Impact on rapeseed breeding and production. *Abstracts of 10th International Rapeseed Congress, 1999, Canberra, Australie*, p. 256.