Faune pollinisatrice, paysage et échelle spatiale des flux de pollen chez brassica napus l. (brassicaceae)

Rémy Chifflet

▶ **To cite this version:**

Rémy Chifflet. Faune pollinisatrice, paysage et échelle spatiale des flux de pollen chez brassica napus l. (brassicaceae). Biologie végétale. Université d'Avignon, 2010. Français. NNT : 2010AVIG0632 . tel-00633180

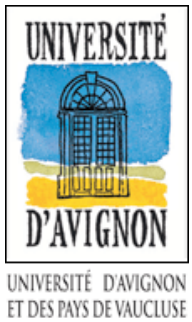
HAL Id: tel-00633180

https://theses.hal.science/tel-00633180

Submitted on 17 Oct 2011

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.



UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE

ÉCOLE DOCTORALE 477 SIBAGHE
"SYSTEMES INTEGRES EN BIOLOGIE, AGRONOMIE, GEOSCIENCES, HYDROSCIENCES, ENVIRONNEMENT" SPECIALITE "SCIENCE AGRONOMIQUE"

THESE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR

FAUNE POLLINISATRICE, PAYSAGE ET ECHELLE SPATIALE DES FLUX DE POLLEN CHEZ *BRASSICA NAPUS* L. (BRASSICACEAE)

PRESENTE PAR
RÉMY CHIFFLET

THESE DIRIGEE PAR
BERNARD VAISSIERE ET MOHAMED EL MAATAOUI

SOUTENANCE : 16 DECEMBRE 2010
DEVANT LE JURY COMPOSE DE

JAMES CRESSWEL	SENIOR LECTURER, UNIVERSITY OF EXETER	RAPPORTEUR
FABIENNE VAN ROSSUM	DOCTEUR, JARDIN BOTANIQUE NATIONAL DE BELGIQUE	RAPPORTEUR
JANE LECOMTE	PROFESSEUR, UNIVERSITE PARIS SUD XI	EXAMINATEUR
BERNARD VAISSIERE	CHARGE DE RECHERCHE, INRA AVIGNON	DIRECTEUR
MOHAMED EL-MAATAOUI	PROFESSEUR, UNIVERSITE D'AVIGNON	DIRECTEUR

Laboratoire de Pollinisation & Ecologie des Abeilles
UMR 406 Abeilles et Environnement

INRA PACA – Domaine Saint-Paul
Site Agroparc
84 914 Avignon Cedex 9

Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse
74 rue Louis Pasteur
84 029 Avignon Cedex 1

RESUME

FAUNE POLLINISATRICE, PAYSAGE ET ECHELLE SPATIALE DES FLUX DE POLLEN CHEZ *BRASSICA NAPUS* L. (BRASSICACEAE)

L'intérêt pour la dispersion des gènes via le pollen a augmenté avec les cultures de plantes génétiquement modifiées. A ce jour, les données expérimentales ainsi que la modélisation sur les mouvements du pollen de colza, *Brassica napus* L., à l'échelle du paysage ne différencient pas la part du vent et des insectes. Cependant, la compréhension et l'estimation de la dispersion des gènes par le pollen reste une condition nécessaire pour gérer les risques d'échappement des (trans-)gènes vers l'environnement et les cultures conventionnelles.

A travers cette thèse, nous avons pu mettre en évidence qu'une grande diversité d'insectes pouvait transporter du pollen viable entre différentes plantes de colza sur des distances importantes (>1.1 km). La diversité des insectes pollinisateurs a varié d'une région à l'autre et d'une année à l'autre. Cependant, bien que la majorité des insectes sur une zone de grande production de colza ait du pollen de cette culture sur leur corps, seulement 39,4 % des insectes capturés sur des plantes mâle-stériles transportaient du pollen de colza viable. Bien que nous n'ayons pas pu déterminer avec précision la part relative du vent et des insectes dans la pollinisation du colza, il semblerait que les insectes participeraient de façon plus importante à la pollinisation des plantes présentes en bordure de champs, augmentant ainsi le taux de pollinisation croisée. Nos résultats fournissent des données empiriques pour comprendre les mécanismes et améliorer les modèles de dispersion du pollen pour les cultures entomophiles à l'échelle du paysage. Ces modèles sont essentiels pour aider à la gestion du territoire afin de réduire la dispersion des gènes par le pollen des cultures génétiquement modifiées vers les plantes sauvages et les cultures conventionnelles.

MOTS CLES: Apiformes, abeilles, *Brassica napus*, colza, Diptera, succès de grenaison, diversité spécifique, taille des insectes, dispersion pollinique, flux de pollen, Hymenoptera, Syrphidae.

SUMMARY

POLLINATOR FAUNA, LANDSCAPE AND SPACIAL SCALE OF POLLEN FLOW OF *BRASSICA NAPUS* L. (BRASSICACEAE)

Interest in pollen-borne gene dispersal has increased with the cultivation of genetically modified (GM) plants. To date both experimental data and models of oilseed rape (OSR) *Brassica napus* pollen movement at the landscape scale do not differentiate between wind- and insect-mediated dispersal. But understanding the mechanisms and estimating the spatial scale of pollen-borne gene dispersal are necessary to manage the risks of (trans-)gene escape towards the environment and fields planted with conventional OSR.

Our study provided clear evidence that a large array of insect species could transfer viable pollen between OSR plants over considerable distances (>1.1 km). Pollinator diversity changed among geographical sites and among years. However, if the majority of pollinator had OSR pollen in their body hairs, only 39.4% of the insects caught on male-sterile OSR flowers carried viable OSR pollen. Although we could not quantify with precision the relative role of the wind and the insects in OSR pollen dispersal, it would seem that insects took part in a more important way in the pollination of plants at the edges of the fields, thus increasing cross pollination rate.

Our results provide valuable data to better understand the mechanisms and improve the modelling of pollen dispersal in entomophilous crops at the landscape scale. These models are essential to help land-managers reduce pollen-borne gene dispersal from genetically modified plants to wild relative and field planted with non-GM crops.

KEY-WORDS: Apiformes, bees, *Brassica napus*, Diptera, seed-set success, specific diversity, oilseed rape, insect size, pollen dispersal, pollen flow, Hymenoptera, Syrphidae

REMERCIEMENTS

Je souhaiterais remercier en tout premier lieu Bernard Vaissière. Merci pour l'opportunité que tu m'as offerte de travailler sur ce projet de thèse dans le cadre de ce programme, ainsi que pour le temps et les moyens accordés durant ces trois ans. J'aimerais aussi remercier l'ensemble des personnes de l'UMR Abeilles et Environnement pour les échanges que nous avons pu avoir pendant ces quelques années et plus particulièrement, Yves pour m'avoir permis de finir ma thèse dans de bonnes conditions et pour ton sens du relationnel, Mohamed et Séverine pour vos conseils pédagogiques et l'ouverture sur le monde de l'enseignement, Laurent G et Claude pour votre dynamisme, votre entrain, les parties de baby et les discussions autour de la photo, de la musique et du sport, Nicolas et Marie-José pour vos discussions passionnées sur l'alimentation et vos soucis du bien-être à la fois physique et psychique, Jean et Jean-Paul pour m'avoir permis de cultiver du colza et pour toutes ces abeilles, Mickaël pour tes discussions paysagères et « caféinées », Corinne pour tes brioches, ta patience face à mes ordres de missions et tes éclats de rires communicatifs, Mercedes pour ta gentillesse, l'ouverture des ruches et ton sens de l'humour, Marianne pour tes sourires, tes conversations passionnées sur les tricots et les laines, ton écoute et enfin à Guy pour les conversations diverses et variées, à l'origine de réflexions et de remises en question, mais toujours passionnantes et à ton tableau noir poussant à l'imagination et la création !

J'adresse également un grand merci à Gabriel pour les nombreuses soirées pizzas, la découverte du monde merveilleux des abeilles et le tournesol (hum…), Nicola pour la découverte du monde de l'économie et pour ta gentillesse, Caroline G. pour toute cette énergie, les carrés de chocolat et les sorties platanes, Alban pour ta façon d'être vrai et ta franchise, Aklesso pour ta sympathie, Benoit pour le déblocage en SIG, Ingrid pour ta force calme et Sophie pour ton incessant discours ainsi que pour votre bonne humeur continuelle à toutes les deux, les graines et le pollen, Laura pour ta bonne humeur et l'apprentissage du portugais *« Com a verdade me enganas »* et ma très chère Chloé sans qui cette aventure n'aurait été que bien plus terne ; merci à toi pour ton écoute et ton soutien dans tous ces moments, pour les rires, la bêtise, la fantaisie et tout le reste et n'oublie pas *« Life is easy ».*

Ma thèse a été financée par l'ANR dans le cadre du projet GMBioImpact, ce qui m'a permis de rencontrer de nombreuses personnalités de la recherche française. Mon attention se tourne

plus particulièrement vers Jane qui m'a permis de découvrir la joie de m'embourber à Selommes tout en mangeant des carambars, et Agnès pour son écoute, sa douceur, ses nombreuses idées et les discussions passionnantes sur les OGM. Merci à vous deux d'avoir été là pendant ces trois ans et de m'avoir permis de tenir bon. Merci à Etienne pour les approches sur la modélisation, ta patience, ton soutien et tes encouragements et sans risque je peux aussi te remercier pour ton humour et ta « dédramatisation » et puis pour tout le reste car ce travail n'aurait pas été le même sans les nombreuses discussions que nous avons pu avoir durant cette aventure. J'avais entendu ton nom pour la première fois au Muséum et j'avoue que j'étais pas mal impressionné lors de nos premières rencontres… Jacques et Françoise pour la découverte des paysages et pour leur bienveillance, Yves pour les conversations sur le pollen, Sébastien pour les approches sur R et la cartographie, Robert et Jean Michel pour la botanique, je me souviendrai définitivement de *Capsella bursa-pastoris*, Claire pour ton aide dans les analyses et les conseils de rédaction, merci également de t'être laissée embarquer de nouveau sur les chemins de la dispersion, Diane pour ses remises en questions perpétuelles qui font relativiser, Gwendal pour son entrain et sa motivation communicative, Aurélie pour les réponses face au traitement des fichiers .txt, .clermont, .fsa… , et enfin je tiens à remercier tout particulièrement Violette qui a connu les mêmes galères de terrain, les joies des présentations et rapports, pour la découverte de cette fabuleuse crêperie et pour sa camaraderie ! J'espère que nous ne perdrons pas contact. Je tiens également à remercier Nathalie, Audrey et Emmanuelle qui m'ont suivi lors de mon M2 et qui m'ont donné le goût de la recherche et du questionnement.

Mes manips à Selommes ont été une réussite d'un point de vue humain et je n'en garderai que le meilleur en mémoire. Nadia, merci, à toi et à ton sens surhumain de l'organisation qui m'a permis de bien débuter la première année. « *Just forrr you my frrriend* » merci pour les rires, l'écoute, l'espoir, les épices et l'amitié! Je tiens à remercier aussi Guillaume pour qui Brassens n'a pas de secret et qui a su apporter la touche d'originalité et de fantaisie qu'il fallait à Selommes. Je n'oublie pas Laurent N. sans qui la dispersion n'aurait pas été possible et qui malgré la fatigue, le froid, les manips de nuit et les imprévus a su garder sa bonne humeur et sa motivation. J'aimerais également remercier l'ensemble des stagiaires que j'ai eu l'occasion de côtoyer à Selommes qui ont participé grâce à leur enthousiasme à rendre ces périodes toujours agréables, donc merci à Elodie P., Sébastien B., Elodie A., Matthieu, Aude, Alienor, Lucie et Gabriel. Dans le bon déroulement de l'aventure Selommes, je n'oublie pas Mr & Mme Bonvalet et Mr & Mme Ciarka qui ont su faire preuve de flexibilité en ce qui concerne le matériel et de chaleur humaine dans les périodes de froid du Loir-et-Cher.

J’aimerais remercier l’ensemble des systématiciens qui ont identifié la diversité des apiformes et des syrphes récoltés dans nos deux sites ateliers : Eric Dufrêne, Jean-Pierre Sarthou, David Genoud, Alain Pauly, Erwin Scheuchl, Thierry Noblecourt et plus particulièrement Robert Fonfria qui m’a accueilli à de nombreuses reprises et qui m’a offert la découverte de la systématique autour d’un verre de Perrier. Mes remerciements vont également à l’équipe de l’unité expérimentale pour la gestion des cultures de colza en serre qui m’ont permis de mettre en place mes manips.

Un grand merci à Isabelle pour la découverte de la microscopie électronique et les joies de passer des heures dans une chambre noire climatisée, pour ta gentillesse, ta sympathie et ta bonne humeur permanente! Merci également à Caroline M. de m’avoir encadré pendant mon monitorat, de m’avoir permis la découverte de l’enseignement à l’Université, de m’avoir impliqué activement dans le déroulement des cours et pour les conversations autour de l’écologie. Un sympathique et sincère merci à tous les moniteurs (et ceux qui ne le sont pas) que j’ai eu l’occasion de rencontrer et de côtoyer, pour les échanges parfois scientifiques, parfois didactiques et souvent légers ; alors merci à Aurélie et Thomas pour votre humour si personnel, Fanny et Fred pour votre gentillesse, Renaud pour l’aventure que tu réveilles (ou éveilles??), Aurore et Capucine pour votre sympathie, Julie pour ton côté directif qu’il est bon d’avoir connu…

Merci également à l’ensemble de mes proches qui ont su faire preuve d’un certain niveau de patience, d’écoute et de compréhension face un manque d’attention à leur égard. Je vous promets de faire mieux, donc merci à Laure, Gaël et Brice (merci pour les canapés et autres couchages pour les passages rapide par chez vous), Audrey, Jean-Paul, Emeline, Vincent, Céline, Adrien, Claire, Aurélie, Damien, Thierry…

Pour terminer, je voudrais adresser un remerciement tout particulier à mes parents et à mon frère qui ont su me soutenir et faire preuve de patience tout au long de mes études. Merci de m’avoir laissé faire ces choix et de m’avoir fait confiance même si ce n’était pas toujours l’évidence même, que les phases d’interrogations et de remises en question ont été là, et que l’avenir n’est pas aussi limpide que vous l’espériez. Enfin, je ne sais pas comment te remercier toi, ma tendre moitié, qui par ta présence et tes mots a su me réconforter et m’épauler dans toutes les périodes de stress et d’angoisse que peuvent comporter une thèse, pour la patience qu’il t’a fallu pour supporter tout ça, merci d’avoir apporté cette touche de douceur et cette envie de continuer, de m’avoir permis de m’aérer l’esprit et d’avoir tourné mon attention sur des points essentiels. *« I can’t take my eyes off of you ».* Pour toutes ces

raisons et pour toutes les autres, je t'adresse du plus profond de moi-même un énorme merci qui me semble insuffisant. Cette thèse est également la tienne.

I THINK A BEE LANDED ON MY BACK! CAN YOU SEE IT? I DONT WANT TO MOVE!
THAT'S NOT A BEE.
IT ISN'T? *WHEW*
NO, THAT'S A HORNET IF I EVER SAW ONE!
OW!
8-5
WATTERSON

TABLE DES MATIERES

RESUME 4

SUMMARY 5

REMERCIEMENTS 6

TABLE DES MATIERES 12

TABLE DES FIGURES 16

TABLE DES TABLEAUX 19

TABLE DES ENCADRES 21

PUBLICATIONS, ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET ENSEIGNEMENTS 23

LEXIQUE 25

INTRODUCTION 27

LE CONTEXTE GENERAL DE LA THESE 29
UN PROJET SUR LES FLUX DE (TRANS-)GENES ET LEUR IMPACT SUR LA BIODIVERSITE 31
LES OBJECTIFS DE LA THESE 32

CONTEXTE SCIENTIFIQUE 35

1. LES FLUX DE GENES 36
1.1. L'autopollinisation 37
1.2. La pollinisation par des vecteurs abiotiques 37
1.3. La pollinisation par des vecteurs biotiques 38
1.4. Le cas de la pollinisation entomophile 40
2. LES INSECTES POLLINISATEURS 42
2.1. Les coléoptères 42
2.2. Les lépidoptères 42
2.3. Les abeilles, actrices principales de la pollinisation 43
2.3.1. Systématique *43*
2.3.2. Régime alimentaire *46*
2.3.3. Comportement de butinage *47*
2.3.4. Distance de vol *49*
2.4. Les syrphes 50
2.5. Réponse à l'environnement 52
3. LA DISPERSION POLLINIQUE DANS UN CONTEXTE AGRICOLE 55
3.1. Des méthodes pour capter le pollen 55
3.2. Des analyses génétiques pour comprendre les flux de gènes 56
3.2.1. Des analyses basées sur les graines *57*
3.2.2. Les microsatelittes pour décrire les gènes *58*
3.3. La modélisation de la dispersion pollinique 59

4. LES ORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES: HISTOIRE, CONSEQUENCES ET GESTION 60
4.1. Le début des plantes génétiquement modifiées (PGM) 60
4.2. Les conséquences et la gestion suite à la mise en cultures de PGM 62
4.2.1. La mise en culture de PGM comporte-t-elle des risques ? *62*
4.2.2. La présence fortuite de matériel transgénique dans les filières agricoles *66*
4.2.3. La coexistence des filières *67*
4.2.4. Des mesures d'isolement spatial et temporel *68*
4.2.5. Une autre utilisation des PGM *69*
5. LE CAS DU COLZA (*BRASSICA NAPUS*, BRASSICACEAE) 72
5.1. Présentation de l'espèce 72
5.2. La dispersion des gènes chez le colza 76
5.3. La modèlisation de la dispersion pollinique 77
5.4. Les insectes et le colza 79
5.5. Les problèmes liés à la mise en culture 80
5.6. Une coexistence difficile due aux pratiques agricoles 81

MATERIELS ET METHODES 85

1. DEUX SITES D'ETUDES AUX PAYSAGES CONTRASTES 87
1.1. Le site de Selommes : un paysage openfield 87
1.1.1. Historique *87*
1.1.2. Caractéristiques *87*
1.2. Le site atelier de Pleine-Fougères : un paysage bocager 90
1.3. Un travail complémentaire dans le cadre de GMBioImpact 92
2. DESCRIPTION DE LA FAUNE FLORICOLE ET POLLINISATRICE DU COLZA 93
2.1. Diversité et abondances des insectes floricoles du colza 93
2.1.1. Deux années, deux méthodes *93*
2.1.1.1. Un parcours standardisé en 2007 ..... *93*
2.1.1.2. Un nombre défini de coup de filet en 2008 ..... *95*
2.1.2. Éléments communs aux deux années *96*
2.1.3. Analyses statistiques *97*
2.2. Composition des charges polliniques 97
2.2.1. Un échantillonnage des insectes sur des bords de champ non colza *98*
2.2.2. Extraction de la charge pollinique *99*
2.2.3. Un échantillonnage du pollen des plantes en fleurs sur les sites d'étude *102*
3. LES FLUX DE GENES VIA LE POLLEN 104
3.1. Des tests préliminaires pour la conservation et le maintien de la viabilité du pollen 105
3.1.1. Une méthode d'euthanasie des insectes *106*
3.1.2. Une méthode de pollinisation *107*
3.2. Estimations des flux de pollen dus aux insectes à l'echelle d'un paysage agricole 107
3.2.1. Une méthode originale ciblée sur le vecteur « insecte » *107*
3.2.2. Analyses statistiques *109*
3.3. Transport, composition et structure des nuages polliniques 110
3.3.1. Part de chaque vecteur dans la production de graines *110*
3.3.1.1. L'utilisation de tulle pour estimer le rôle des vecteurs *110*
3.3.1.2. Analyses statistiques pour estimer le rôle des vecteurs dans le transport du pollen *111*
3.3.1. Détermination de la composition et de la diversité génétique des nuages polliniques *112*
3.3.1.1. Un échantillonnage obligatoire des graines *112*
3.3.1.2. Utilisation de marqueurs microsatellites et caractérisation des graines *113*
3.3.1.3. Analyse de la structure génétique des populations *114*
3.3.1.4. Diversité génétique des populations *115*
3.3.1.5. Estimations de la part du vent dans le transport du nuage pollinique total *118*

PARTIE 1: DESCRIPTION DE LA FAUNE FLORICOLE ET POLLINISATRICE DU COLZA 120

1. DIVERSITE ET ABONDANCES DES INSECTES FLORICOLES DU COLZA 122
1.1. Descriptions des communautés d'insectes 122
1.1.1. Description des captures d'abeilles 123
1.1.1.1. La richesse spécifique 123
1.1.1.2. L'abondance 124
1.1.1.3. Composition des communautés d'abeilles 125
1.1.2. Description des captures de syrphes 129
1.1.2.1. La richesse spécifique 129
1.1.2.2. L'abondance 130
1.1.2.3. Composition des communautés de syrphes 131
1.1.3. Estimation de l'activité pollinisatrice des champs en 2008 133
1.2. Discussion 135
1.2.1. Les abeilles 135
1.2.2. Les syrphes 136
2. COMPOSITION DES CHARGES POLLINIQUES 139
2.1. Création d'une collection de photographies de pollen 139
2.2. Analyses des charges en pollen 143
2.3. Discussion 146

PARTIE 2 : LES FLUX DE GENES VIA LE POLLEN 148

1. TESTS PRELIMINAIRES : CONSERVATION ET MAINTIEN DE LA VIABILITE DU POLLEN 150
1.1. Une euthanasie par CO_2 et à basse température 150
1.2. Des pollinisations manuelles 151
1.3. Des résultats indispensables 152
2. ESTIMATIONS DES FLUX DE POLLEN DUS AUX INSECTES A L'ECHELLE D'UN PAYSAGE AGRICOLE INTENSIF 153
2.1. L'environnement durant l'expérimentation 153
2.2. Les insectes ayant visité les fleurs de colza 154
2.3. La montée en graines suite aux pollinisations manuelles 158
2.4. Modélisation de la dispersion pollinique par les insectes 161
2.5. Discussion 163
3. PART DE CHAQUE VECTEUR DE POLLEN DANS LA PRODUCTION DE GRAINES 166
3.1. La production de graines 166
3.2. L'effet du traitement et de la distance 167
3.3. Discussion 169
4. DIVERSITE ET STRUCTURE GENETIQUE DES NUAGES POLLINIQUES 174
4.1. Structure génétique 174
4.1.1. Différenciation inter-distance 174
4.1.2. Différenciation inter-individu 175
4.1.3. Différenciation inter-traitement 176
4.2. Diversité génétique au sein des sous-populations 177
4.3. Part du vent dans la dispersion pollinique 180
4.4. Discussion 181

PARTIE 3 : LE MODELE *SSS* APPLIQUE AUX COMMUNAUTES D'INSECTES 185

1. UNE APPROCHE DE LA DISPERSION BASEE SUR LES COMMUNAUTES D'INSECTES 186
1.1. Matériels et Méthodes 186
1.1.1. Caractérisation de la diversité et de l'abondance des tailles d'insectes 187
1.1.2. Caractérisation de la température pour chaque site 187
1.1.3. Application au modèle SSS 187
1.2. Résultats 188

1.2.1. Caractérisation de la diversité et de l'abondance des tailles d'insectes 188
1.2.2. Caractérisation de la température pour chaque site 192
1.2.3. Application du modèle SSS 193
1.3. Discussion 195

DISCUSSION GENERALE & PERSPECTIVES 199

UNE DIVERSITE DES POLLINISATEURS DU COLZA A PRENDRE EN COMPTE? 201
UNE DISPERSION DU POLLEN DE COLZA A LONGUE DISTANCE PAR LES INSECTES POLLINISATEURS ? 206
UN VECTEUR DE POLLEN MAJORITAIRE ? 209
QUELQUES PISTES POUR LA CO-EXISTENCE DES FILIERES AGRICOLES GM ET NON-GM 211
L'ETUDE DE LA DISPERSION DU POLLEN PAR LES INSECTES SE POURSUIT 212

BIBLIOGRAPHIE 215

ANNEXE 1 : CARTOGRAPHIE DU SITE DE SELOMMES 232

ANNEXE 2 : CARTOGRAPHIE DU SITE DE PLEINE-FOUGERES 237

ANNEXE 3 : SPATIAL SCALE OF INSECT-MEDIATED POLLEN DISPERSAL IN OILSEED RAPE IN AN OPEN AGRICULTURAL LANDSCAPE 241

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1. MORPHOLOGIES DES GRAINS DE POLLEN EXAMINES PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE DE PLANTES ANEMOPHILES. A : *SORGHUM BICOLOR* ; B : *PINUS SP.* AVEC SES DEUX BALLONNETS ; ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2007 _____ 38

FIGURE 2. MORPHOLOGIES DES GRAINS DE POLLEN EXAMINES PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE DE PLANTES ENTOMOPHILES. A : *BRASSICA NAPUS*; B : *PRIMULA VERIS.* ; C : *HELIANTHUS SP.*; D : *SILENE DIOIA* ; ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2008 _____ 39

FIGURE 3. REPRESENTANTS DES DIFFERENTES FAMILLES D'APOIDES EN FRANCE. AVEC DE GAUCHE A DROITE ET DE HAUT EN BAS : *COLLETES* SP. (COLLETIDAE), *ANDRENA* SP. (ANDRENIDAE), *HALICTUS SCABIOSAE* (HALICTIDAE), *DASYPODA HIRTIPES* (MELITTIDAE), *MEGACHILE* SP. (MEGACHILIDAE) ET QUATRES REPRESENTANT DES APIDAE : *XYLOCOPA VIOLACEA*, *EPEODUS* SP. (ABEILLE PARASITE), *EUCERA* SP., ET *BOMBUS* SP. (© H. MOURET, ARTHROPOLOGIA) ____ 43

FIGURE 4. LES DIFFERENTES VOIES POSSIBLES POUR LA PRESENCE FORTUITE DE MATERIEL GM DANS LES CULTURES NON-GM. (A) ÉTAPES DURANT LESQUELLES IL PEUT Y AVOIR UN MELANGE ACCIDENTEL ENTRE LES CULTURES GM ET NON-GM DANS UNE FERME ; (B) FERME OU LES MESURES DE COEXISTENCE, POUR ASSURER LA PURETE DES CULTURES DURANT LA PRODUCTION, SONT APPLIQUEES (D'APRES RAMESSAR *ET AL.* 2010). _____ 67

FIGURE 5. ILLUSTRATION DES DIFFÉRENTS ÉLÉMENTS D'UN PLANT DE COLZA SELON FR. EUGEN KÖHLER. _____ 73

FIGURE 6. STADES DU CYCLE DE DEVELOPPEMENT DU COLZA D'HIVER REPERTORIES PAR LE CETIOM (CENTRE D'ÉTUDE TECHNIQUE INTERPROFESSIONNEL DES OLEAGINEUX METROPOLITAINS). B ET C : DEVELOPPEMENT VEGETATIF, D : DEVELOPPEMENT DES BOUTONS FLORAUX, F1 : DEBUT DE FLORAISON, G1 : DEBUT DE FRUCTIFICATION, G4 : ALLONGEMENT ET BOSSELLEMENT DES FRUITS. _____ 75

FIGURE 7. ESTIMATION DE LA PROBABILITE DE DISPERSION POLLINIQUE SELON DIFFERENTS MODELES D'APRES DEVAUX *ET AL.* 2005. _____ 78

FIGURE 8 : SITUATION GEOGRAPHIQUE ET PHOTOGRAPHIE AERIENNE DU SITE DE PAYSAGE DE TYPE OPENFIELD DE SELOMMES _____ 88

FIGURE 9. CARTOGRAPHIE DU SITE DE SELOMMES EN 2007 AYANT LA CARACTERISTIQUE D'ETRE UN OPENFIELD. _____ 89

FIGURE 10 : SITUATION GEOGRAPHIQUE ET PHOTOGRAPHIE AERIENNE DU SITE DE PAYSAGE DE TYPE BOCAGER DE PLEINE-FOUGERES _____ 90

FIGURE 11. CARTOGRAPHIE DES SITES DE PLEINE-FOUGERES NORD ET DE PLEINE-FOUGERES SUD EN 2007. LES DEUX SITES SONT CARACTERISES PAR UN PAYSAGE BOCAGER AVEC UNE SURFACE EN COLZA PEU IMPORTANTE. _____ 91

FIGURE 12. PHOTOGRAPHIE ILLUSTRANT UNE CAPTURE ACTIVE AU FILET SUR UN CHAMP DE COLZA. _____ 94

FIGURE 13. DISPOSITIF D'ECHANTILLONNAGE DE LA DIVERSITE DE LA FAUNE FLORICOLE SUR LE BORD D'UN CHAMP DE COLZA _____ 95

FIGURE 14. DISPOSITIF D'ECHANTILLONNAGE DE LA FAUNE FLORICOLE SUR LES BORDS DES CHAMPS. LES CAPTURES DES INSECTES ONT ETE REALISEES UNIQUEMENT SUR LES FLEURS DE COLZA. _____ 96

FIGURE 15. DISPOSITIF D'ECHANTILLONNAGE DE LA DIVERSITE DE LA FAUNE POLLINISATRICE DANS UNE BORDURE DE CHAMP AUTRE QUE DU COLZA _____ 98

FIGURE 16. PHOTOGRAPHIES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE D'UNE PELOTE DE POLLEN SUR *APIS MELLIFERA*. (A) PELOTE DE POLLEN SITUEE SUR LA PATTE POSTERIEURE CONTENANT PLUSIEURS MILLIERS DE GRAINS DE POLLEN. (B) DETAIL DE LA PELOTE : LES GRAINS DE POLLEN SONT AGGLUTINES ENTRE EUX PAR LA SALIVE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE. ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2007. _____ 100

FIGURE 17. PARCOURS PREDEFINI POUR L'OBSERVATION DE LA CHARGE POLLINIQUE D'INSECTES AU MEB. _____ 102

FIGURE 18. A : MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE A BALAYAGE PHILIPS XL 30 ET MONITEUR D'OBSERVATION ; B : MISE EN PLACE D'UN PLOT METALLIQUE SUR LEQUEL SE TROUVE UN ECHANTILLON METALLISE DANS LA CHAMBRE DU MEB. _____ 103

FIGURE 19. REPARTITION DES CHAMPS DE COLZA D'HIVER DANS LA ZONE D'ETUDE DE 10 X 10 KM ET DES POPULATIONS FERALES LE LONG DES VOIES D'ACCES (ROUTES GOUDRONNEES ET CHEMINS DE TERRE) EN 2008. LES SIX POINTS D'ECHANTILLONNAGE ONT ETE CHOISIS SELON UNE ECHELLE EXPONENTIELLE DE DISTANCES CROISSANTES PAR RAPPORT AU CHAMP LE PLUS PROCHE. _____ 105

FIGURE 20. PHOTOGRAPHIE DE GRAINS DE POLLEN DE MELON *CUCUMIS MELO* OBSERVES LORS DE LA REACTION FLUORO-CHROMATIQUE (FCR) EN MICROSCOPIE OPTIQUE A EPIFLUORESCENCE. LES GRAINS DE POLLEN A ET B SONT CONSIDERES COMME VIABLES CONTRAIREMENT AU GRAIN C OU SEULE LA FLUORESCENCE NATURELLE DE L'EXINE EST VISIBLE. ©C.DIBOS –INRA, AVIGNON-2008. _____ 107

FIGURE 21. PHOTOGRAPHIE D'UNE POLLINISATION MANUELLE PAR FROTTEMENT DIRECT DE L'INSECTE CONTRE LE STIGMATE DE LA FLEUR _____ 109
FIGURE 22. PHOTOGRAPHIE D'UNE HAMPE FLORALE DE COLZA SOUS TULLE POUR MESURER LE VECTEUR VENT._____ 111
FIGURE 23. ILLUSTRATION DU MODELE D'ADMIXTURE. LES DEUX POPULATIONS PARENTALES (1 ET 2), SE DIFFERENCIENT DE L'ANCETRE COMMUN DURANT UNE PERIODE D'UN TEMPS *T*, ET S'HYBRIDENT POUR PRODUIRE UNE POPULATION HYBRIDE H, AVEC UNE PROPORTION μ DES ALLELES DE LA POPULATION 1 ET $1-\mu$ DE LA POPULATION 2. CES POPULATIONS DIVERGENT ET SE DISTINGUENT LES UNES DES AUTRES AU COURS D'UN TEMPS *T* SANS PARTICIPATION DE PHENOMENE DE MIGRATION._____ 118
FIGURE 24. RICHESSE SPECIFIQUE MOYENNE D'ABEILLES PAR BORD DE Cchamp DANS CHAQUE SITE EN 2007 (A) ET 2008 (B). PF: PLEINE-FOUGERES, S: SUD, N: NORD, SEL: SELOMMES _____ 123
FIGURE 25. ABONDANCE MOYENNE D'ABEILLES PAR BORD DE CHAMP DANS CHAQUE SITE EN 2007 (A) ET 2008 (B). PF: PLEINE-FOUGERES, S: SUD, N: NORD, SEL: SELOMMES. L'ECHELLE DES DEUX ORDONNEES N'EST PAS LA MEME__ 124
FIGURE 26. DIAGRAMME RANG-ESPECES DES ABEILLES DE CHAQUE SITE EN 2007, BASE SUR LE NOMBRE D'INDIVIDU PAR ESPECE. DANS L'ENCADRE, LA PROPORTION DES CINQ ESPECES LES PLUS ABONDANTES PARMI LES ABEILLES EST DONNEE POUR CHAQUE SITE _____ 127
FIGURE 27. DIAGRAMME RANG-ESPECES DES ABEILLES DE CHAQUE SITE EN 2008. DANS L'ENCADRE, LA PROPORTION DES CINQ ESPECES LES PLUS ABONDANTES PARMI LES ABEILLES EST DONNEE POUR CHAQUE SITE_____ 128
FIGURE 28. RICHESSE SPECIFIQUE MOYENNE DE SYRPHES PAR BORD DE CHAMP DANS CHAQUE SITE EN 2007 (A) ET 2008 (B). PF: PLEINE-FOUGERES, S: SUD, N: NORD, SEL: SELOMMES _____ 129
FIGURE 29. ABONDANCE MOYENNE DE SYRPHES PAR BORDURE DANS CHAQUE SITE EN 2007 (A) ET 2008 (B). PF: PLEINE-FOUGERES, S: SUD, N: NORD, SEL: SELOMMES _____ 130
FIGURE 30. DIAGRAMME RANG-ESPECES DES SYRPHES DE CHAQUE SITE EN 2007. DANS L'ENCADRE, LA PROPORTION DES CINQ ESPECES LES PLUS ABONDANTES PARMI LES SYRPHES EST DONNEE POUR CHAQUE SITE._____ 132
FIGURE 31. DIAGRAMME RANG-ESPECES DES SYRPHES DE CHAQUE SITE EN 2008. DANS L'ENCADRE, LA PROPORTION DES CINQ ESPECES LES PLUS ABONDANTES PARMI LES SYRPHES EST DONNEE POUR CHAQUE SITE._____ 133
FIGURE 32. CORRELATION ENTRE LE NOMBRE D'INDIVIDU CAPTURES PAR ESPECES ET LE NOMBRE DE CHAMPS OU CETTE ESPECE EST PRESENTE. SUR LES DEUX SITES UNE FORTE CORRELATION EST OBSERVEE. _____ 134
FIGURE 33. PHOTOGRAPHIES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE DU POLLEN DE QUELQUES PLANTES EN FLEURS DURANT LES CAPTURES D'INSECTES PENDANT LA FLORAISON DU COLZA A SELOMMES EN 2007. A : *ANTHRICUS SYLVESTRIS* – APIACEAE. B : *PRIMULA VULGARIS* – PRIMULACEAE. C : *VIOLA CANINA* – VIOLACEAE. D : *VERONICA PERSICA* – PLANTAGINACEAE. E : *SHERARDIA ARVENSIS* – RUBIACEAE. F : *RANUNCULUS REPENS* – RANUNCULACEAE. G : *ELAEAGNUS* SP. – ELAEAGNACEAE. H : *FUMARIA MURALIS* – PAPAVERACEAE. I : *SILENE LATIFOLIA* – CARYOPHYLLACEAE. J : *GERANIUM MOLLE* – GERANIACEAE. K : *ERODIUM CICUTARIUM* – GERANIACEAE. L : *BELLIS PERENNIS* – ASTERACEAE. M : *STELLARIA HOLOSTEA* – CARYOPHYLLACEAE. N : *SYMPHYTUM OFFICINALE* – BORAGINACEAE. O : *SINAPIS ARVENSIS* – BRASSICACEAE. ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2008 _____ 140
FIGURE 34. PHOTOGRAPHIES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB) DE POLLENS DE BRASSICACEAE. A : *BRASSICA NAPUS*. B : *RAPHANUS RAPHANISTRUM.* C : *SINAPIS ARVENSIS.* D : *ARABIDOPSIS THALIANA.* E : *CAPSELLA BURSA-PASTORIS.* F : *CARDAMINE* SP. G : *MORICANDIA ARVENSIS.* H : *ALLIARIA PETIOLATA.* I : *BRASSICA NAPUS.* ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2007_____ 141
FIGURE 35. PHOTOGRAPHIE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE DE GRAINS DE POLLEN DE COLZA – *BRASSICA NAPUS* – PROVENANT DE DIFFERENTES PARCELLES (ET DONC POTENTIELLEMENT DE DIFFERENTES VARIETES) CULTIVEES DANS LA ZONE DE SELOMMES EN 2007._____ 142
FIGURE 36. PHOTOGRAPHIE D'UN AMAS DE POLLEN DE BRASSICACEAE. ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2009._____ 143
FIGURE 37. PHOTOGRAPHIES EN MEB DE CHARGES POLLINIQUES D'INSECTES DONT L'IDENTIFICATION ETAIT RENDUE DIFFICILE PAR LA PRESENCE DE DECHETS. (A) PRESENCE DE NOMBREUX ELEMENTS NON IDENTIFIES. (B) GRAINS DE POLLEN AGGLOMERES. ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2009._____ 145
FIGURE 38. PHOTOGRAPHIE D'UNE CHARGE POLLINIQUE MIXTE, C'EST-A-DIRE COMPOSEE DE PLUSIEURS TYPES POLLINIQUES. ICI BRASSICACEAE, ROSACEAE ET FABACEAE. ©CHIFFLET & BORNARD - INRA 2009. _____ 146
FIGURE 39. VIABILITE DU POLLEN PRESENT SUR LE CORPS D'ABEILLES DOMESTIQUES CAPTUREES EN SERRE ET ANESTHESIEES SELON DEUX TRAITEMENTS (I) PAR L'UTILISATION D'UNE BOITE A POISON CONTENANT DU CYANURE (II) PAR EXPOSITION A DU CO_2 EMIS PAR DE LA CARBOGLACE. _____ 151
FIGURE 40. ÉVOLUTION DU NIVEAU DE FLORAISON MOYEN (LIGNE HACHUREE) DES CHAMPS DE COLZA (BASE SUR 384 PLANTES) ET DE LA TEMPERATURE JOURNALIERE MOYENNE (LIGNE PLEINE) DURANT LA PERIODE D'EXPERIMENTATION EN 2008._____ 154
FIGURE 41. EFFET DE LA DISTANCE AU CHAMP DE COLZA LE PLUS PROCHE SUR SUCCES DE GRENAISON DU AUX INSECTES BUTINANT LES PLANTES MALE-STERILES. LE NOMBRE AU DESSUS DE CHAQUE COLONNE INDIQUE LE NOMBRE D'INSECTES CAPTURES A CHAQUE POINT. _____ 159
FIGURE 42. EVOLUTION DU SUCCES DE GRENAISON (PROPORTION D'INSECTES AYANT DONNE AU MOINS UNE GRAINE) A PARTIR DES POLLINISATIONS MANUELLES FAITES AVEC LES INSECTES CAPTURES EN TRAIN DE BUTINER SUR LES

fleurs des plantes male-steriles durant la periode d'experimentation en 2008. Le nombre au-dessus de chaque colonne indique le nombre d'insectes captures a chaque point d'echantillonnage. _____ 160
Figure 43. Probabilite de succes de grenaison en relation avec la distance au champ de colza le plus proche, la taille de l'insecte mesuree par la distance inter-tegullaire (DIT, temperature moyenne = 11,2 °C) et les 5 temperatures journalieres moyenne (DIT moyen = 2,7 mm) durant lesquelles les insectes butineurs ont ete attrapes. Chaque point represente un insecte capture lors du butinage d'une fleur male-sterile. _____ 162
Figure 44. Repartition du nombre de graines par plante (moyenne ± ES) en fonction du traitement de pollinisation (pollinisation sous tulle et pollinisation libre) et de la distance au champ de colza le plus proche. _____ 166
Figure 45. Nombre de graines par plante (moyenne ± ES) en fonction de la distance au champs le proche et du traitement de pollinisation. _____ 168
Figure 46. Estimation de la diversite genetique moyenne selon l'indice diversite genetique H_E de Nei (Nei 1973). _____ 180
Figure 47. Proportion des graines issues de pollinisation (± ES) par le vent pour chaque distance echantillonnee. _____ 181
Figure 48 : Frequence des categories de taille pour le site de Pleine-Fougeres (PF) Nord (PFN) et Sud (PFS) et le site de Selommes (SEL) pour les deux annees de releves de la diversite des insectes floricoles du colza. _____ 191
Figure 49. Variation de la temperature journaliere moyenne (°C) sur le site de Selommes (SEL) et de Pleine-Fougeres en 2007 et 2008. _____ 192
Figure 50.Probabilite de succes de grenaison (*SSS*) en relation avec la distance au champ de colza le plus proche et en fonction de la taille des communautes d'insectes floricoles capturees sur les champs de colza pour les sites de Pleine-Fougere (PF) Nord (PFN) et Sud (PFS) et le site de Selommes (SEL) en 2007 et 2008, pour une temperature moyenne de 16°C. _____ 193
Figure 51. Probabilite de succes de grenaison (*SSS*) en relation avec la distance au champ de colza le plus proche pour les sites de Pleine-Fougere (PF) et de Selommes (SEL) en 2007 et 2008 et en fonction des variations de temperatures journalieres, pour une DIT moyenne de la communaute de 3,35 mm ___ 194
Figure 52. Probabilite de succes de grenaison (*SSS*) en relation avec la distance au champ de colza le plus proche pour les sites de Pleine-Fougere (PF) et de Selommes (SEL) en 2007 et 2008 et en fonction des variations de temperatures journalieres, pour une DIT moyenne de la communaute par site. _____ 195
Figure 53. Occupation du sol sur le site de Selommes en 2007. _____ 234
Figure 54. Occupation du sol sur le site de Selommes en 2008. _____ 235
Figure 55. Occupation du sol sur le site de Pleine-Fougeres en 2007. _____ 239

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU 1. DESCRIPTIF DES QUATRE AXES DE RECHERCHE DU PROGRAMME GMBIOIMPACT. 34
TABLEAU 2 : CLASSIFICATION DES ABEILLES D'APRES MICHENER (2000) 45
TABLEAU 3. COMPARAISON DES DIFFERENTS SYSTEMES DE PRODUCTION DE PROTEINES RECOMBINANTES (D'APRES RERAT 2003). 71
TABLEAU 4. NOMBRE DE GRAINES PRODUITES PAR LES PLANTES PLACEES DURANT TOUTE LA PERIODE DE FLORAISON DES CHAMPS PAR DISTANCE ET PAR TRAITEMENT DE POLLINISATION LORS DES EXPERIMENTATIONS A SELOMMES EN 2008. 113
TABLEAU 5. MARQUEURS MICROSATELLITES UTILISES POUR LE GENOTYPAGE ET TAILLE DES ALLELES EN PAIRE DE BASE (PB) DANS LES VARIETES CULTIVEES ET DANS LA VARIETE MALE-STERILE YUDAL (* ALLELES DU GENOTYPE DE LA VARIETE YUDAL) 114
TABLEAU 6. RICHESSE SPECIFIQUE DES ABEILLES DANS LES TROIS SITES D'ETUDE EN 2007 ET 2008. EN 2007, LES ABEILLES ONT ETE CAPTUREES AU FILET, SUR 10 BORDS DE CHAMPS DE COLZA DANS CHAQUE SITE LORS D'UN TRANSECT DE 20 MIN. EN 2008, LES ABEILLES ONT ETE CAPTUREES SUR 32 BORDURES DE 16 CHAMPS. AFIN D'OBTENIR LE NOMBRE DE CHAMPS NECESSAIRE LES SITES PFS ET PFN ONT ETE REGROUPE EN UN SITE PF. LES MOYENNES SONT INDIQUEES AVEC LEUR ERREUR STANDARD. 124
TABLEAU 7. ABONDANCE DES ABEILLES DANS LES TROIS SITES D'ETUDE EN 2007 ET 2008. EN 2007, LES ABEILLES ONT ETE CAPTUREES AU FILET, SUR 10 BORDURES DE CHAMPS DE COLZA DANS CHAQUE SITE LORS D'UN TRANSECT DE 20 MIN. EN 2008, LES ABEILLES ONT ETE CAPTUREES SUR 32 BORDS DE 16 CHAMPS. AFIN D'OBTENIR LE NOMBRE DE CHAMPS NECESSAIRE LES SITES PFS ET PFN ONT ETE REGROUPE EN UN SITE PF. LES MOYENNES SONT INDIQUEES AVEC LEUR ERREUR STANDARD. 125
TABLEAU 8. EFFECTIFS D'ABEILLES CAPTUREES EN TRAIN DE VISITER DES FLEURS DE COLZA SUR LE SITE DE PF ET SUR LE SITE DE SEL EN 2007 ET 2008 126
TABLEAU 9. RICHESSE SPECIFIQUE DES SYRPHES DANS LES TROIS SITES D'ETUDE EN 2007 ET 2008. EN 2007, LES SYRPHES ONT ETE CAPTURES AU FILET, SUR 10 BORDS DE CHAMPS DE COLZA DANS CHAQUE SITE LORS D'UN TRANSECT DE 20 MIN. EN 2008, LES SYRPHES ONT ETE CAPTURES SUR 32 BORDS DE 16 CHAMPS. AFIN D'OBTENIR LE NOMBRE DE CHAMPS NECESSAIRE LES SITES PFS ET PFN ONT ETE REGROUPE EN UN SITE PF. LES MOYENNES SONT INDIQUEES AVEC LEUR ERREUR STANDARD. 129
TABLEAU 10. ABONDANCE DES SYRPHES DANS LES TROIS SITES D'ETUDE EN 2007 ET 2008. EN 2007, LES SYRPHES ONT ETE CAPTURES AU FILET, SUR 10 BORDS DE CHAMPS DE COLZA DANS CHAQUE SITE LORS D'UN TRANSECT DE 20MIN. EN 2008, LES SYRPHES ONT ETE CAPTURES SUR 32 BORDS DE 16 CHAMPS. AFIN D'OBTENIR LE NOMBRE DE CHAMPS NECESSAIRE LES SITES PFS ET PFN ONT ETE REGROUPE EN UN SITE PF. LES MOYENNES SONT INDIQUEES AVEC LEUR ERREUR STANDARD. 130
TABLEAU 11. EFFECTIFS DE SYRPHES CAPTURES EN TRAIN DE VISITER DES FLEURS DE COLZA SUR LE SITE PF ET SUR LE SITE DE SEL EN 2007 ET 2008 131
TABLEAU 12. LISTE DES INSECTES ET PROPORTIONS DES POLLENS DES DIFFERENTES FAMILLES DE PLANTES OBSERVES EN MEB 144
TABLEAU 13: SUCCES DE GRENAISON ET NOMBRE DE GRAINES PRODUITES PAR LES 71 INSECTES CAPTURES SUR LES FLEURS MALE-STERILES DE COLZA. POUR CHAQUE ESPECE ET CHAQUE POINT D'ECHANTILLONNAGE, NOUS FOURNISSONS : (LIGNE SUPERIEURE) LE NOMBRE D'INDIVIDUS QUI ONT PRODUIT DES GRAINES / LE NOMBRE TOTAL D'INDIVIDUS CAPTURES, (LIGNE DU BAS) LE NOMBRE MOYEN DE FRUIT PAR INDIVIDU [LE NOMBRE MOYEN DE GRAINE PAR INDIVIDU]. LA DISTANCE INTER-TEGULLAIRES (DIT) FOURNIT UNE MESURE DE REFERENCE POUR LA TAILLE DE L'INSECTE. 156
TABLEAU 14. EFFET DE LA DISTANCE AU CHAMP DE COLZA LE PLUS PROCHE, DE LA DISTANCE INTER-TEGULAIRE (DIT) ET DE LA TEMPERATURE JOURNALIERE MOYENNE SUR LA PROBABILITE DE SUCCES DE GRENAISON. NOUS FOURNISSONS LES RESULTATS DU MODELE LOGISTIQUE INCLUANT CES TROIS COVARIABLES QUANTITATIVES ANALYSEES EN APPROCHE DE TYPE III AVEC UN TEST DE RAPPORT DE VRAISEMBLANCE. 161
TABLEAU 15. ANALYSE DES FACTEURS INFLUÇANT LA VARIATION DU NOMBRE DE GRAINES PAR PLANTE RECOLTE LORS DE L'ESSAI SUR LE ROLE DES VECTEURS DE POLLEN DANS LE TERRITOIRE DE SELOMMES EN 2008. 167
TABLEAU 16. ANALYSE DES DIFFERENCES ENTRE LES MODALITES DE LA VARIABLE « DISTANCE AU CHAMP DE COLZA LE PLUS PROCHE », SELON UN TEST DE TUKEY (HSD) ET AVEC UN INTERVALLE DE CONFIANCE A 95%. 168

TABLEAU 17. VALEURS DE Φ_{FT} PAR PAIRE DE SOUS-POPULATIONS ECHANTILLONNEES AUX DIFFERENTES DISTANCES, TOUS TRAITEMENTS DE POLLINISATION CONFONDUS. TOUTES LES VALEURS SONT HAUTEMENT SIGNIFICATIVES AU SEUIL DE 5 %. 175
TABLEAU 18. ESTIMATION DES VALEURS DE Φ_{FT} ENTRE LES GRAINES ECHANTILLONNEES SUR DIFFERENTS INDIVIDUS D'UN SITE DONNE (EN FONCTION DE LA DISTANCE). LES VALEURS EN ITALIQUE SONT NON SIGNIFICATIVES AU SEUIL GLOBAL DE 5% EN APPLIQUANT LA CORRECTION DE BONFERRONI). 176
TABLEAU 19. ESTIMATION DES VALEURS DE Φ_{FT} ENTRE LE POLLEN TRANSPORTE PAR DIFFERENTS VECTEURS, AUX DIFFERENTES DISTANCES. LES VALEURS EN ITALIQUE SONT NON SIGNIFICATIVES AU SEUIL GLOBAL DE 5% EN APPLIQUANT LA CORRECTION DE BONFERRONI). DES SIMILARITES ONT PU ETRE DETERMINEES ENTRE LES DIFFERENTS GROUPES D'INDIVIDUS POUR CHAQUE DISTANCE (VALEURS DES Φ_{FT} PROCHES DE ZERO). AUCUNE GRAINE N'A ETE PRODUITE A PARTIR DES POLLINISATIONS MANUELLES REALISEES A 400 M. 177
TABLEAU 20. DIVERSITE GENETIQUE *HE* TRANSPORTEE PAR LES DIFFERENTS TAXONS CAPTURES EN FONCTION DU NOMBRE DE GRAINES ANALYSEES. LES INDIVIDUS N'AYANT PAS PERMIS LA PRODUCTION DE PLUS TROIS GRAINES N'ONT PAS ETE PRIS EN COMPTE. 178
TABLEAU 21. DIVERSITE GENETIQUE *HE* PAR PLANTE EN FONCTION DU TRAITEMENT DE POLLINISATION ET DE LA DISTANCE AU CHAMP LE PLUS PROCHE. 179
TABLEAU 22. MOYENNE DE LA DIVERSITE GENETIQUE DES DIFFERENTS TRAITEMENTS DE POLLINISATION PAR DISTANCES ECHANTILLONNEES SELON L'INDICE DE DIVERSITE GENETIQUE H_E DE NEI (NEI 1973). 180
TABLEAU 23. LISTE DES ESPECES CAPTUREES EN 2007 SUR LE SITE DE PLEINE-FOUGERE (SUD ET NORD) ET SUR LE SITE DE SELOMMES ET LEURS MESURES ASSOCIEES PERMETTANT DE CARACTERISER CHAQUE ESPECE : EFFECTIF (N), DISTANCE INTERTEGULAIRE (DIT) ET ABONDANCE RELATIVE AU SEIN DE LA COMMUNAUTE. LA TAILLE D'UNE SEULE ESPECE N'A PAS PU ETRE MESUREE POUR LE SITE DE PLEINE-FOUGERE NORD. 189
TABLEAU 24. LISTE DES ESPECES CAPTUREES EN 2008 SUR LE SITE DE PLEINE-FOUGERE ET SUR LE SITE DE SELOMMES ET LEURS MESURES ASSOCIEES PERMETTANT DE CARACTERISER CHAQUE ESPECE : EFFECTIF (N), DISTANCE INTERTEGULAIRE (DIT) ET ABONDANCE RELATIVE AU SEIN DE LA COMMUNAUTE. LES TAILLES DE SIX ESPECES N'ONT PAS PU ETRE MESUREES POUR LE SITE DE PLEINE-FOUGERE NORD. 190
TABLEAU 25. NOMBRE D'INSECTES CAPTURES POUR CHAQUE SITE (PLEINE-FOUGERE ; PF DANS SA PARTIE NORD ; PFN ET SUD ; PFS EN 2007, ET SELOMMES ; SEL) EN FONCTION DE LA DISTANCE INTERTEGULAIRE (DIT) POUR LES DEUX ANNEES D'EXPERIMENTATION 191
TABLEAU 24. COMPARAISON DES DIFFERENTES ESPECES D'HYMENOPTERES CAPTURES SUR LES FLEURS DE COLZA. LES ESPECES CAPTUREES OU OBSERVEES ONT ETE NOTEES PAR UN (.) ET LES ESPECES MAJORITAIRES PAR UN (+). 204
TABLEAU 25. COMPARAISON DES DIFFERENTES ESPECES DE SYRPHIDAE CAPTURES SUR LES FLEURS DE COLZA. LES ESPECES CAPTUREES OU OBSERVEES ONT ETE NOTEES PAR UN (.) ET LES ESPECES MAJORITAIRES PAR UN (+). 205

TABLE DES ENCADRES

ENCADRE 1. LES RISQUES SANITAIRES LIES A LA CULTURE DE PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES _____ 64
ENCADRE 2. LES RISQUES SOCIO-ECONOMIQUES LIES A LA CULTURE DE PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES_____ 65
ENCADRE 3. PRINCIPAUX ELEMENTS DE COEXISTENCE DES FILIERES GM ET NON-GM CHEZ QUATRE AUTRES FILIERES AGRICOLES DE CULTURES TRANSGENIQUES._____ 83
ENCADRE 4. NOTIONS DE GENETIQUE DES POPULATIONS : LA STRUCTURE DE HARDY-WEINBERG ET LES PARAMETRES *F* DE WRIGHT._____ 117
ENCADRE 5. ANALYSE DE LA PRODUCTION DE GRAINES PAR PLANTE AU SEIN D'UN PAYSAGE AGRICOLE SELON DEVAUX (2006). _____ 172

PUBLICATIONS, ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET ENSEIGNEMENTS

Publications

Périodiques indexés

Le Féon, V., Burel, F., **Chifflet, R.**, Henry, M. Ricroch A.E., Vaissière, B.E., & Baudry J., Solitary bee abundance and species richness in dynamic agricultural landscapes, *Agriculture, Ecosystems and Environment, special issue Landscape agrobiodiversity*, submitted.

Chifflet, R., Klein, E.K., Lavigne, C., Le Féon, V., Ricroch, A.E., Lecomte, J. & Vaissière, B.E. (2010), Spatial scale of oilseed rape pollen dispersal by insects in a landscape, ***Journal of Applied Ecology***, *Accepted article received in production.*

Carré, G., Roche, P., **Chifflet, R.,** Morison, N., Bommarco, R., Harrison-Cripps, J., Krewenka, K., Potts, S.G., Roberts, S.P., Rodet, G., Settele, J., Steffan-Dewenter, I., Szentgyörgyi, H., Tscheulin, T., Westphal, C., Woyciechowski, M. & Vaissière, B.E. (2009) Landscape context and habitat type as drivers of bee diversity in European annual crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **133**, 40-47.

Périodiques non indexés

Chifflet, R., Muratet, A. & Machon, N. (2007) Impact des structures urbaines sur les mouvements de pollen : cas des populations de chélidoine, *Le Biodiversitaire*, **3**, 28-31.

Communications

Congrès internationaux

Chifflet, R., Vaissière, B. E., Ricroch, A. E., Klein, E. K., Lavigne, C. & Lecomte, J. (2009) Oilseed rape pollen dispersal by insect pollinators in agricultural landscape. Symposium *Crop pollination: its value and some new developments*, Apimondia congress, 18 septembre 2009, Montpellier (présentation orale).

Ricroch, A. E., **Chifflet, R.**, Garnier, A., Haïcour, R., Lecomte, J., Poirel, E. & Vaissière, B. E. (2008) Impact of weed management against feral populations of oilseed rape on plant and pollinator communities in an openfield landscape. 10th Symposium on Biosafety of Genetically Modified Organisms (ISBGMO). Wellington, New Zeland, 16-21 novembre 2008 (présentation affichée).

Le Féon, V., Baudry J., Burel, F., **Chifflet, R.**, Ricroch, A. & Vaissière, B. E. (2008) Impact of local and regional environmental factors on pollinator communities in agricultural landscapes. British Ecological Society, Londres, Royaume-Uni, 2-5 septembre 2008 (présentation orale).

Carré, G., Vaissière, B.E., **Chifflet, R.**, Morison, N., Bommarco, R., Potts, S.G., Roberts, S.P.M., Rodet G., Settele, J. & Steffan-Dewenter, I. (2007) Landscape context affects

the abundance & diversity of bees on annual crops in Europe, IALE International, Wageningen, juillet 2007 (présentation affichée).

Congrès nationaux

Chifflet R., Klein, E. K., Lavigne, C., Le Féon, V., Ricroch, A.E., Lecomte, J., Vaissière, B.E. (2010) Dispersion du pollen de colza dans un paysage agricole, Ecologie, Biodiversité, Fonctionnement des écosystèmes et Services écologiques, septembre 2010, Montpellier (présentation orale).

Autres communications

Chifflet R. (2009) Intervenant au « *Bar des Sciences de Marseille : Des abeilles et des Hommes* », Avril 2009, Marseille.

Chifflet R. (2009) Faune pollinisatrice et dispersion du pollen chez le colza, Séminaire Abeilles et Environnement, mars 2009, Avignon

Chifflet R. (2009) Faune pollinisatrice, paysage et échelle spatiale des flux polliniques chez le colza, séminaire Apoidea-Gallica janvier 2009, Orsay.

Chifflet R. (2008) Mesure de la dispersion du pollen par les insectes: capture d'abeilles et analyses de graines, Journée "Dynamique des populations et écologie" du centre INRA Avignon, décembre 2008, Avignon

---

Expériences d'enseignements et d'encadrements

Monitorat à l'Université d'Avignon et Pays de Vaucluse

Hydrobiologie - *Licence 3 Science de la Vie et de la Terre* - TP 8h
Écologie - *Licence* 2 *Science de la Vie et de la Terre* - TP 18h & TD 18h
Biologie des Invertébrés - *Licence 3 Science de la Vie et de la Terre* - TP 6h & TD 6h
Phyto-protection - *Master I Agroscience* – TD 8h

Encadrements

Étudiant de Master I – Écologie Biodiversité Evolution – Université Paris-Sud 11 – *"Influence de la gestion des bordures de champs sur la faune pollinisatrice : cas du colza (*Brassica napus *L.)"*- Avril-Juin 2009.
Étudiant de Licence 3 - Agroscience – Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse – Stage volontaire – Novembre –Avril 2009.

Projet pluridisciplinaire

Mise en place et réalisation d'expériences à l'attention d'élèves d'école primaire d'Avignon permettant une approche pluridisciplinaire sur le thème de l'eau afin d'acquérir une démarche et un raisonnement scientifique.

LEXIQUE

Coexistence de filières : notion faisant référence à un ensemble de stratégies (culturales, techniques et spatiales) permettant à plusieurs filières de coexister dans un même bassin de production, c'est-à-dire permettant à chacune des filières de respecter les seuils de pollution génétique définis par la profession ou la commission européenne pour la filière dite « non- OGM ».

Constance florale : tendance temporaire que peut avoir une butineuse (un individu) pour des visites séquentielles de ressources florales conspécifiques.

Dispersion efficace du pollen : dispersion du pollen qui engendre une descendance, c'est-à-dire une production de graines.

Lectie : spécialisation propre à chaque espèce à récolter du pollen sur plus ou moins d'espèce florale (**monolectie :** sur une espèce de plantes, **oligolectie :** sur quelques espèces de plantes d'une même famille, **polylectie :** sur une grande variété d'espèces de plantes à fleur).

Nuage pollinique : pool de pollen se trouvant au-dessus d'une plante ; ce nuage permettant toujours la production de graines, il peut donc être considéré comme une dispersion efficace du pollen qui le compose.

Plante/culture conventionnelle : plante ou culture qui n'est pas génétiquement modifiée.

Plantes génétiquement modifiées ou PGM : plantes ayant subi le processus de transgénèse.

Population de bordure (de colza) ou population férale : population de colza se trouvant le long des routes et des chemins dans un bassin de production.

Repousse (de colza) ou volunteer : plante présente dans un champ et issue de la précédente culture de colza.

Pollinisation libre : traitement de pollinisation permettant de capter l'ensemble du pollen présent en un point donné, notée PL.

Pollinisation manuelle : pollinisation réalisée à la main. Fait ici référence à des pollinisations réalisées par frottement manuel des insectes sur les stigmates des fleurs, notée PM.

Pollinisation sous tulle : traitement de pollinisation permettant de ne capter que le pollen transporté par le vent, un sachet de tulle empêchant les insectes d'accéder aux fleurs, notée PsT.

Vecteur de pollen : élément (biotique ou abiotique) permettant le transport du pollen depuis la plante émettrice jusqu'à la plante réceptrice. Les deux principaux vecteurs sont le vent et les insectes.

INTRODUCTION

LE CONTEXTE GENERAL DE LA THESE

Les agro-écosystèmes sont des espaces complexes. Ils sont composés à la fois (i) d'espaces naturels (bois, bosquet, haies…) qui sont les reliquats d'écosystèmes présents avant l'exploitation du milieu à des fins agricoles par l'homme (Flinn & Vellend 2005, Girel 2006, Deblay & Thibault 2009), (ii) d'espaces cultivés (champs) qui peuvent présenter un intérêt écologique pour les pollinisateurs car il peuvent être définit comme des zones de ressources plus ou moins importante en fonction des espèces (Klein *et al.* 2007), (iii) et d'espaces marginaux (bords de routes, et de champs) dans lesquelles une diversité floristique (apparenté ou non aux cultures présentes dans l'agro-écosystème) et faunistique plus ou moins importante peut être présente (Holland & Fahrig 2000, Rundlöf *et al.* 2009). Les insectes pollinisateurs et plus spécifiquement les apiformes, peuvent trouver des sites de nidification, d'alimentation et/ ou de reproduction dans chacun de ces espaces (Michener 2000) et ainsi participer à la dispersion des gènes par le biais du pollen des espaces cultivées vers les autres espaces (naturels ou marginaux) à l'échelle d'un paysage.

La dispersion pollinique a fait l'objet d'études dans les domaines de l'évolution et de la conservation génétique des plantes à fleurs (Ellstrand 1992, Sork *et al*. 1999). Aujourd'hui, les flux de pollen sont étudiés dans un contexte agronomique afin de préserver la pureté des variétés cultivées et de limiter le transfert de transgènes de plantes génétiquement modifiées (PGM) vers les autres cultures et les plantes sauvages (Cresswell 2010). La plupart des mesures visant à limiter les impacts de la culture des PGM, et plus particulièrement celles liées à l'échappement des (trans-)gènes, ont nécessité des études portant sur les flux de gènes. Depuis 1996, le laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution (ESE) de l'Université d'Orsay - Paris-Sud XI, en collaboration avec le CETIOM et l'INRA, étudie les populations de colza échappées des champs dans le département du Loir-et-Cher, Centre, France (Pessel & Lecomte, 2000). Le site a été choisi pour la présence du silo à grain dans la commune de Selommes, afin d'étudier les relations entre le transport des graines de colza des champs au silo et la dynamique des populations férales. Les recherches entreprises dans le cadre des thèses de A. Garnier et S. Pivard ont ainsi concerné les processus écologiques impliqués dans la présence de populations de colza dites férales dans les espaces marginaux (bordures de routes et chemins), les modalités de maintien de ces populations (Garnier *et al.* 2006 ; Pivard *et al.* 2007, 2008), leur potentiel d'invasion et leur rôle dans les flux de gènes (Garnier & Lecomte, 2006).

D'autre part, le projet SIGMEA (*Sustainable Introduction of GMOs into European Agriculture*, 2004-2007) dont le laboratoire ESE faisait partie, a étudié les impacts éventuels de l'introduction de cultures transgéniques dans des systèmes de productions agricoles européens sur le fonctionnement et l'équilibre des écosystèmes et de leur biodiversité. Dans le cadre de ce projet et durant sa thèse, C. Devaux a déterminé la dispersion de pollen de colza issue des champs à longue distance grâce à un protocole expérimental situé dans cet agro-écosystème. Cette détermination a été réalisée en décrivant de nouvelles des fonctions statistiques calculant la probabilité qu'un grain de pollen émis tombe à une distance donnée (Devaux *et al.* 2005). Ces études sont toujours d'actualité et l'évaluation des impacts de la mise en cultures des PGM fait aujourd'hui encore l'objet de programme de recherche tel que le programme GMBioImpact, dans lequel s'inscrit ma thèse.

La question du transfert de (trans-)gènes vers les populations férales (ou « échappées ») ou vers des espèces proches se pose de façon cruciale pour le colza du fait (i) de ses aptitudes particulières à disséminer ses gènes et ses individus, via le pollen ou les graines (Devaux *et al*. 2006 ; Garnier *et al*. 2006), (ii) de la présence d'espèces sauvages proches comme la roquette (*Eruca sativa* Mill.), la ravenelle (*Raphanus raphanistrum* L.) ou les moutardes (*Sinapis* spp.) dans les bassins de production européens avec lesquels des croisements ont été observés (Kerlan *et al*. 1992, Chèvre *et al*. 2007, Fitzjohn *et al*. 2007).

Le colza (*Brassica napus*, L.) est l'une des quatre cultures de PGM les plus répandues au monde (soja, maïs, coton et colza, James 2009). En 2009, le colza transgénique représentait 21% des 31 millions d'hectares de colza cultivés dans le monde et 4,86% des 134 millions d'hectares cultivées en PGM (James, 2009). Aujourd'hui, la culture de colza transgénique est une réalité aux Etats-Unis, au Canada, en Australie et au Chili et concerne exclusivement des variétés résistantes aux herbicides. En Europe, la culture de colza transgénique n'est pas autorisée du fait des interrogations sur une possibilité de coexistence des filières transgéniques et conventionnelles. Cependant, la demande en colza a considérablement augmenté ces dernières années, du fait notamment du développement des agro-carburants (van der Velde *et al*. 2009). Il est donc primordial d'évaluer en amont les risques environnementaux d'une introduction de colza transgénique dans les paysages agricoles européens, surtout pour ce qui concernerait des variétés résistantes aux herbicides.

Ainsi, après avoir présenté rapidement ce projet, je réaliserai un inventaire des différents modes de transfert des gènes chez les plantes, puis je porterai mon attention sur la composante pollinique des flux de gènes et les études portant sur la modélisation de la

dispersion du pollen. Les deux principaux vecteurs de pollen étant le vent et les insectes, je présenterai les principaux insectes pollinisateurs et leurs distances de vol lors du butinage, celles-ci pouvant servir à l'évaluation de la dispersion du pollen au sein d'un paysage agricole.

Par la suite, j'effectuerai un récapitulatif historique de l'émergence des organismes génétiquement modifiés (OGM), en m'intéressant plus particulièrement au cas des plantes transgéniques (ou plantes génétiquement modifiées, PGM), les éventuels risques environnementaux liés à leur mise en culture, aux conséquences sur les filières agricoles et aux principales mesures limitant les impacts des cultures de PGM.

Pour terminer, je tâcherai d'étudier plus spécifiquement le cas du colza qui est le modèle d'étude choisi dans le cadre du projet GMBioImpact et de ma thèse.

UN PROJET SUR LES FLUX DE (TRANS-)GENES ET LEUR IMPACT SUR LA BIODIVERSITE

Ma thèse s'est déroulée dans le cadre du projet « ANR-06-POGM-004 GMBioImpact - Flux des (trans-)gènes et impact sur la biodiversité» financé par l'ANR (Agence Nationale de la Recherche) dont le but est d'évaluer l'impact de ces flux de (trans-)gènes et de la gestion de ces flux sur la biodiversité. À travers des suivis de terrain et des expérimentations, l'objectif était de développer des outils d'analyse statistique et de modélisation nécessaires pour estimer et prédire l'évolution des flux de gènes à l'échelle du paysage. Les recherches visaient *in fine* à fournir des outils d'aide à la décision et à la gestion des flux de transgènes dans le paysage.

Le modèle d'étude retenu a été celui du colza en raison de ses aptitudes particulières à disperser ses gènes et ses individus. La dissémination de ses gènes peut se faire à courte et à longue distance, par le pollen (via le vent et les insectes) et par les graines (via les engins agricoles et les véhicules). Cette espèce est capable de former des populations en bordures des voies de transport (populations férales) qui peuvent persister plusieurs années et des repousses en champ alimentées par une banque de graines persistante et importante. Les flux de gènes issus des champs et des populations férales de colza peuvent donc avoir lieu à la fois dans l'espace et dans le temps, via les graines et le pollen.

Ce programme de recherche comporte quatre axes de travail afin (i) de mieux comprendre les flux de gènes de colza, (ii) de compléter les connaissances sur la dynamique des populations de repousses, (iii) de développer des modèles de prédiction et (iv) d'évaluer l'impact des

mesures visant à réduire les flux de gènes sur la biodiversité, en particulier ici la flore et les insectes pollinisateurs (Tableau 1).

Parmi les trois thèses réalisées dans le cadre du programme GMBioImpact, deux portent sur les insectes pollinisateurs (V. Le Féon et R. Chifflet), la troisième, dont les expérimentations n'ont pas lieu à Pleine-Fougères, s'intéresse à la démographie et à la génétique des populations férales de colza (D. Bailleul).

La thèse de Violette Le Féon a pour objectif de mieux comprendre les relations entre colza et insectes pollinisateurs à l'échelle du paysage agricole afin d'obtenir une meilleure compréhension de la distribution spatiale des insectes pollinisateurs pour améliorer la prédiction des flux de gènes. Son travail vise à comprendre comment la structure du paysage et les pratiques agricoles influent sur la diversité, l'abondance et la composition des communautés d'insectes pollinisateurs au sein du paysage agricole.

Ainsi, dans le cadre de nos thèses respectives (V. Le Féon et R. Chifflet), nous avons pu mener ensemble des études portant sur l'évaluation de la diversité (i) globale des pollinisateurs au sein du paysage agricole et (ii) des pollinisateurs spécifiques du colza. L'abondance, la diversité et la composition des communautés des principaux pollinisateurs (syrphes et abeilles) ont été analysées de façon similaire dans chacune des thèses. Cependant, seuls les résultats portant sur les pollinisateurs du colza seront présentés ici. D'autre part, aucune étude portant sur le transport, la composition génétique et la dispersion du nuage pollinique n'a été conduite sur le site atelier de Pleine-Fougères.

LES OBJECTIFS DE LA THESE

Dans ce travail de thèse, les relations entre faune pollinisatrice, contexte paysager et échelle spatiale des flux de gènes ont été étudiées afin de caractériser la dispersion pollinique par les insectes pollinisateurs à l'échelle d'un paysage agricole. Nous avons choisi de travailler sur le colza comme modèle d'étude en raison de ses caractéristiques biologiques (plantes cultivées et spontanément présentes dans le milieu) en prennant comme base la région de Selommes (Loir-et-Cher) et celle de Pleine-Fougères (Ille-et-Vilaine).

Le présent manuscrit est découpé en six sections :

- La présentation du contexte scientifique,
- Les matériels et méthodes utilisés durant les expérimentations,

- La partie I portant sur la description de la faune floricole du colza qui propose une mesure de la diversité et de l'abondance des insectes présents sur cette culture ainsi qu'une méthode de discrémination des insectes pouvant participer à sa pollinisation. Les évaluations antérieures de la diversité des insectes pollinisateurs du colza indiquaient des variations entre les sites d'étude et proposaient une liste, à notre avis, incomplète de la guilde des pollinisateurs intervenant sur cette espèce (abeille domestique *Apis mellifera* L., bourdons *Bombus* spp., syrphes Syrphidae ; Delbrassine & Rasmont 1988, Brunel *et al.* 1992, 1994, Jauker & Wolters. 2008). En effet, par le caractère non spécialisé des fleurs de colza, de nombreux insectes pourraient être des pollinisateurs effectifs du colza et être donc impliqués dans la dissémination à longue distance du pollen.
- La partie II caractérisant les flux de gènes par les insectes pollinisateurs et le vent. Les contributions respectives de ces deux vecteurs font encore l'objet de controverses (Beckie & Hall, 2008). J'ai donc essayé d'estimer, dans le cadre de cette thèse, la participation de ces deux vecteurs dans le transport du l'allo-pollen de colza afin de mieux évaluer le rôle des insectes dans les flux de gènes liés à la pollinisation chez cette culture et de comprendre la part de chaque vecteur dans la dispersion pollinique selon la distance à la source en pollen. Ce travail a permis de développer un modèle de prédiction du succès de grenaison par les insectes pollinisateurs à l'échelle du paysage.
- La partie III visant à extrapoler l'utilisation de ce modèle de dispersion par les insectes pollinisateurs à l'ensemble des communautés d'insectes floricoles du colza.
- La discussion générale qui reprend les principaux résultats de ce travail ainsi que les perspectives qui en découlent.

Tableau 1. Descriptif des quatre axes de recherche du programme GMBioImpact.

NOM DU WORK-PACKAGE	OBJECTIFS	RESULTATS ATTENDUS
WP1- Dispersion du pollen et des graines : données et expérimentation	Avoir une meilleure caractérisation de la dispersion du pollen à longue distance (atmosphère, pollinisateurs) et de la dispersion de graines à longue distance.	Production de données concernant d'autres sources de pollen pour une meilleure estimation des flux de pollen (cf. WP2). Production de données pour mieux estimer la dispersion à longue distance des graines (cf. WP2).
WP2 - Analyse statistique des données spatialisées	Compléter nos connaissances sur l'origine et le maintien des plantes des populations férales (immigration, production locale, banque de graines) et sur les flux de gènes.	- Modélisation de la dispersion du pollen : analyse des nuages polliniques par méthode de vraisemblance en tenant compte de la caractérisation des autres sources polliniques (données issues du WP1) ; - Modélisation de la dispersion des graines par analyse du génotype des graines (données issues du WP1) et calibrage des modèles d'invasion - Développement et évaluation de statistiques à même de distinguer les flux de phénomènes mimétiques : (a) Détermination des facteurs importants sur la dynamique des populations férales et leur maintien, à partir des données de cartographie et de génétique recueillies sur Selommes (b) Prédire et/ou expliquer la présence d'une population et ses caractéristiques (génotype, densité, stade...) en analysant les 6 années d'observations. (c) Estimer les flux de gènes en utilisant la base de données Selommes (données de cartographie, des caractéristiques démographiques et génétiques des différentes populations). (d) Construire un modèle tenant compte des connaissances sur la dynamique des populations férales sur la région de Selommes, et dont les paramètres caractérisent cette dynamique. - Prise en compte de la variabilité dans l'espace et le temps des données.
WP3 - Développement des modèles de prédiction (modèles de simulation)	Développer des modèles démographiques nourris par les résultats des analyses statistiques (WP2) et des expérimentations (WP1). Ces modèles intégreront l'hétérogénéité spatiale du paysage, la variabilité spatiale et temporelle et le fonctionnement en réseau des populations férales pour prédire les flux de gènes dans le paysage.	L'objectif est ici de construire des modèles spatialement réalistes tenant compte des connaissances sur la dynamique des populations férales et de leur comportement en réseau (cf. résultats sur les flux géniques obtenus dans le WP1 et WP2). Ces modèles permettront une extrapolation des résultats à d'autres paysages.
WP4 - Impact des modes de gestion des bordures sur la biodiversité et sur l'échelle de dissémination des transgènes	Comprendre les relations peuplement de pollinisateurs et flux de pollen d'une part et structure paysagère et activités agricoles d'autre part.	Comprendre les relations entre faune pollinisatrice (abondance et composition spécifique), contexte paysager et échelle spatiale des flux de pollen de colza transporté par les insectes. Etudier comment concilier l'éradication des populations échappées des cultures comme relais aux flux de gènes et la protection d'une biodiversité (flore et entomofaune) dans les agro-écosystèmes.

CONTEXTE SCIENTIFIQUE

1. LES FLUX DE GENES

En génétique des populations, les flux de gènes ou flux géniques désignent l'échange de gènes entre différentes populations, par le biais de croisements entre populations généralement apparentées (transfert par le pollen) ou par le biais d'un nouvel individu au sein d'une population (transfert par les graines) (Henry & Gouyon 2003).

Chez les plantes, les flux de gènes se produisent par reproduction asexuée ou sexuée. La reproduction asexuée consiste en a libération de petits groupes de cellules (propagules par exemple chez les bryophytes ou bougeons chez une hydre) ou même de cellules isolées (spores par exemple) qui reprennent le développement de l'organisme depuis le point de départ pour donner naissance à un nouvel individu complet (Morère *et al.* 2002) ou encore par propagation végétative. La reproduction sexuée est assurée par la fécondation, c'est-à-dire par fusion des gamètes mâle et femelle donnant naissance à un œuf (ou zygote). Ainsi lors de la reproduction sexuée des plantes, les flux de gènes sont dus à la migration du pollen ou encore des graines.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons uniquement à la dispersion pollinique, une des composantes essentielles des flux de gènes (Levin & Kerstar 1974, Vekemans & Hardy 2004). Dans le cas des plantes à fleurs, c'est lors de la pollinisation que certains gènes peuvent être transférés. La pollinisation, au sens strict, consiste au transport des gamétophytes mâles, c'est-à-dire des grains de pollen produits par les anthères, soit directement sur l'ovule dans le cas des Gymnospermes, soit jusqu'au stigmate pour les Angiospermes. On distingue majoritairement, trois types de vecteurs des grains de pollen: l'autopollinisation passive, les vecteurs abiotiques (vent, eau) et les vecteurs biotiques (animaux). La migration du pollen dépend donc, selon les espèces, de l'attractivité des fleurs pour les pollinisateurs et de la distance de butinage de ceux-ci et/ou de la capacité du grain de pollen à être déplacé par le vent ou par l'eau (adaptations structurelles).

1.1. L'AUTOPOLLINISATION

L'autopollinisation passive peut être définie comme le transfert des grains de pollen par gravité ou par contact direct entre les anthères et le stigmate. Ce mode de pollinisation n'est pas le mode de reproduction dominant chez les angiospermes même si la majorité des espèces sont hermaphrodites. La raison principale étant que ce mode de pollinisation favorise l'autogamie et réduit ainsi le brassage génétique. En effet, l'autogamie peut être considérée comme la plus forte forme de consanguinité: l'individu avec lequel un individu est le plus apparenté (a le plus de gènes en commun) est lui-même. Ce type de reproduction est favorisé par l'agriculture car elle permet la formation de lignées pures par la diminution, à chaque génération, de la proportion d'individus hétérozygotes (Henry & Gouyon 2003).

1.2. LA POLLINISATION PAR DES VECTEURS ABIOTIQUES

Parmi les vecteurs abiotiques permettant le transport du pollen on peut distinguer l'eau et le vent. Cependant, seules quelques rares espèces de plantes aquatiques dispersent leur pollen par l'eau (famille des Zosteraceae et des Cymodoceaceae, Pesson & Louveau 1984) et ne feront pas l'objet d'une recherche plus approfondie ici.

Le vent participe à la pollinisation de seulement 10% des plantes parmi lesquelles figurent les graminées et la plupart des Gymnospermes. Parmi les cultures les plus importantes en Europe, on peut citer le maïs, *Zea mays*. Ces plantes dites anémophiles produisent des quantités massives de pollen car le pollen est distribué aléatoirement par les flux atmosphériques. La plante dépense ainsi beaucoup d'énergie à produire du pollen, en revanche, d'une façon générale, elle ne façonne pas des structures complexes pour attirer des pollinisateurs (coloration des fleurs, production de nectar, parfums volatils). Dans ce type de pollinisation, le pollen peut être de petite taille, lisse ou avoir des structures particulières (ballonnets – *Pinus* spp., Figure 1).

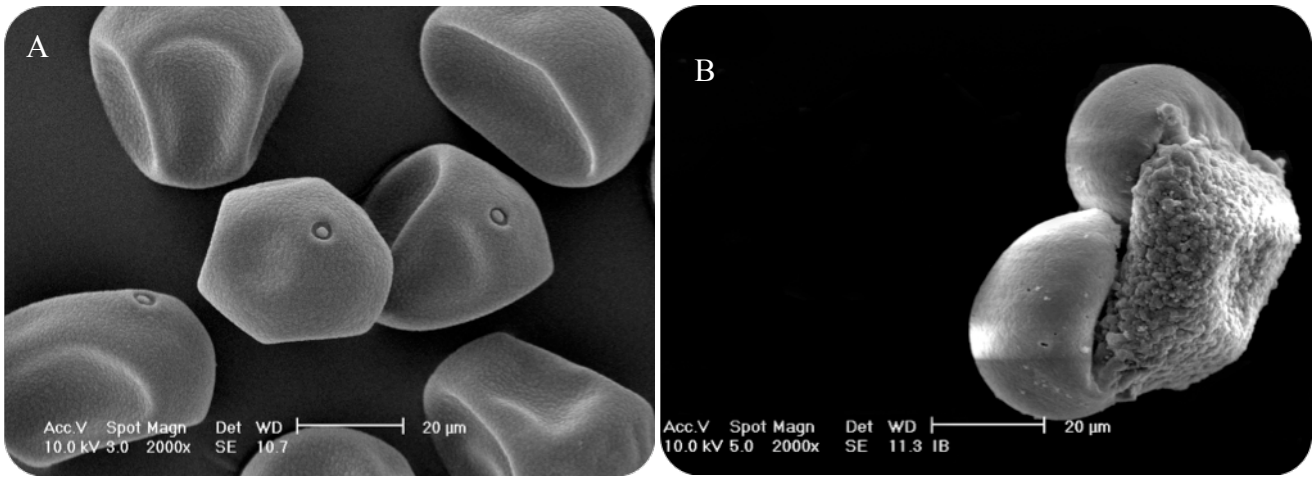


Figure 1. Morphologies des grains de pollen examinés par Microscopie Electronique à Balayage de plantes anémophiles. A : *Sorghum bicolor* ; B : *Pinus sp.* avec ses deux ballonnets ; ©Chifflet & Bornard - INRA 2007

1.3. LA POLLINISATION PAR DES VECTEURS BIOTIQUES

La pollinisation de la majorité des plantes à fleurs dépend donc de vecteurs biotiques dont les principaux recessencés sont : les insectes, les oiseaux et les chauves-souris. Alors que la pollinisation par le vent ou par l'eau ne résulte que d'une rencontre fortuite entre le pollen véhiculé par ces vecteurs abiotiques et les stigmates des fleurs réceptrices, la notion de vecteur biotique suppose une intervention précise et orientée de l'organisme pollinisateur, ayant pour conséquence une pollinisation non plus fortuite mais certaine ou probable (Pesson & Louveaux 1984).

Il faut donc distinguer par les organismes anthophile, c'est à dire visitant les fleurs, ceux qui sont des pollinisateurs efficaces, c'est à dire ceux permettant par la fidélité et la fréquence de leurs visites le transport du pollen d'une fleur à l'autre permettant ainsi la reproduction de l'espèce, de ceux qui sont des organismes floricoles qui ne sont que des visiteurs occasionnels ou dont le comportement n'est pas adapté au processus de la pollinisation (Pesson & Louveaux 1984).

Les plantes zoogames développent des organes floraux, parfois complexes, pour attirer les pollinisateurs. De plus, leurs grains de pollen ont souvent une ornementation comportant de nombreuses aspérités permettant une meilleure adhésion au corps des pollinisateurs (Figure 2).

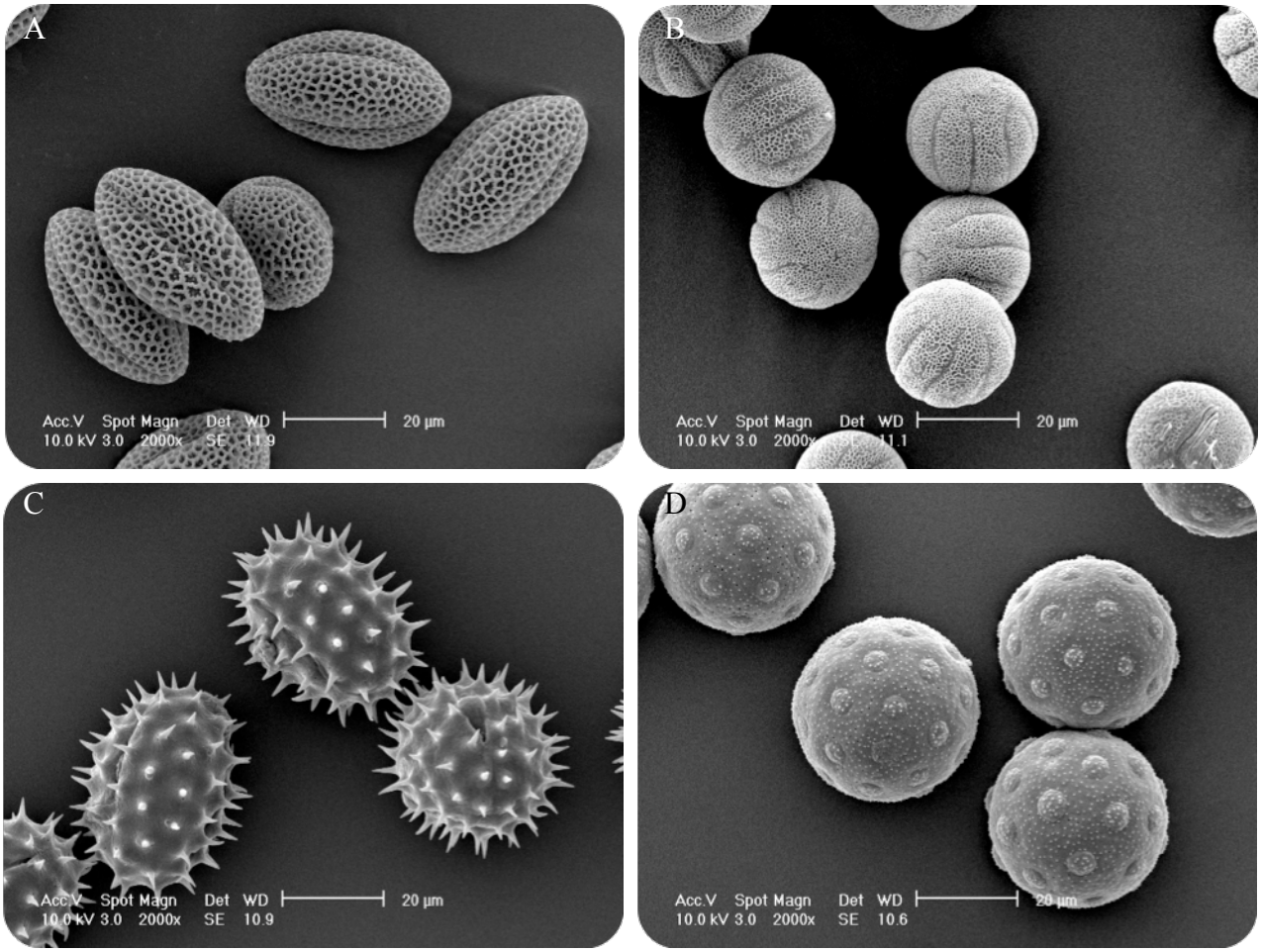


Figure 2. Morphologies des grains de pollen examinés par Microscopie Electronique à Balayage de plantes entomophiles. A : *Brassica napus*; B : *Primula veris.* ; C : *Helianthus sp.*; D : *Silene dioia* ; ©Chifflet & Bornard - INRA 2008

Les plantes zoogames se répartissent en quatre grands groupes qui dépendent de la façon dont les grains de pollen sont transportés:

(i) les ornithophiles dont les grains de pollen sont transportés par les oiseaux tels que les oiseaux-mouches. Lorsque leur long bec effilé plonge au fond de la corolle afin d'y puiser le nectar, leur tête se frotte aux étamines, ainsi le pollen peut adhérer à leurs plumes.

(ii) les cheiroptérophiles dont les grains de pollen sont transportéspar les chauves-souris. Ce genre de pollinisation est retrouvé chez certains cactus ayant des fleurs larges, très pâles et odorantes qui facilitent ainsi leur repérage par les pollinisateurs nocturnes.

(iii) les entomophiles dont les grains de pollen sont transportés par les insectes. Les Angiospermes utilisent principalement ce type de pollinisation. En explorant les fleurs à la recherche de ressources alimentaires (nectar et pollen), les insectes (entre autres les abeilles, les papillons, les diptères ou certains coléoptères) se frottent aux étamines, récoltant involontairement des grains de pollen (jusqu'à 100 000 grains) qui seront par la

suite déposés sur d'autres fleurs. En Europe, la pollinisation de la majorité des plantes à fleurs dépend des insectes. Ces insectes sont les principaux vecteurs de pollen de la majorité des espèces cultivées (Klein *et al.* 2007, hors céréales et betterave). Chez les plantes pollinisées par les insectes, la dispersion pollinique dans et entre les populations dépend du type de pollinisateurs et du butinage (Cresswell *et al*. 1995).

(iv) les autres pour lesquels ce sont de petits mammifères qui interviennent (rongeurs, marsupiaux).

1.4. LE CAS DE LA POLLINISATION ENTOMOPHILE

La pollinisation entomophile est le mode de pollinisation utilisant les insectes comme vecteur biotique pour transporter le pollen. La majorité des Angiospermes utilisent ce vecteur. Les insectes visitent les fleurs principalement pour se nourrir, mais aussi pour s'abriter ou chercher des partenaires sexuels. Ce faisant, ils chargent et déchargent du pollen qu'ils déposent sur le stigmate d'autres fleurs conspécifiques.

La pollinisation entomophile est une relation où la plante réalise sa reproduction sexuée alors que l'insecte trouve un simple repas. Elle est mutualiste puisque réciproquement positive pour les deux espèces. Les plantes procurent de la nourriture et un abri, en contrepartie, les insectes offrent le transport de pollen. Cette relation mutualiste représente un équilibre fragile entre les intérêts et coûts associés au service de l'autre espèce (Rodet, 2010). La situation optimale pour la plante est d'obtenir un service de pollinisation par un vecteur de pollen, sans lui offrir de récompense. L'animal visitant les fleurs doit, lui, exploiter les ressources disponibles aussi efficacement que possible (Herrera & Pellmyr, 2002).

L'avantage évolutif de la pollinisation entomophile pour les plantes est que le transport du pollen est le résultat d'un comportement et non plus du hasard. L'insecte peut visiter des fleurs conspécifiques parce qu'il peut les reconnaître. L'utilisation d'insectes pour la dispersion de pollen présente différents avantages écologiques pour les plantes qui ne peuvent pas se déplacer : (i) les insectes qui recherchent activement des fleurs augmentent la probabilité qu'un grain de pollen collecté sur une fleur rejoigne le stigmate d'une fleur conspécifique, (ii) la pollinisation croisée faite par les insectes peut prendre place dans des habitats avec très peu de vent tels que la canopée fermée dans les forêts tropicales et (iii) la quantité de pollen à produire est plus faible que dans le cas d'une pollinisation anémophile pour la même efficacité pollinisatrice (Herrera & Pellmyr, 2002).

En contrepartie, de nouveaux coûts pour la plante s'ajoutent avec la pollinisation entomophile. La plante doit produire des signaux visuels et olfactifs qui attirent les visiteurs, et des récompenses telles que du nectar, du pollen supplémentaire, ou des résines. Un autre coût dû à la pollinisation entomophile est celui imposé par les insectes non pollinisateurs qui exploitent les signaux et les récompenses mis en place par les plantes (Herrera & Pellmyr, 2002).

Les bénéfices pour les insectes pollinisateurs consistent à avoir des récompenses de haute qualité nutritionnelle accessibles aisément dans des zones facilement identifiées.

Dans la plupart des cas, il y a peu de coûts pour les insectes visitant les fleurs. Le transport du pollen risque peu de gêner l'insecte, sauf dans certains cas comme lors de visites de plantes produisant de très grandes quantités de pollen comme le tournesol, où l'insecte se trouve entièrement recouvert de pollen ou dans le cas de la pollinisation des plantes nototribiques qui utilisent un système de levier pour transférer le pollen sur l'insecte. Dans ce cas, le dépôt de pollen sur le corps du pollinisateur peut lui couvrir les yeux (Herrera and Pellmyr, 2002).

Cette relation a nécessité une co-évolution plante-insecte et donc des adaptations de chacun des acteurs de cette interaction pour qu'elle soit efficace.

Certains facteurs physiques environnementaux ont une influence sur l'activité des pollinisateurs et donc sur la pollinisation, comme la lumière, la température, l'humidité ou le vent.

La lumière intervient dans la perception de la différence jour nuit. Certains insectes sont diurnes alors que d'autres sont nocturnes ou crépusculaires. L'activité de certains insectes pollinisateurs est fonction de la lumière perçue. La lumière peut être modifiée par la présence de nuages ou d'orages qui favoriseront l'activité d'insectes crépusculaires.

L'effet de la température est assez lié à celui de la lumière, et marque plus un effet saisonnier. Ainsi la température la plus basse pour que l'abeille domestique vole activement est 10°C. L'humidité a une incidence indirecte sur la pollinisation, puisque ce facteur n'intervient pas sur l'activité des pollinisateurs mais sur la concentration en sucre du nectar. Enfin, le vent perturbe le vol alors que la pluie empêche toute activité des abeilles (Kevan and Baker, 1983).

2. LES INSECTES POLLINISATEURS

La pollinisation de la plupart des espèces cultivées dépend des insectes. Les insectes pollinisateurs sont responsables de la pollinisation de 65% des espèces cultivées dans le monde (84% en Europe) ce qui représente un tiers du volume global de la production mondiale pour l'alimentation humaine (Klein *et al*. 2007).

Pour qu'un insecte soit pollinisateur, il est nécessaire (i) qu'il soit intéressé par les ressources florales et (ii) qu'il transporte du pollen. Principalement quatre ordres d'insectes remplissent les conditions citées ci-dessus, bien que quelques insectes appartenant à d'autres ordres puissent également avoir une activité pollinisatrice. Il s'agit des Coléoptères, des Diptères, des Lépidoptères et des Hyménoptères (Chittka & Thompson 2001), bien que les abeilles et les syrphes représentent les principaux pollinisateurs de la faune d'Europe (Free 1993).

2.1. LES COLEOPTERES

Les Coléoptères, insectes pollinisateurs les plus primitif et assurant une pollinisation dite de « *mess-and-soil* » (Faegri & van der Pijl 1971), consomment toutes les parties florales an déambulant autour des fleurs. Le pollen est alors déposé sur leur corps lorsqu'ils passent proche des anthères et est déposé sur les stigmates, d'une même fleur ou d'une autre fleur, lorsqu'ils se déplacent dans cette zone.

Les Coléoptères qui participent à la pollinisation ont des adaptations morphologiques comme la projection en avant de leurs parties buccales ou l'élongation de leur prothorax. Ainsi, ils peuvent atteindre les nectaires des fleurs profondes et extraire le nectar plus rapidement (Kevan & Baker 1983).

2.2. LES LEPIDOPTERES

La plupart des Lépidoptères se nourrissent de nectar, mais généralement, ils ne peuvent boire que les nectars les moins visqueux. Cependant, certaines espèces sécrètent de la salive pour diluer les nectars plus sirupeux. Les papillons diurnes visitent des fleurs de couleur vive avec des corolles tubulaires tandis que les espèces nocturnes visitent plutôt des fleurs pâles se distinguant facilement du feuillage foncé, et fortement parfumées pour pouvoir les localiser (Kevan & Baker 1983).

2.3. LES ABEILLES, ACTRICES PRINCIPALES DE LA POLLINISATION

Les Hyménoptères constituent l'ordre qui renferme le plus d'insectes pollinisateurs. Ils se nourrissent de nectar, de pollen et d'autres parties florales. Au sein de cet ordre, les Apoïdés sont les pollinisateurs les plus importants et les plus adaptés. Leurs pièces buccales sont structurées pour la récolte de nectar et leur corps pour la collecte de pollen. Leur comportement est adapté à la connaissance et à la manipulation des fleurs (Kevan & Baker 1983).

2.3.1. SYSTEMATIQUE

Les abeilles, avec un nombre d'espèces compris entre 20 000 et 30 000 dans le monde et environ 1 000 en France dénombrées en 6 familles (Rasmont *et al.* 1995 ; Michener 2000 ; Figure 3).

Figure 3. Représentants des différentes familles d'Apoides en France. Avec de gauche à droite et de haut en bas : *Colletes* sp. (Colletidae), *Andrena* sp. (Andrenidae), *Halictus scabiosae* (Halictidae), *Dasypoda hirtipes* (Melittidae), *Megachile* sp. (Megachilidae) et quatres représentant des Apidae : *Xylocopa violacea*, *Epeodus* sp. (abeille parasite), *Eucera* sp., et *Bombus* sp. (© H. Mouret, Arthropologia)

Les premiers pas de l'apidologie et de la systématique des abeilles se résument à l'exploitation, l'élevage, l'observation et l'étude d'une seule espèce : l'abeille domestique, *Apis mellifera* L. Cette classification centré sur l'abeille domestique peut s'expliquer par avant tout par l'exploitation des produits même de la ruche et par les nombreuses observations du travail des ouvrières par des amateurs, des apicultuers ou des scientifiques (Michez 2007). La première classification moderne des abeilles est présentée dans la thèse de doctorat de Charles D. Michener (Michener 1944) et qu'il reprendra dans son ouvrage *The bees of the world* (Michener 2000 ; Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des abeilles d'après Michener (2000)

FAMILLES	SOUS-FAMILLES	TRIBUS	GENRES
[Langue courtes]			
COLLETIDAE			
	Colletinae		*Colletes*
	Hylaeinae		*Hylaeus*
ANDRENIDAE			
	Andreninae		*Andrena*
	Panurginae	*Panurgini*	*Panurgus* *Panurginus* *Camptopoeum*
	Melitturginae	*Melitturgini*	*Melitturga*
HALICTIDAE			
	Rhophitinae		*Dufourea* *Rhophites* *Rhophitoides* *Systropha*
	Nomiinae		*Nomia* *Pseudapis*
	Nomioidinae		*Nomioides*
	Halictinae	*Halictini*	*Halictus* *Lasioglossum* *Sphecodes*
[Langues moyennes]			
MELITTIDAE			
	Dasypodinae	*Dasypodini*	*Dasypoda*
	Melittinae		*Macropis* *Melitta*
[Langues longues]			
MEGACHILIDAE			
	Megachilinae	*Lithurgini*	*Lithurgus*
		Osmini	*Chelostoma* *Heriades* *Osmia*
		Anthidiini	*Anthidiellum* *Anthidium* *Stelis* *Trachusa*
		Dioxyini *Megachilini*	*Dioxys* *Coelioxys* *Megachile*
APIDAE			
	Xylocopinae	*Xylocopini*	*Xylocopa*
		Ceratini	*Ceratina*
	Nomadiinae	*Nomadini*	*Nomada*
		Epeolini	*Epeolus* *Epeoloides*
		Ammobatoidini	*Ammobatoides*
		Biastini	*Biastes*
		Ammobatini	*Ammobates*
	Apinae	*Osirini*	*Epeoloides*
		Eucerini	*Eucera* *Tetralonia*
		Anthophorini	*Anthophora* *Amegilla* *Habropoda*
		Melectini	*Melecta* *Thyreus*
		Bombini	*Bombus* *Psithyrus*
		Apini	*Apis*

2.3.2. REGIME ALIMENTAIRE

Les espèces présentent différentes longueurs et structures de langue qui déterminent la gamme de plantes sur laquelle elles pourront butiner (Michener 2000, Tableau 2). La gamme de plantes que peuvent butiner les abeilles est en partie déterminée par leurs adaptations morphologiques et comportementales (outre le lien spatial et/ou temporel entre les communautés de plantes et d'abeilles). Les abeilles présentant des langues courtes ne peuvent prélever du nectar que dans des fleurs peu profondes comme les Apiacées (par exemple les Mellitidae). Les abeilles à langue longue peuvent quant à elles prélever du nectar de fleurs plus profondes (par exemple les Megachilidae). Certaines abeilles présentent des adaptations morphologiques plus poussées. C'est le cas des poils en crochets de *Colletes nasutus* (Colletidae), d'*Andrena nasuta* (Andrenidae) et de *Cubitalia parvicornis* (Eucerini) qui sont spécialement adaptés à la récolte du pollen de Boraginaceae en Europe (Michener 2000). On distingue plusieurs niveaux d'interactions trophiques avec les plantes en fonction du degré de spécialisation alimentaire des espèces.

Traditionnellement, les abeilles sont classées en trois groupes selon leur habitude alimentaire : (i) monolectique, (ii) oligolectique et (iii) polylectique (e.g. Pekkarinen 1998, Michener 2000, Cane & Sipes 2006).

Les espèces d'abeilles généralistes, c'est-à-dire pouvant récolter le pollen d'une large gamme de fleurs sont qualifiées de polylectiques. Ce groupe semble renfermer la majorité des espèces de pollinisateurs, comme les bourdons: *Bombus terrestris*, *B. pascuorum* et *B. lapidarius* mais aussi pour d'autres genres d'Apoïdes comme *Apis mellifera* (Michener 2000).

Les espèces d'abeilles qui sont spécialisées sur un certain nombre de taxons d'un même genre de plantes sont appelées oligolectiques ou monoloectique si la spécialisation est poussée jusqu'au prélèvement de pollen d'une seule espèce (Michener 2000). Seul un faible nombre d'espèces est oligolectique ; c'est le cas de *Bombus gerstaeckeri* qui butine exclusivement sur *Aconitum* spp. (Ponchau *et al.* 2002).

Enfin, les espèces monolectiques collectent sur une seule espèce de plante. Le terme monolectisme décrit un oligolectisme poussé à l'extrême. Cependant, pour Michener (2000) le monolectisme au sens strict n'existe pas. L'exemple d'*Andrena florea* peut illustrer ce phénomène de monolectisme car cette espèce butine une seule espèce végétale, *Bryona dioica* (Curcubitaceae), ou encore *Colletes hederae* sur le lierre commun *Hedera helix* (Araliaceae) (Michener 2000).

Toutefois, ces définitions ne sont pas strictes car il existe des stades intermédiaires (Pekkarinen 1998). L'exemple de *Macropis europaea* mérite d'être cité car il montre la nuance qui peut exister entre ces différents groupes. En effet, cette espèce récolte exclusivement le pollen sur *Lysimachia vulgaris* (Primulaceae) mais cette plante ne produit pas de nectar. De ce fait, *M. europaea* collecte du nectar sur d'autres taxons de végétaux pour satisfaire ses besoins glucidiques. Ces abeilles sont polylectiques au sens strict du terme car elles collectent le nectar sur de nombreuses familles telles que les Asteraceae, les Boraginaceae ou encore les Rosaceae. Par contre, une population de *Macropis* ne peut visiblement pas s'installer dans un biotope sans la présence de *L. vulgaris* sur lesquelles elles collectent exclusivement le pollen (Michez & Patiny 2005).

Les abeilles eusociales, c'est-à-dire présentant un mode d'organisation sociale et formant un même groupe divisé en castes d'individus fertiles ou non, comme par exemple l'abeille domestique avec la reine et les ouvrières, sont généralement polylectiques. Ces abeilles étant actives pendant une longue période, elles doivent trouver des ressources dans des successions végétales changeantes. Pour les abeilles solitaires (80% des abeilles), le degré de spécialisation aux espèces florales varie en fonction des genres, voire des espèces considérés (Michener 2000). Les espèces polylectiques montrent néanmoins des préférences alimentaires et des comportements de constance florale. Cette constance peut s'expliquer en partie par la prise d'expérience des individus sur un type de fleur (Michener 2000). Du point de vue de la pollinisation, ce comportement de constance florale permet d'augmenter la proportion de grains de pollen conspécifique sur les stigmates des fleurs.

2.3.3. COMPORTEMENT DE BUTINAGE

Les insectes pollinisateurs, et plus spécifiquement les abeilles, ne visitent pas les fleurs au hasard. Leur période de butinage consiste en une succession de visites de fleurs conspécifiques, parfois interrompu par des changements entre plusieurs espèces. La fidélité du comportement de butinage des abeilles dépend de deux paramètres : (i) la constance florale qui est la tendance temporaire que peut avoir une butineuse (un individu) pour des visites séquentielles de ressources florales conspécifiques et (ii) la spécialisation propre à chaque espèce à récolter du pollen sur plus ou moins d'espèces florales (Cane & Sipes 2006).

Les espèces polylectiques montrent des préférences alimentaires et des comportements de constance florale. Cette constance peut s'expliquer en partie par l'acquisition d'une

expérience de butinage des individus sur un type de fleur (Michener 2000). Du point de vue de la pollinisation, ce comportement de constance florale permet d'augmenter la proportion de grains de pollen conspécifiques sur le stigmate des fleurs (Vaissière *et al.* 1985).

Une des conditions primordiale assurant la constance florale et la régularité des rapports entre la fleur et son pollinisateur est la présence dans la fleur d'un élément recherché par le pollinisateur, le plus souvent une ressource alimentaire (pollen et/ou nectar). Des conditions favorables à la découverte et à l'exploitation de ces ressources peuvent s'ajouter des caractéristiques propres à la fleur (odeur, couleur, morphologie, pollen adhésif) jouant un rôle de stimuli attractifs (Pesson & Louveaux 1986).

La constance florale à une espèce constitue une qualité individuelle de l'insecte pollinisateur, que sont régime alimentaire soit oligolectiques ou polylectiques. En effet, elle présume des facultés de mémoire et de reconnaissance de certains caractères attractifs de la fleurs vu ci-dessus ou encore de la lacolisation géographique des plantes. Chez *B. terrestris*, les butineuses montrent des signes de reconnaissance pour un site probablement acquise graduellement sans vol de repérage (Pesson & Louveaux 1986).

Le degré de constance florale que manifestent les butineuses de certaines espèces envers les fleurs est déterminé, dans une certaine mesure, par le nombre d'espèces végétales différentes qui se trouvent dans une aire donnée. En effet, dans des zones caractérisées soit par une faible diversité florale, soit par une prédominance d'une espèce de fleurs, des comportements de constance florale plus importants et plus assidus ont été observé en comparaison à des zones possédant une grande diversité floristique (Pesson & Louveaux 1986).

Afin d'évaluer la constance florale des pollinisateurs, deux méthodes sont classiquement utilisées. La première est de suivre des pollinisateurs durant leur période de butinage révélant ainsi la constance qu'ont les butineuses ou pas à butiner le nectar et/ ou le pollen de différentes espèces florales (Wilson & Stine 1996). La deuxième est d'étudier un échantillon du pollen récolté par les butineuses afin d'en estimer la composition (Marcior 1994, Cane & Sipes 2006, Beil *et al.* 2008). Les nombreuses caractéristiques de l'enveloppe pollinique (forme, ornementation, répartition des apertures) qui peuvent s'agencer en différentes combinaisons permettent d'identifier la famille et le genre de la plante dont le pollen est originaire. En effet, le pollen a, comme tous les autres organes d'une même plante, des caractères morphologiques utilisés en systématique botanique. A l'intérieur d'une famille ou d'un genre, le pollen est le plus souvent caractéristique comme par exemple les pollens sphériques et uniporés des Graminées. L'exine (partie externe du grain de pollen) est généralement pourvue d'apertures (sillons ou pores moins résistants que le reste de la paroi

permettant la sortie du tube pollinique lors de sa germination) et est ornée de petites granules isolées ou regroupées formant des motifs qui particularisent le grain.

2.3.4. DISTANCE DE VOL

Les distances de vol liées au comportement de butinage varient selon les espèces mais également entre les ouvrières d'une même espèce (Walther-Hellwig & Frankl 2000). De nombreuses études, utilisant différentes méthodes d'évaluation, ont été conduites afin d'estimer la distance de butinage pour différentes espèces.

Ainsi l'utilisation de techniques moléculaires sur du pollen récupéré dans des pièges à pollen situés à l'entrée de ruches d'abeilles domestiques *Apis mellifera*, Ramsay *et al.* (1999) a montré que la plupart des colonies d'abeilles domestiques butinent à plus de 2000 m, et dans des circonstances particulières au-delà de 4000 m. De plus, les auteurs ont également capturé des abeilles à la sortie de la ruche, située à proximité d'un champ de colza transgénique, afin de réaliser des pollinisations manuelles sur des plantes mâle-stériles. Le pollen trouvé dans la toison de ces abeilles domestiques provenait à la fois de champs GM et non-GM, indiquant de possibles transferts entre les cultures et/ou des transferts de pollen intra-colonies par contact entre les abeilles, pouvant ainsi augmenter la dispersion pollinique.

L'utilisation d'un nourrisseur, c'est à dire un plateau canelé contenant une solution de sucre, dans un habitat semi-aride à plantes à feuilles caduques où les butineuses d'abeilles sans dard, *Melipona mandacaia,* jouent un rôle essentiel pour la pollinisation des plantes endémiques de cette région (João Dourado, Bahia, Brésil) a permis de démontrer que les butineuses de *M. mandacaia,* de plus grande taille volaient sur de plus grandes distances que celles de taille plus petite. De plus, *M. mandacaia* a pu être observée en train de butiner sur le nourrisseur à une distance de plus de 2100 m par rapport à son site de nidification (Kuhn-Neto *et al.* 2009). Cependant, la distance de butinage des abeilles sans dard varie en fonction de l'abondance des ressources florales et peut ainsi être inférieure à la distance parcourue pour la recherche d'un site de nidification (Vicens & Bosch 2000). Guédot *et al.* (2009) ont mesuré la distance de vol des femelles d'*Osmia lignaria* en les marquant sur le thorax avant qu'elles quittent leur nid. Les femelles d'*O. lignaria* se déplacent en moyenne sur des distances inférieures à 1200 m avant de retourner à leur nid. Chez *Bombus terrestris*, l'utilisation d'un radar harmonique a permis d'estimer les distances de vol des ouvrières entre 70 et 631 m (Osborne *et al*. 1999) mais la détection du signal n'était possible que jusqu'à une distance maximale d'environ

700 m. Ainsi, Wolf & Moritz (2008), en observant *B. terrestris* le long d'un parcours défini, ont estimé une distance de vol maximale de 800 m. Malgré ces estimations, les bourdons ne butinent pas nécessairement loin de leur site de nidification, puisque environ 40% des ouvrières butinent sur des distances d'environ 100 m autour de leur nid (Osborne *et al.* 1999, Wolf & Moritz 2008). Des distances de vols encore plus importantes ont été observées chez *Xylocopa flavorufa*. En effet, *X. flavorufa* suivit par radio-tracker a permis d'estimer que le vol pouvait se faire sur des distances allant de 50 à 6040 m mais que 64 % des individus observés se déplaçaient dans un périmètre de 200 à 1000 m autour de leur nid (Pasquet *et al* 2008). Enfin, des analyses portant sur les charges polliniques de différentes espèces d'abeilles sauvages ont permis d'estimer une distance de vol de 1250 m pour des abeilles dont la taille du corps était comprise entre 6 et 15 mm (Beil *et al* 2008).

Malgré les importantes variations possibles entre les différentes espèces et au sein même d'une espèce, un lien entre la taille des abeilles et leur distance de vol a été démontré pour plusieurs espèces dans différents habitats (Cane 1987, van Nieuwstadt *et al.* 1996, Gathmann & Tscharntke 2002, Greenleaf 2007, Kuhn-Neto *et al* 2009, Zurbuchen *et al*. 2010). La taille du thorax, contenant les muscles servant au vol, est d'une part un bon indicateur de la masse sèche des abeilles (Cane 1987), et d'autre part permet d'estimer une distance de vol pour le butinage ; les abeilles de plus grande taille ont des distances de vol, pour le butinage, beaucoup plus importantes que les abeilles de petite taille (Greenleaf *et al.* 2007). Ainsi, la taille des abeilles variant de quelques millimètres à quelques centimètres, il est possible d'estimer leur échelle de butinage, et donc de façon indirecte celle de la dispersion pollinique (van Nieuwstadt & Iraheta 1996, Gathmann & Tscharntke 2002, Greenleaf et al. 2007, Kuhn-Neto *et al.* 2009).

2.4. LES SYRPHES

Les Syrphidae composent une famille de Diptères (Diptera) et comprennent plus de 5000 espèces connues dans le monde, dont 480 étaient répertoriées en France en 1996 (Sarthou 1996).

Seuls les adultes sont floricoles et se nourrissent, plus ou moins selon les espèces, de pollen et de nectar. Les espèces polylectiques butinent une large gamme de fleurs, les plus visitées étant celles qui offrent un accès facile au pollen et au nectar telles de nombreuses Apiaceae, Asteraceae et Brassicaceae. Parmi ces espèces certaines se nourrissent préférentiellement de

pollen (*Episyrphus balteatus*, *Syrphus* spp.) et d'autres de nectar (*Eupeodes corollae*). A l'opposé, certaines espèces du genre *Rhingia* notamment, et dans une moindre mesure du genre *Volucella*, se sont adaptées à la récolte de nectar au fond de corolles profondes (par exemple, de *Lychnis flos-cuculi* ou d'*Ajuga reptans* pour les premières, et de *Valeriana officinalis* pour les secondes). Certaines plantes anémophiles sont activement visitées par des Syrphes comme par exemple *Melanostoma* spp. et *Platycheirus* spp., visiteurs réguliers de toute une flore anémophile herbacée dont *Plantago lanceolata,* plus quelques Poaceae et Cyperaceae. Ce régime alimentaire à base de pollen anémophile, riche en proline, permet à certaines espèces de petite taille (*Melanostoma scalare*), le maintien de leur activité même à basse température (Sarthou 1996). D'autre part, plus le syrphe est gros, moins il passe de temps à voler et plus il en passe à se nourrir. Les Syrphidae apparaissent dans un ordre précis au cours d'une journée, les espèces les plus grosses étant actives plus tôt en matinée et à température plus basse que les espèces les plus petites (Gilbert 1985).

La constance des visites de chaque individu à une même espèce de fleur est forte lorsque cette espèce est largement représentée, ce qui est le cas pour une culture. L'activité pollinisatrice des syrphes est accentuée par le fait qu'ils ne prélèvent qu'une partie des éléments nutritifs de chaque fleur visitée, ce qui les conduit à visiter beaucoup de fleurs en peu de temps. Une étude sur les pollinisateurs d'un vergers en Ontario a montré que les abeilles du genre *Apis* et certaines espèces de la famille des Andrenidae et des Halictidae, jouaient le rôle le plus important et qu'un groupe d'une quinzaine d'espèces de Syrphidae occupait la deuxième place par la quantité de pollen transporté sur le corps (Vockeroth in Sarthou 1996). D'autre part, l'espèce très commune et abondante *Episyrphus balteatus* est considérée comme un pollinisateur efficace du colza. Sa présence dans un champ permet d'augmenter largement la quantité de graines par silique. Bien que le rôle des Syrphes en tant qu'agent de la pollinisation à la fois des espèces sauvages et cultivées et bien connu, les distances parcourues, lors du butinage, restent largement mal connues (Jauker & Wolters 2008).

Toutes les espèces de Syrphidae effectuent des déplacements plus ou moins importants, motivés par la recherche de pollen et de nectar, d'eau ou simplement d'un endroit favorable au comportement de parade et d'accouplement (Aubert *et al.* 1976, Sarthou 1996).

2.5. REPONSE A L'ENVIRONNEMENT

La diversité et l'abondance des insectes pollinisateurs, et plus particulièrement celles des abeilles, au sein d'un agro-écosystème s'expliquent par les différentes composantes biologiques et géographiques à différentes échelles (Michener 2000). Plusieurs variables de l'environnement peuvent induire une fluctuation de la composition de ces communautés d'insectes, pouvant ainsi influencer la dispersion pollinique au sein d'un agro-écosystème.

À l'échelle continentale, le climat et les conditions topographiques façonnent la distribution des espèces (Michener 2000). À l'échelle du paysage, les habitats autour des champs, que l'on peut définir comme le contexte paysager des cultures, et plus spécifiquement les habitats semi-naturels sont les principaux responsables de la diversité des abeilles (e.g., Kremen *et al.* 2002, Steffan-Dewenter *et al.* 2002, Le Féon *et al.* 2010). En effet, les habitats semi-naturels fournissent à eux seuls les sites nécessaires à la nidification et à l'alimentation dans la zone de vol des abeilles. Par exemple, la densité des nids de bourdons (*Bombus* spp.) est plus importante dans des paysages ayant une forte densité d'habitat linéaire (bord de champ boisé, haies, clôtures) que dans des paysages moins riches en structures linéaires (bois, prairie, haies ; Osborne *et al.* 2007). Les changements dans l'utilisation des territoires ont conduit à une modification de la distribution, à la fois temporelle et spatiale, des ressources affectant ainsi les communautés des pollinisateurs (Westrich 1996). Pour maintenir les populations au sein d'un paysage, les abeilles sauvages ont besoin de ressources alimentaires (pollen et nectar) pour les adultes et les larves. En conséquence, l'abondance et la diversité en abeilles et en fleurs sont positivement corrélées (Potts *et al.* 2003). D'autre part, la pérennité des sites de nidifications est également nécessaire au maintien des populations d'abeilles. La diversité des abeilles est dépendante de la diversité des sites potentiels pour la nidification et de la disponibilité des matériaux de construction dans le paysage (Potts *et al.* 2005). De plus, ces ressources doivent être disponibles dans la zone de butinage des espèces (Westrich 1996). Enfin, à une échelle locale, la biodiversité des abeilles dépend de facteurs abiotiques et biotiques comme la compétition, la prédation et les maladies (Kremen *et al.* 2007).

L'agriculture intensive affecte négativement les communautés d'abeilles sauvages par (i) l'utilisation d'engrais, d'herbicides et d'une fauche intensive réduisant les ressources florales dans l'agrosystème (bordures et intérieur du champ, bordures des routes) (De Snoo 1999, Kleijn and Verbeek, 2000, Hyvönen *et al.* 2003), (ii) l'augmentation de la taille des surfaces cultivées induisant une perte des habitats favorables (Klemm 1996), (iii) les champs cultivés qui sont des zones fortement perturbées dans lesquelles le labourage, la plantation et la récolte

empêchent la nidification des espèces terricoles (Shuler *et al.* 2005; Morandin *et al.* 2007) et (iv) l'utilisation d'insecticides et d'autres pesticides qui induisent une mortalité directe ou un effet subléthal (Tesoriero *et al.* 2003, Desneux *et al.* 2007). Cependant, l'intensification de l'utilisation du territoire, se traduisant par l'augmentation des zones agricoles, combinée à une diminution et/ou une fragmentation des habitats semi-naturels (Kremen *et al.* 2007), pourrait ne pas induire une disparition de l'ensemble des abeilles dans les agro-écosystèmes. En effet, ces perturbations pourraient induire un changement dans la composition des communautés par une augmentation des populations d'abeilles les plus résilientes et une diminution des populations d'espèces les plus vulnérables (Carré *et al.* 2009). Mais, à l'échelle du paysage, la plupart des études ont démontré un effet négatif de la destruction et de la fragmentation des habitats semi-naturels sur la composition des communautés d'abeilles (Brosi *et al.* 2007, Fischer & Lindenmayer 2007, Steffan-Dewenter & Westphal 2008, Gonzalez *et al.* 2009, Bommarco *et al.* 2010, Holzschuch *et al.* 2010, Krauss *et al.* 2010). Ainsi les bords de champs, de routes et de chemins sont des éléments importants du paysage pour les abeilles, et leur qualité dépend à la fois de leur nature et de leur gestion (Carvell *et al.* 2007; Ekroos *et al.* 2008; Hopwood, 2008). À l'échelle du champ, des effets négatifs des pratiques agricoles intensives ont été démontrés en comparant les cultures biologiques et conventionnelles (Morandin & Winston 2005, Holzschuh *et al.* 2007).

Le déclin des pollinisateurs soulève des inquiétudes du fait de ses conséquences potentielles en termes de diminution du service écologique de pollinisation tant pour l'agriculture que pour les milieux naturels (Allen-Wardell *et al.* 1998, Kearns *et al.* 1998, Buchmann & Nabhan 1996, Corbet 1997, Chapin *et al.* 2000, Naeem *et al.* 2002). L'étude pratique de ces conséquences fait référence aux études portant sur les déficits de pollinisation (avec l'utilisation de différentes terminologies comme *pollen deficit* - Ashman *et al.* 2004 ou *pollination failure* - Wilcock & Neiland 2002).

Au niveau des milieux naturels, Steffan-Dewenter & Tscharntke (1999) ont montré que la diminution des habitats naturels entraînait la diminution de l'abondance et de la diversité des pollinisateurs, ce qui se traduit par une chute du succès reproducteur des plantes et donc par un déficit de pollinisation. Ce type de résultat a également été confirmé au niveau du succès reproducteur de trois espèces de plantes rares adventices des cultures (Gibson *et al.* 2006).

Dans les agroécosystèmes, la pollinisation par les abeilles est à la fois un service écologique (Myers 1996, Balvanera *et al.* 2001, Kremen *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2007) et un service intrant en agriculture (Free 1993, Delaplane & Mayer 2000, Velthuis & van Doorn 2006).

Depuis longtemps, la pollinisation a été traitée comme une pratique culturale servant à optimiser les différentes composantes d'une production agricole (Estes *et al.* 1983). Cependant, des cas de diminution ou de perte de productions directement liée à des déficits de pollinisation ont été observés comme en 2006 par la crise de pollinisation des vergers d'amandiers en Californie (Holden 2006). D'autre part, sur le tournesol en production de semences hybrides, le taux de fructification des capitules mâle stérile est étroitement corrélé à la population totale d'abeilles domestiques et sauvages (Degrandi-Hoffman & Watkins 2000).

Ainsi, les variations, à la fois dans l'abondance et dans la composition, des communautés d'insectes pollinisateurs au sein des paysages naturels et/ou agricoles peuvent engendrer un impact important sur les flux de gènes. On peut peut donc s'interroger sur l'effet de chaqu'une de ces variations sur les flux de gènes, et plus spécifiquement ceux liés au pollen. D'une part, une baisse de l'abondance des insectes pollinisateurs pourrait engendrer une diminution des événements de pollinisations et donc soit pour pauser des problèmes de maintien des populations végétales « sauvages » présentes dans le milieu (manque de brassage génétiques pouvant engendrer des évènements de consanguinité ou une absence totale de fécondation), soit par une baisse de la production des cultures présentes. D'autre part, un changement dans la composition des communautés des insectes pollinisateurs pourrait engendrer des effets des dispersions de gènes *via* le pollen sur des échelles plus ou moins importantes, et ainsi engendrer des problèmes de pureté dans le cas de cultures de semences ou de contamination dans le cas de cultures GM.

3. LA DISPERSION POLLINIQUE DANS UN CONTEXTE AGRICOLE

La dispersion du pollen, liée au vent et principalement aux insectes, a fait l'objet de plusieurs études. En effet, la dispersion du pollen a été initialement étudiée afin de comprendre l'évolution génétique et la conservation des plantes à fleurs (Ellstrand 1992, Sork *et al.* 1999). Plus récemment, les études des flux polliniques ont été réalisées dans le contexte des cultures GM et c'est dans ce contexte que je propose de les aborder dans la partie qui suit. Les flux de pollen au cœur de l'agro-écosystème font encore l'objet de questionnements et plus spécifiquement lors des évènements de pollinisation à longue distance.

Depuis la commercialisation des PGM dans les années 1990, un certain nombre de modèles ont été développés afin de prédire/simuler les flux de pollen transgénique d'un donneur (source) GM vers une population réceptrice (puits) non-GM. Une grande partie de ces modèles ont été développés et testés en Europe, où la production de PGM à finalité commerciale est limitée à 8 des 27 pays de l'Union Européenne (James 2007). Les modèles ont été principalement réalisés sur la culture de colza GM mais également sur les cultures de maïs (Beckie & Hall 2008).

3.1. DES METHODES POUR CAPTER LE POLLEN

La dispersion du pollen peut être estimée à partir de capteurs déterminant l'abondance de pollen reçu en plusieurs points donnés. En disposant des plantes sources connues, isolées d'autres sources non contrôlées, on peut estimer la dispersion du pollen issu de ces sources en disposant des capteurs placés dans le voisinage de ces sources. Les capteurs de pollen peuvent être physiques[5] : des lames enduites de substance collante (Bateman 1947) ou des capteurs volumétriques (Timmons *et al.* 1995) ou biologiques (Tonsor 1985) en utilisant des plantes mâle-stériles. Les données observées correspondent aux nombres de grains de pollen reçus sur chaque capteur. Pour les capteurs biologiques, le nombre de grains de pollen reçus sera estimé en utilisant le nombre de graines produites par ces plantes (Darmency *et al.* 2009). Mais dans ce cas, le nombre d'ovules étant limité par rapport au nombre de grains de pollen, la saturation est parfois atteinte pour certaines distances (notamment les courtes). La dispersion du pollen peut aussi être estimée à partir de poudres fluorescentes (Van Rossum 2009). Les étamines des plantes sources sont enduites de poudre fluorescente et les an- thères des plantes

réceptrices sont observées sous lampe UV. Le nombre de grains de poudre fluorescente reçus par chaque plante connaissant la position des plantes émettrices est ainsi observé.

Les méthodes d'estimation de la dispersion des gènes à partir de données d'abondance (graines, pollen) présentent des inconvénients majeurs. Dans toutes ces expériences, la distribution de la dispersion du pollen en fonction de la distance est déduite de l'observation de la distribution spatiale du nombre de grains de pollen en fonction de la position des sources. Cependant deux informations essentielles concernant la fertilité mâle des sources font défaut dans ces méthodes : (i) elles sont très dépendantes du nombre de grains de pollen émis par les différentes sources (ici : les champs et les populations férales ; les plantes pères), et (ii) parmi les grains de pollen récoltés, il est difficile de discriminer ces sources (Timmons *et al.* 1995, Darmency *et al.* 2009). Or, lors de la fécondation, une graine reçoit la moitié du génotype de son père. Elle possède donc intrinsèquement une information, partielle, sur l'identité de son père. La caractérisation de la dispersion des gènes par le pollen permet (i) de mieux interpréter les structures génétiques spatiales des populations de plantes et (ii) d'obtenir des prédictions plus précises concernant le devenir des populations (Alleaume-Benharira *et al.* 2006). Ainsi, en se basant sur les structures génétiques des populations et les prédictions issues des analyses, il est possible de mettre en place des politiques de conservation des populations étudiées et de gestion plus adaptées et donc plus efficaces (Sork *et al.* 1999) et plus particulièrement dans les problématiques de coexistence entre culture GM et non-GM.

3.2. DES ANALYSES GENETIQUES POUR COMPRENDRE LES FLUX DE GENES

Les domaines de la biologie évolutive et de la biologie de la conservation nécessitent la compréhension et l'estimation des flux de gènes. En effet, ces derniers jouent un rôle prépondérant dans le devenir des populations en déterminant l'évolution de leur diversité génétique (i.e. la variabilité des gènes entre les individus). La diversité génétique permet de déterminer la consanguinité des individus (Spielman *et al.* 2004) mais aussi la capacité de la population à s'adapter à de nouveaux environnements (Ellstrand & Elam 1993).

Plus précisément, les flux de gènes déterminent la connectivité génétique entre les populations (Sork *et al.* 2002). Lorsqu'ils sont limités, cela crée un isolement génétique (i.e. les populations sont génétiquement isolées les unes des autres) et conduit à la diminution de l'effectif efficace de la population (Wright 1943). Or, les populations de faibles effectifs

efficaces sont particulièrement vulnérables aux risques d'extinction. En effet, ce faible effectif augmente la probabilité de croisements entre individus génétiquement apparentés. Ces populations peuvent donc présenter une plus forte consanguinité pouvant s'exprimer par de la dépression de consanguinité (Beardmore 1983).

Les relations d'apparentement entre individus permettent également de fournir des informations sur la biologie de la pollinisation et notamment sur le régime de reproduction lié aux échanges dans l'espace entre les individus (outcrossing). Ainsi, la structure génétique spatiale des populations de plantes, dont la reproduction est due à la pollinisation, est dépendante de plusieurs facteurs biologiques dont certains sont liés plus particulièrement à la biologie florale, à la phénologie de l'espèce, au niveau de floraison, à la dispersion pollinique, à la densité des plantes, aux comportements des pollinisateurs (Kwak *et al.* 1998, Van Rossum *et al.* 2004, Vekemans & Hardy 2004).

3.2.1. DES ANALYSES BASEES SUR LES GRAINES

Les informations génétiques peuvent s'exprimer au niveau du phénotype de la graine (c'est-à-dire sous la forme d'un caractère observable). En utilisant un caractère héréditaire observable, il est possible d'estimer la dispersion du pollen en associant chaque graine à son père. Les méthodes les plus représentatives de ce type d'approche reposent sur l'observation d'un caractère présentant deux phénotypes possibles ([*A*] et [*a*]), contrôlé par un gène présentant deux allèles dont l'un est dominant (*A*) et l'autre récessif (*a*). Plus précisément, si un individu possède un des couples d'allèles *AA* ou *Aa*, il aura le phénotype [*A*] sinon, s'il possède *aa*, son phénotype sera [*a*]. Deux sources de pollen pourront ainsi être discriminées, en utilisant des plantes de génotype (*aa*) comme capteur, une première source composée de plantes homozygotes pour l'allèle dominant (c'est-à-dire portant *AA*) et une deuxième composée de plantes homozygotes pour l'allèle récessif (c'est-à-dire portant *aa*). Dans notre cas des plantes de colza MS de la variété Yudal, qui sont homozygotes récessifs pour chaque gène, ont été utilisées comme capteur. Chaque graine observée possède donc un allèle *a* de sa mère et un autre issu d'une des deux sources. La provenance du grain de pollen, dont elle est issue, est simple à déterminer : si la graine exprime un phénotype [*A*] (et donc si elle porte les allèles *Aa*), le grain de pollen provient de la première source (*AA*) ; sinon ([*a*] et *aa*) il est issu de la seconde (*aa*). Cette approche a été appliquée principalement sur des espèces cultivées, en utilisant différents caractères comme la couleur des graines (sur le maïs, Bateman 1947 ; Klein *et al*. 2003), la couleur des fleurs obtenues à partir des graines (sur le radis et le navet,

Bateman 1947), la résistance à un herbicide (sur le colza, Lavigne *et al.* 1998) ou à un antibiotique (sur le tabac, Paul *et al.* 1995). Cependant les caractères phénotypiques sont très peu polymorphes, ils ne permettent donc de discriminer que très peu de sources. De plus, ils sont souvent dominants ou récessifs, ce qui nécessite de contrôler le génotype des sources (qui doivent toutes être homozygotes). Pour dépasser ces limites, les méthodes actuelles utilisent des marqueurs génétiques moléculaires qui identifient non pas les différentes formes de l'expression de certains gènes mais directement les différences entre les séquences d'ADN des individus à certains locus (i.e. pour des emplacements physiques précis et invariables dans le génome).

3.2.2. LES MICROSATELITTES POUR DECRIRE LES GENES

Actuellement parmi les nombreux marqueurs moléculaires développés, la majorité des études utilisent des marqueurs microsatellites dont les différents allèles décrivent la variation du nombre de répétitions d'un motif court de quelques bases (le plus souvent une à quatre). En effet ces marqueurs possèdent de nombreux avantages : (i) ils sont situés dans des régions non codantes du génome (c'est-à-dire qui ne sont pas transcrites en protéines) et pour cette raison sont considérés comme neutres (c'est-à-dire ne participant pas à la sélection), (ii) ils sont très polymorphes (c'est-à-dire qu'ils possèdent de nombreux allèles), (iii) ils sont codominants (il est possible de distinguer les individus hétérozygotes des homozygotes) et (iv) ils sont situés dans le génome nucléaire transmis par les deux parents ou bien dans des organites (chloroplastes ou mitochondries) transmis uniquement par voie paternelle (pollen chez les gymnospermes) ou maternelle (graines chez les angiospermes) (Ouborg *et al*. 1999). L'étude menée par C. Devaux (2006) sur l'estimation des flux de pollen de colza a été réalisée par une analyse de paternité qui consistait dans un premier temps à identifier génétiquement le père d'une graine récoltée sur une mère connue et éventuellement, dans un deuxième temps, à retrouver la position de ce père par rapport à cette mère, afin d'établir un modèle permettant l'estimation et la prédiction de la proportion de pollen provenant de chaque champ de la région servant à pollinisé des plantes de populations férales dispersées dans le paysage. Cependant, les résultats de cette étude ne permettent pas d'une part de conclure sur les événements à longue distance (c'est-à-dire au-delà de 200 m) et d'autre part d'expliquer le fort niveaux de différenciation génétique du nuage pollinique pour chaque distance échantillonnée. Ainsi, mes travaux de thèse pourraient apporter des éléments nouveaux permettant d'une part de mieux comprendre les événements de pollinisation à longue distance

et d'autre part de mieux estimer la structure et la diversité génétique du nuage pollinique au sein d'un paysage agricole.

3.3. LA MODELISATION DE LA DISPERSION POLLINIQUE

L'établissement d'un modèle de dispersion nécessite la prise en compte d'un certain nombre de paramètres biologiques (espèces cultivées, type de pollinisation), environnementaux (climat, contexte paysager, taille des parcelles) ainsi que les scénarios de gestion des cultures et leurs interactions qui influencent la fréquence et la distance des flux de pollen entre le donneur et le récepteur. Il est nécessaire d'observer le type de vecteur (vent et/ou insectes), les génotypes et/ou les cultivars, la fertilité du récepteur (mâle-fertiles ou mâle-stériles), la viabilité et la longévité du pollen, la synchronisation des périodes de floraison et/ou de la production du pollen, la vitesse et la direction du vent, la température, l'humidité, la surface, la forme et la densité des champs donneurs et récepteurs. A l'échelle du paysage, il faut tenir compte également du contexte paysager, de la végétation, de la distribution et de l'abondance des « volunteers » (repousses dans les champs) et des populations férales (repousses en bordure des champs).

Dans les années 1980, les modèles de flux de gènes et de dispersion du pollen portaient soit sur des dispersions à courtes distances basés sur l'étude du comportement des pollinisateurs (Levin *et al.*1981), soit mesuraient l'échelle spatiale des flux génétiques historiques en travaillant sur des populations supposées à l'équilibre génétique migration-dérive (modèles en îles de Wright 1946). Peu d'études portaient sur une évaluation fine des flux de gènes (Sork *et al.* 1999) nécessaire pour l'évaluation dans les agro-écosystèmes où les différentes cultures peuvent créer un déséquilibre. Les connaissances sur le transport de pollen, issues de la bioclimatologie, ne portaient pas sur des flux de pollen efficaces pour la pollinisation mais sur des comptages de particules, sans information sur la viabilité du pollen (Raynor *et al.* 1971). D'autre part, ni la taille ni la forme des parcelles émettrices et réceptrices de pollen n'étaient prises en compte (Tufto *et al.* 1997) ce qui est nécessaire pour définir des règles optimales d'isolement des PGM. En effet, le taux de pollinisation croisée (cross pollination rate, CPR) entre deux champs varie en fonction de la distance entre les deux champs et de la taille des champs. Un CPR maximal se produit lorsque le champ émetteur est de très grande taille par rapport au champ récepteur et que la distance entre les deux est faible (Klein *et al.* 2006).

4. LES ORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES: HISTOIRE, CONSEQUENCES ET GESTION

Le terme « organisme génétiquement modifié » (OGM) a été défini par l'Union Européenne comme un organisme dans lequel le matériel génétique a été altéré d'une manière qui ne se produit pas naturellement (par reproduction et/ou recombinaison) (2001/18/EG, Article 2 of the EU Directive on the Deliberate Release into the Environment of Genetically Modified Organisms).

4.1. LE DEBUT DES PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES (PGM)

L'histoire des plantes transgéniques est récente puisque, au niveau expérimental, la mise au point de la première plante transgénique, un tabac (*Nicotiana tabacum* L.) remonte à 1983. Dès 1986 les premiers essais en champs ont été réalisés aux États-Unis à partir d'un tabac résistant à un antibiotique (Barton *et al.* 1987, Hilder *et al.* 1987). En 1986, la Commission de Génie Biomoléculaire (CGB), sous la tutelle du Ministère de l'Agriculture, est créée en France afin d'évaluer, au cas par cas et avant toute autorisation, les risques potentiels pour la santé publique et pour l'environnement liés à la dissémination d'OGM. Cette instance consultative, composée d'experts scientifiques, est obligatoirement saisie par l'administration avant toute autorisation de dissémination volontaire d'OGM.

Ce n'est qu'à partir de 1994 qu'une variété de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) à maturation retardée (obtenteur Calgene) est commercialisée aux États-Unis. Puis en 1995, c'est une variété de maïs (*Zea mays* L.) résistant à la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis* (Hübner)) à l'aide de l'introduction d'un transgène codant pour une toxine de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), dit maïs *Bt*, qui fait son apparition sur le marché, toujours aux USA.

En Europe, la première commercialisation date de 1996 au Royaume-Uni avec une variété de tomate transgénique présentant un avantage pour toutes les étapes de récolte et de transformation grâce à une maturation plus lente (obtenteur Zeneca Plant Science ; Meunier 2004). La même année, la Communauté Européenne (CE) autorise la culture d'un maïs *Bt* de l'obtenteur Novartis et l'importation du soja *Glycine max* (L.) Merr. résistant au Roundup® de la société Monsanto. En 1997, la CE autorise également l'importation et la culture du maïs *Bt* de la variété « Pactol » pour l'alimentation humaine et animale et homologue plusieurs

autres variétés de maïs transgéniques en 1998 (3 variétés de maïs *Bt* autorisé en France). Cependant, simultanément, la France, l'Italie, la Grèce, le Danemark et le Luxembourg déposent un moratoire pour le colza et la betterave. A partir de cette date, et de cette controverse, le dossier OGM devient un sujet de société avec des débats très fréquents, passionnés et polémiques.

En 1999, l'Europe adopte un moratoire sur toutes les variétés transgéniques et instaure que tout ingrédient dérivé d'OGM et destiné à l'alimentation humaine doit être étiqueté comme tel, à partir d'un seuil minimal de 1% de présence fortuite dans chaque composant. En 2004, l'Europe lève le moratoire sur les variétés transgéniques et place le seuil minimal autorisé à 0,9%. En 2008, la France engage une procédure contradictoire afin de déposer une clause de sauvegarde sur la culture du maïs MON810 (obtenteur Monsanto), jusqu'à la réévaluation par les instances européennes de l'autorisation de commercialisation et décide de suspendre l'autorisation de la culture de cette PGM. La même année, la CGB est remplacée par le Haut Conseil des Biotechnologies (HCB). Le HCB a pour mission d'éclairer le gouvernement français sur toutes questions intéressant les OGM ou toutes autres biotechnologies 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 des OGM,
- de surveillance biologique du territoire afin de s'assurer de l'état sanitaire et phytosanitaire des végétaux et de suivre l'apparition éventuelle d'effets non intentionnels des pratiques agricoles sur l'environnement (Loi n°2008-595 du 25 juin 2008 - art. 3).

Dans son rapport annuel publié en 2009, l'ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications) estime que la surface des cultures GM a atteint 134 millions d'hectares dans le monde, soit une multiplication par 80 depuis 1996. De ce fait, la transgénèse constitue la technologie végétale adoptée le plus rapidement dans l'histoire récente de l'agriculture. Les sojas GM ont occupé plus des trois quarts des 90 millions d'hectares de soja dans le monde, les cotonniers GM près de la moitié des 33 millions d'hectares mondiaux des cotonniers *Gossypium hirsutum* L., les maïs GM près d'un quart des 158 millions d'hectares mondiaux de maïs et les colzas GM plus d'un cinquième des 31 millions d'hectares mondiaux de colza. Les surfaces de PGM ont continué à croître en 2009 même dans les pays où les taux d'adoption étaient déjà élevés. Par exemple l'adoption du cotonnier *Bt* en Inde est passée de 80% en 2008 à 87% en 2009 et le colza GM au Canada de 87% en 2008 à 93% en 2009. Le soja GM continue d'être la PGM la plus répandue, occupant

52% des 134 millions d'hectares des cultures GM (toutes espèces confondues) et la tolérance à un herbicide le caractère le plus répandu avec 62% des surfaces GM cultivées (James 2009).

4.2. LES CONSEQUENCES ET LA GESTION SUITE A LA MISE EN CULTURES DE PGM

4.2.1. LA MISE EN CULTURE DE PGM COMPORTE-T-ELLE DES RISQUES ?

La notion de risques comprend deux composantes. D'une part, la probabilité qu'un événement se produise et, d'autre part, les conséquences de cet événement. Le risque est alors le produit de ces deux composantes. Cependant, malgré ces deux composantes, dans la présentation des risques de la mise en culture de PGM, les dommages qui pourraient être occasionnés si l'événement se produisait sont souvent mis en avant tandis que la probabilité de réalisation de l'évènement est souvent oubliée (Bonny 2003). Dans cette partie, nous nous concentrerons uniquement sur l'évaluation des risques environnementaux, les risques sanitaires et socio-économiques étant décrits plus brièvement respectivement dans les encadrés 1 et 2.

L'évaluation des risques environnementaux est effectuée initialement sur la base des études préalables qui sont fournies dans le dossier de demande de validation (dans un but de commercialisation) d'une PGM, complétées si nécessaire selon les exigences des instances indépendantes nationales d'évaluation. Elle s'appuie également sur le résultat d'études et de recherches conduites par les organismes de recherche publics, en France comme dans de nombreux autres pays d'Europe et du monde. Il est important que l'impact environnemental des PGM fasse l'objet d'une surveillance continue, pour identifier les effets éventuels qui n'auraient pas été identifiés lors de l'évaluation préalable.

L'évaluation des risques pour l'environnement est effectuée en France par le HCB chargé d'évaluer ces risques, et, en Europe, par les instances d'évaluation de chaque Etat membre et par les Comités scientifiques compétents placés auprès de la Commission européenne. Les experts de ces Commissions d'évaluation sont des scientifiques indépendants qui s'appuient sur les connaissances les plus récentes (http://www.ogm.gouv.fr/).

Les risques environnementaux, liés aux PGM, doivent être évalués au cas par cas et dépendent des caractéristiques intrinsèques de la PGM, de l'agro-écosystème dans lequel la plante est cultivée, de la façon dont elle est cultivée et enfin de la législation encadrant cette culture (Ervin *et al.* 2003). Les risques diffèrent notamment selon le type de résistance conférée par le transgène. Actuellement, les PGM cultivées dans le monde concernent

principalement 4 espèces (soja, maïs, cotonnier et colza) et essentiellement deux caractères (tolérance aux herbicides, résistance aux insectes ou une combinaison des deux).

La mise en culture des PGM peut avoir un impact tant positif que négatif sur l'environnement. Les modifications introduites dans une PGM, ou les propriétés totalement nouvelles qui peuvent être conférées à un organisme grâce au génie génétique, soulèvent des questions sur les impacts potentiels pour la biodiversité. Les principaux risques pour l'environnement peuvent être : (i) la prolifération de populations "échappées" de la culture GM ou d'une plante sauvage ayant reçu un transgène induisant une modification du potentiel invasif des plantes (Garnier & Lecomte 2006), (ii) des impacts potentiels sur l'abondance et la diversité des communautés végétales et/ou animales (Holt 1993, Mc Kenzi & Batterham 1994), (iii) la pollution de l'environnement possible par des substances issues de variétés transgéniques, (iv) le transfert du transgène vers les espèces proches (potentiellement adventices des cultures) et/ou vers les cultures non-GM.

Le transfert de matériels GM vers des cultures non-GM peut avoir lieu aux différentes étapes de l'activité agricole (semis, récolte, stockage) et nécessite l'application de mesures afin d'assurer la « pureté » des différentes filières agricoles.

Les risques sanitaires identifiés par la consommation d'aliments issus des PGM sont les allergies alimentaires, la toxicité et le développement d'une résistance à certains antibiotiques.

LE RISQUE D'ALLERGIE ALIMENTAIRE

Il n'est pas exclu que les aliments génétiquement modifiés ou issus de PGM puissent être sources d'allergies alimentaires, soit par insertion d'un gène qui conduirait à la synthèse d'une protéine allergénique, soit par modification du fonctionnement du métabolisme ou de certains gènes de l'organisme receveur générant la production d'une nouvelle protéine susceptible de provoquer des allergies (van Putten *et al.* 2010). Cependant, les études réalisées ne permettent pas de conclure si les aliments issus de PGM sont plus ou moins allergisants que les aliments traditionnels correspondants. De plus, les tests préalables visant à évaluer le risque allergisant d'une PGM permettent d'interdire sa commercialisation le cas échéant (Goodman *et al.* 2005, 2008) comme par exemple pour le soja transformé avec un gène de la noix du Brésil, déjà connu pour être un aliment allergisant (Nordlee *et al.* 1996 in Taylor 1997, van Putten *et al.* 2010).

LE RISQUE DE TOXICITE

Les dangers objectifs concernant la sécurité alimentaire des aliments dérivant des PGM peuvent être dus principalement à :

- un effet direct du transgène qui induit des effets toxiques (ou allergéniques, comme vu ci-dessus).
- un effet indirect du transgène qui provoque des interactions métaboliques qui peuvent faire apparaître ou accumuler des métabolites toxiques
- l'extinction ou l'expression de gènes ou de séquences s'exprimant ou non avant la transformation ce qui pourrait engendrer la production de substances toxiques.

LE RISQUE DE DEVELOPPEMENT D'UNE RESISTANCE A CERTAINS ANTIBIOTIQUES

Des gènes de résistance aux antibiotiques étaient utilisés comme marqueurs dans le processus de création des PGM (Benett *et al.* 2004) et faisaient donc partie intégrante du génome de la PGM créée (Duggan *et al.* 2000). En présence d'un marqueur de résistance à un antibiotique, la crainte *a priori* était d'observer un transfert de cette résistance soit aux bactéries du sol soit à celles de l'intestin des consommateurs, ce qui contribuerait à créer des bactéries résistantes aux antibiotiques (Chassy 2002). En 2008, une étude a démontré qu'aucune différence significative n'était observée dans les niveaux de résistance à un antibiotique des populations de bactéries présentes dans les sols de cultures GM ou non-GM de maïs (Demanèche *et al.* 2008).

Encadré 1. Les risques sanitaires liés à la culture de plantes génétiquement modifiées

Pour que l'exploitant ait un intérêt économique à cultiver les PGM, le surcoût des semences doit être inférieur aux gains apportés par l'augmentation des rendements et/ou la diminution des coûts de traitements. Certaines variétés transgéniques actuelles, résistantes aux insectes ou aux herbicides, semblent présenter un gain réel pour l'agriculteur, mais les études sont souvent incomplètes et menées sur des périodes trop courtes pour pouvoir vraiment juger (Lemarié 2001).

La capacité de développer et d'introduire les biotechnologies est aujourd'hui quasi exclusivement sous le contrôle de firmes multinationales dans le domaine de l'agrochimie comme Monsanto, Bayer CropScience, Syngenta. Les biotechnologies présentent un intérêt économique pour l'agriculteur, mais, la question sur le risque d'augmentation de la dépendance des agriculteurs vis-àvis des firmes qui les produisent doit être posée. En effet, pour les variétés transgéniques résistantes aux herbicides, l'agriculteur, en achetant les semences, est de fait obligé d'acheter aussi l'herbicide à la même entreprise, d'où une perte de liberté. Cette perte de liberté n'est acceptable que si l'agriculteur y trouve un avantage. En outre, des contrats sont établis entre entreprises semencières et agriculteurs obligeant le rachat de semences chaque année.

Une variété végétale sélectionnée est une invention particulière. C'est une création qui ne peut répondre à l'octroi d'un brevet. Elle est protégée par un Certificat d'Obtention Végétale (COV) qui interdit la commercialisation de la variété par d'autres sélectionneurs que l'obtenteur. Ce système prévoit que l'agriculteur puisse prendre comme semences une partie de sa récolte pour réensemencer ses champs en payant une faible redevance, ou pour certaines une contribution obligatoire. La mise au point d'une nouvelle variété à partir d'une variété protégée par un COV est permise et la nouvelle variété peut être mise sur le marché sans que l'inventeur ne doive quoi que ce soit au détenteur du COV. Par contre, un transgène est brevetable. Il se pose alors la question de la possibilité de breveter la variété qui le porte, ce qui entraînerait la disparition de ce droit de réensemencer et d'utiliser cette variété pour l'obtention d'une nouvelle variété, induisant le ralentissement du progrès technique (Gallais & Ricroch, 2006).

Encadré 2. Les risques socio-économiques liés à la culture de plantes génétiquement modifiées

4.2.2. LA PRESENCE FORTUITE DE MATERIEL TRANSGENIQUE DANS LES FILIERES AGRICOLES

Les surfaces agricoles cultivées en PGM couvrent aujourd'hui plus de 134 millions d'hectares qui se répartissent dans plus de 20 pays (James 2009). Inévitablement, les plantes GM et non-GM d'espèces identiques peuvent être ou pourront être cultivées dans un environnement proche, en fonction de la législation en vigeur dans le pays. Le risque de flux de gènes vers les cultures non transgéniques de la même espèce est celui d'affecter la pureté des productions.

La présence fortuite de matériel GM dans les productions non-GM peut se produire par différentes voies (Figure 4, Ramessar *et al.* 2010) :

- la persistance des graines GM dans la banque de graines du sol et repoussant avec le nouveau semis à l'intérieur ou en bordure d'une parcelle agricole : mélange des graines issues des repousses des PGM et du semis ;
- l'utilisation d'un même appareillage matériel de récolte et/ou de transport post-récolte des graines pour les parcelles GM et non-GM ;
- la présence de graines GM dans un lot de semences conventionnelles, par exemple par l'utilisation d'un même lieu de stockage ;
- la fécondation croisée entre les parcelles GM et non-GM par les flux de pollen ;
- la perte de graines lors du trajet des champs vers les silos.

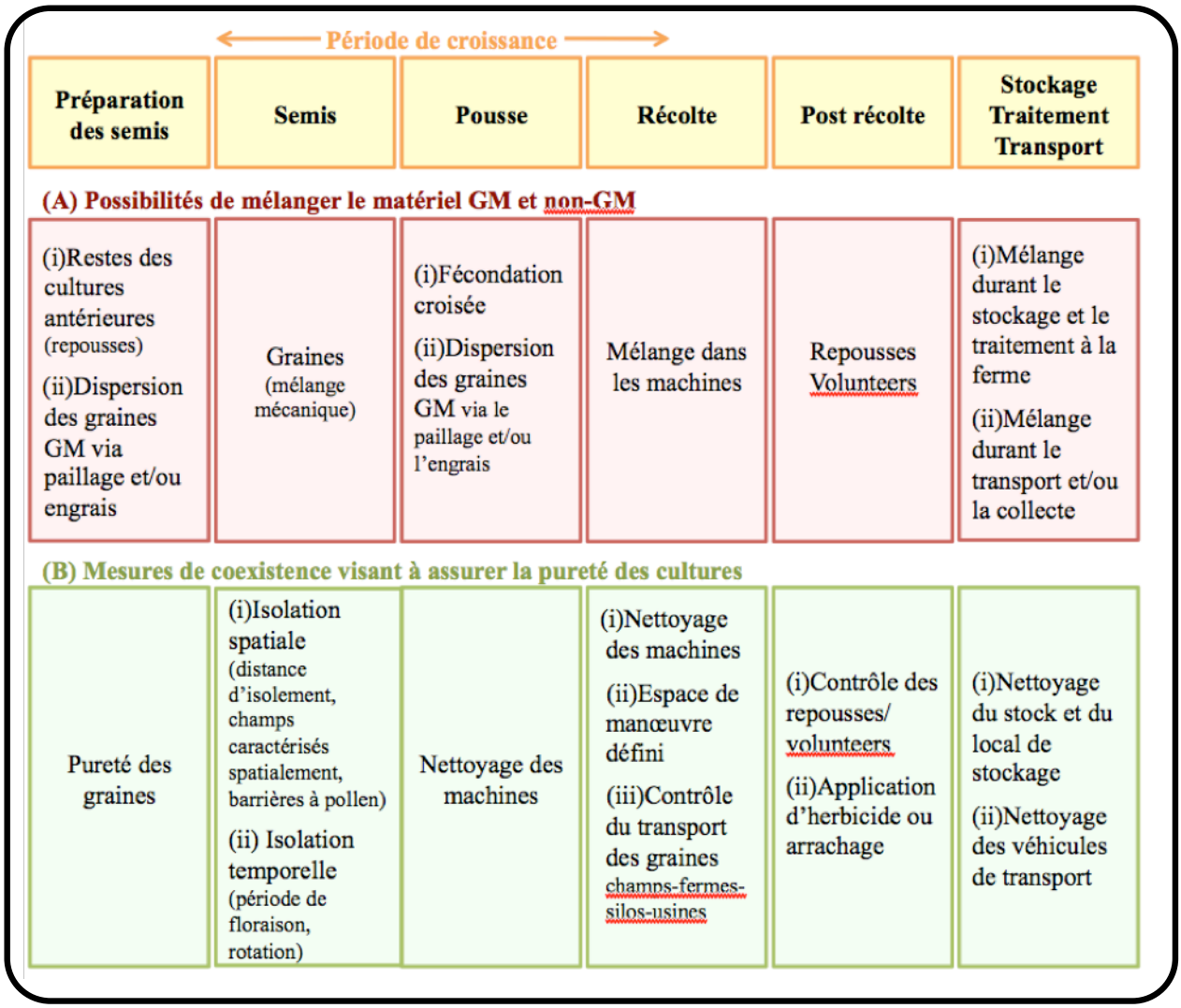


Figure 4. Les différentes voies possibles pour la présence fortuite de matériel GM dans les cultures non-GM. (A) Étapes durant lesquelles il peut y avoir un mélange accidentel entre les cultures GM et non-GM dans une ferme ; (B) Ferme où les mesures de coexistence, pour assurer la pureté des cultures durant la production, sont appliquées (d'après Ramessar *et al.* 2010).

4.2.3. LA COEXISTENCE DES FILIERES

Depuis 2003, la Commission Européenne (CE) a légiféré, afin de limiter la présence fortuite de matériel GM dans les productions garanties sans OGM, *a fortiori* les cultures biologiques et les produits labellisés tels que les productions d'appellation d'origine controllée (AOC). Dans ce texte la CE définit la coexistence des filières comme suit : « *Coexistence refers to the ability of famers to make a pratical choice between conventional, organic and GM crop*

production, in compliance with the legal obligations for labelling and/or purity standards » (document C2003 2624 notifiant les recommandations de la Commission du 23 juillet 2003).
Pour rendre possible la coexistence entre les divers modes de production, de faibles taux de présence fortuite sont acceptés avec un seuil de présence maximale fixé à 0,9% (teneur du produit final en matériel GM) pour les productions issus d'une agriculture conventionnelle et à 0% pour les productions issues de l'agriculture biologique (directive 2001/18/CE modifiée). Afin d'éviter une présence fortuite trop importante, la première solution envisagée est d'exiger un isolement des cultures.

4.2.4. DES MESURES D'ISOLEMENT SPATIAL ET TEMPOREL

Certaines mesures de coexistence des filières GM et non-GM ont été proposées afin de limiter d'éventuelles « contaminations »: (i) mise en place d'une zone tampon (cultivée avec des plantes non transgéniques) autour du champ de culture des PGM ; (ii) augmentation de la distance entre les champs GM et non-GM (distance d'isolement) ; (iii) mise en place de barrières végétales (haies hautes), afin de piéger le pollen lors de son transport ; (iv) mise en place de zones géographiques entièrement réservées aux PGM ; (v) décalage des dates de floraison et donc des dates de semis. A ces mesures d'isolements « anti-géniques », il faut ajouter des mesures de ségrégation des filières, techniquement plus complexes et plus coûteuses. En effet, certains chercheurs estiment que la contamination des filières non-GM par des PGM est plus liée à des causes humaines que biologiques (Ramessar *et al.* 2010).
Toutes ces mesures nécessitent des précisions techniques. Par exemple, les distances d'isolements requièrent de connaître au préalable les distances de dispersion des graines et/ou du pollen afin de délimiter un périmètre de sécurité. Au Canada, la loi impose une distance comprise entre 400 et 800 m. Cependant dans le cas du colza il a été démontré que le pollen pouvait être dispersé sur plusieurs kilomètres (Ramsay *et al.* 2003, Devaux *et al.* 2005, Hayter & Cresswell 2006). L'application de mesures d'isolement doit être évaluée en fonction de la culture GM mise en place et de la zone géographique.

4.2.5. UNE AUTRE UTILISATION DES PGM

Bien que largement utilisée dans le domaine de l'agro-alimentaire à travers la production de plantes transgéniques ou PGM, comme nous avons pu le voir ci-dessus, les OGM sont également utilisées dans le milieu médical.

En effet, les OGM sont utilisés depuis plusieurs dizaines d'années pour la production de molécules thérapeutiques sous forme recombinante. Alors qu' *Echerichia coli* et les levures ont été longtemps les seuls OGM utilisés pour ce type de production, au cours des dernières années, plusieurs protéines d'intérêt pharmaceutique ont également été produites avec succès dans des plantes transgéniques. Ce sont des protéines sanguines et plasmatiques (albumine humaine (Sijmons *et al.* 1990 ; Goddjin & Pen 1995), aprotinine (Zhong *et al.* 1999) enképhalines (Vandekerckhove *et al.* 1989), hémoglobine (Dieryck *et al.* 1995, Dieryck *et al.* 1997, Halling-Sorensen *et al.* 1998), des antigènes produits dans un but de vaccination (Richter *et al.* 2000), des facteurs de croissance, des hormones, cytokines (Goddjin & Pen 1995, James *et al.* 2000, Matsumoto *et al.* 1995), des enzymes à potentiel thérapeutique et des anticorps(Hamamoto *et al.* 1993, Cramer *et al.* 1996, Steiner 2000).

En santé humaine, les micro-organismes transformés permettent de produire des protéines indispensables qui auparavant étaient obtenues par extraction : insuline, hormone de croissance, facteurs sanguins de coagulation ou anticorps. Le risque principal était lié à la transmission de maladies. Ainsi, l'insuline recombinante produite par une bactérie a ouvert aux diabétiques des perspectives nouvelles. Abondante, mieux tolérée que l'insuline de porc parce que d'origine humaine, elle a, de plus, été améliorée pour leur rendre la vie plus facile (Faye *et al.* 2002).

Plus généralement, les micro-organismes transformés présentent des avantages majeurs pour l'industrie pharmaceutique :

- ils produisent en abondance des molécules complexes, peu abondantes dans la nature ;
- l'extraction est facilitée ;
- les infections d'origine animale ou humaine sont évitées ;
- la culture de bactéries ou de levures transformées en milieu clos, obéit aux règles très strictes appliquées aux agents pathogènes les plus dangereux pour l'homme (Faye *et al.* 2002).

Les bactéries, les levures et les cellules animales en culture sont à l'heure actuelle largement utilisées pour la production de protéines à usage thérapeutique. Cependant, ces procédés ne

sont pas assez productifs et restent coûteux, notamment parce qu'ils nécessitent le contrôle des virus pathogènes. C'est pourquoi de nombreuses plantes transgéniques produisant des molécules pharmaceutiques sont en cours de développement ou sur le point d'être commercialisées (Rérat 2003).

Le développement de PGM en vue de la production à grande échelle de composés utiles est appelé « moléculture » ou agriculture moléculaire. Le terme moléculture vient de la combinaison des mots bien connus molécule et culture. La moléculture est donc la culture de molécules. Ce mode de production vise à l'obtention de composés qui pourraient éventuellement être intégrés dans la fabrication de produits pharmaceutiques (vaccins, médicaments,...) et de matériaux divers. La moléculture végétale pourrait, entre autres, permettre une réduction importante du coût de production de molécules en comparaison des coûts actuels de production à l'aide des bioréacteurs industriels et la production de molécules dans des conditions sanitaires accrues (Faye *et al.* 2002).

De plus, les systèmes de production de protéines à intérêt pharmaceutique par les plantes présentent différentes caractéristiques et avantages :

- les cellules végétales étant des cellules eucaryotes (comme les cellules humaines), elles disposent d'un système permettant, dans de nombreux cas, de produire des protéines complexes, dotées des propriétés thérapeutiques équivalentes aux protéines humaines. La transgénèse végétale permet de fabriquer des vaccins impossibles à concevoir par les méthodes traditionnelles.
- Le niveau actuel des biotechnologies végétales permet de cibler de façon spécifique les tissus dans lesquels s'exprimera la protéine d'intérêt. En particulier, dans le cas du maïs, la protéine peut être ciblée dans les grains - ce qui permet un stockage efficace et facilite l'extraction et la purification de la protéine d'intérêt.
- L'extension de la culture des plantes productrices avec les infrastructures agricoles existantes permet une montée en puissance rapide et économique des capacités de production.
- Il n'existe pas, en l'état actuel des connaissances, de pathogènes végétaux capables d'infecter l'animal et l'homme. Ce qui élimine le risque d'infection ou de contamination virale par les protéines produites par les plantes - à la différence des protéines produites par des cellules de mammifères ou d'animaux transgéniques (Rérat 2003).

Le tabac, le maïs, la pomme de terre et la luzerne sont parmi les espèces actuellement utilisées pour la recherche en moléculture. Une fois modifiés, ces végétaux seront capables de produire facilement de nombreuses molécules complexes en quantité importante et à un coût inférieur aux méthodes d'extractions classiques (Tableau 3, Rérat 2003).

Tableau 3. Comparaison des différents systèmes de production de protéines recombinantes (d'après Rérat 2003).

	Bactérie	**Levure**	**Mammifères**	**Plantes**
Présence de pathogènes	Oui	Non	Oui	Non
Production	250 mg/L	200 mg/L	.	600 mg/kg de matière séche
Coût de production	200 à 3 000 $/g	.	100 $/g	10 à 50 $/g

5. LE CAS DU COLZA (*BRASSICA NAPUS*, BRASSICACEAE)

5.1. PRESENTATION DE L'ESPECE

Le colza, *Brassica napus* L. subsp. *napus*, est une plante annuelle ou bisannuelle, herbacée de la famille des Brassicaceae. Sa tige mesure en moyenne un mètre et ses feuilles sont glabres et glauques (Coste 1937, Figure 5). Ses fleurs jaunes, dont les sépales et les pétales sont disposés en croix, produisent du pollen et du nectar. Ces deux ressources sont facilement accessibles pour les insectes pollinisateurs qui sont principalement des abeilles (domestiques et sauvages) et des syrphes (Delbrassinne & Rasmont 1988, Brunel *et al.* 1992). Dans les paysages agricoles où la culture de colza est réalisée, sa floraison s'étale du début du printemps sur un ou deux mois (Husson & Leterme 1997). A cette période, elle est la plus importante comparée aux autres plantes à fleurs, ce qui en fait donc une ressource majeure pour beaucoup d'insectes pollinisateurs (Westphal *et al.* 2003).

Le colza est issu d'une hybridation naturelle de la navette (*Brassica campestris* L.) et du chou (*Brassica oleracea* L.). *Brassica napus* s'hybride, plus ou moins rarement, avec un certain nombre d'espèces sauvages apparentées, souvent adventices des cultures, au sein du genre *Brassica* (*Brassica rapa* L., *B. juncea* (L.) Czern*, B. carinata* A. Braun) ou même avec d'autres genres de Brassicaceae tels que *Raphanus raphanistrum* L., *Diplotaxis muralis* (L.) DC*., Eruca vesicaria* (L.) Cav*.,* et *Sinapis arvensis* L. (Chèvre *et al.*1997, Chèvre *et al.* 2007, Fitzjohn *et al.* 2007).

Figure 5. Illustration des différents éléments d'un plant de colza selon Fr. Eugen Köhler.

Il existe deux types de colza, (i) le colza de printemps et (ii) le colza d'hiver. Le colza de printemps est principalement cultivé dans les régions à hiver rude (Canada) ou à climat très sec (Australie). En France, il est peu utilisé car réputé plus fragile et moins productif que le colza d'hiver, cultivé chaque année sur une surface d'environ un million d'hectares. Le colza d'hiver est une plante annuelle qui a besoin de vernaliser pour fleurir, ce qui signifie que des températures basses et des jours courts sont nécessaires pour induire la floraison. Le cycle du colza d'hiver (Figure 6) débute, en général, à l'automne par la germination d'une graine, le développement d'une racine en pivot et d'une rosette d'une vingtaine de feuilles (

Figure 6 stade B). Le cycle se poursuit par la montaison qui se déroule au printemps : la tige principale se développe, puis des ramifications se mettent en place (montaison), avec à chaque extrémité une inflorescence, appelée également hampe florale (Figure 6 ; stade D). La floraison commence (Figure 6 ; stade F1) alors que la montaison n'est pas terminée et s'étale (Figure 6 ; stade F2) sur une période de plus d'un mois, souvent jusqu'à ce qu'un nombre suffisant de fleurs soient fécondées.

La fleur, hermaphrodite, est constituée de quatre sépales libres, quatre pétales libres et six étamines (dont quatre longues), caractéristique de la famille des Brassicaceae. Le style surmonte un pistil constitué de deux ovaires à deux carpelles soudés à placentation axile. Elle possède deux nectaires fonctionnels situés à la base des étamines, produisant un nectar riche en glucose et en lactose très attractif pour les insectes.

Le pollen, collant et aggloméré, est aussi transporté par le vent et sa mise en suspension en particules monodispersées est sans doute aidée par les abeilles (Pierre *et al.* 2010). Les premiers fruits, appelés siliques, se forment alors que la floraison n'est pas terminée (Figure 6 ; stade G1), puis ils s'allongent et se bossellent à l'emplacement des graines (Figure 6 ; stade G4) pour former au final des siliques de 5 à 10 cm de long, contenant une vingtaine de graines. A maturité, la silique éclate et projette les graines à 50 cm en moyenne de la plante-mère (Colbach *et al.* 2001).

Le colza est produit comme culture oléagineuse, ses graines riches en lipides sont récoltées les plus sèches possibles pour en extraire l'huile.

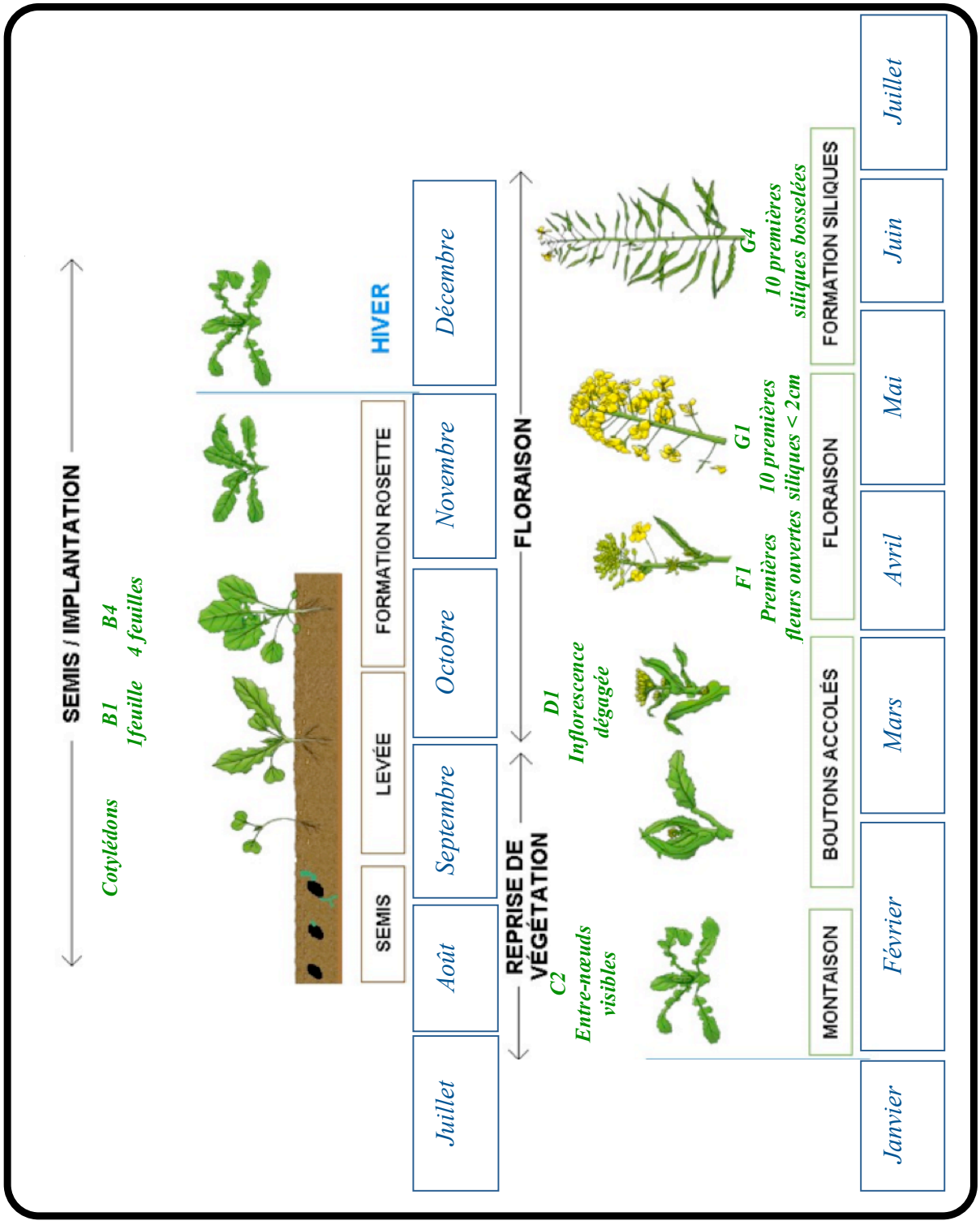


Figure 6. Stades du cycle de développement du colza d'hiver répertoriés par le CETIOM (Centre d'Étude Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitains). B et C : développement végétatif, D : développement des boutons floraux, F1 : début de floraison, G1 : début de fructification, G4 : allongement et bossellement des fruits.

5.2. LA DISPERSION DES GENES CHEZ LE COLZA

Le colza est à la fois autogame (le pollen d'une plante peut féconder un ovule de cette même plante) et allogame (le pollen vient d'un autre individu). Le taux moyen d'autogamie est de 60-70%, ce taux variant entre 53 et 88% en fonction du génotype et de l'environnement (Becker *et al.*, 1992). Le colza combine les avantages des deux systèmes de reproduction : l'autogamie permet aux plantes isolées, en particulier après un évènement de dispersion à longue distance, de se reproduire tandis que l'allogamie accentue la diversification du pool génétique des populations.

Une plante de colza produit beaucoup de graines, mais contrairement aux céréales où les graines restent sur l'épi, les graines de colza tombent dès la déhiscence des siliques. De plus, la floraison dans les populations férales est étalée dans le temps (Deville 2004 *in* Pivard 2006) et le colza continue à produire des graines tant que les conditions environnementales le permettent (floraison indéterminée). Les graines de colza mesurent environ 1 à 2 mm de diamètre et sont lisses et sphériques, ce qui facilite leur intégration dans la banque de graines du sol où elles peuvent entrer en dormance secondaire (graines capables de différer leur germination dans un environnement défavorable, dans l'attente de conditions favorables). D'autre part, les graines sont expulsées par déhiscence du fruit, ce qui favorise une première dispersion des graines, appelée dispersion balistique (Colbach *et al.* 2001). De telles graines légères, lisses et sphériques sont plus facilement emportées par le vent ou les eaux de ruissellement et donc dispersées à longue distance. Les camions de transport et les machines agricoles contribuent ainsi beaucoup à la dispersion à moyenne et longue distances des graines de colza (Garnier *et al.* 2006).

Le pollen de colza est dispersé à la fois par le vent et par les insectes mais dans des proportions toujours débattues, spécialement pour les longues distances (Mesquida & Renard 1982, Timmons *et al.* 1995, Pierre *et al.* 2002, Ramsay *et al*. 2003, Cresswell 2008, Pierre *et al.* 2010). Compte tenu de la très grande quantité de fleurs dans les champs de colza et de la faible densité des insectes pollinisateurs au sein des champs au Royaume-Uni, il semblerait logique que la plupart des fleurs ne soient pas visitées par les pollinisateurs (Cresswell 2008). Le vecteur principal pour le transport du pollen dans cet environnement serait alors le vent. Cependant, si l'on admet que les insectes et plus particulièrement les abeilles peuvent polliniser le colza en déposant à chaque visite plusieurs centaines de grains de pollen sur le stigmate d'une fleur (Primack & Silander 1975, Cresswell 2008) et que les abeilles peuvent parcourir des distances plus ou moins grandes lors la recherche de ressources alimentaires, je

pense qu'il est intéressant de se questionner (i) sur leur présence dans les champs de colza en France (quantitativement et qualitativement), (ii) sur leur rôle dans le transport de pollen et son échelle de dispersion.

5.3. LA MODELISATION DE LA DISPERSION POLLINIQUE

Dans le cas du colza, les études mesurant les flux de gènes via le pollen et portant sur un seul champ, estiment d'une part que la plupart des évènements de dispersion se produisent à faible distance de la source de pollen, c'est-à-dire ne dépassant pas les 50 premiers mètres (Manasse 1992, Lavigne *et al.* 1998, Cai *et al.* 2008), et d'autre part que la fréquence des événements de dispersion décroissent lentement au-delà de cette distance (Klein *et al.* 2006). Les études concernant un nombre plus important de champs de colza, travaillant ainsi à l'échelle du paysage, reportent également des événements de dispersion à longues distances en moindre proportion par rapport à ceux répertoriés dans les courtes distances. En effet, Devaux *et al.* 2005 en appliquant différents types de modèles estime que la majorité des évenements de dispersion pollinique se produisent proche des champs, en confirmant la forte décroissance observée préalablement dans les 50 premiers métres, mais que qu'une probabilité de dispersion pollinique comprise en 1.10^{-10} et 1.10^{-16} reste envisageable au-delà de 1000m des champs (Figure 7). En effet, 13 % des graines échantillonnées doivent leur origine à des champs distants d'au moins 1000 m (Devaux *et al.* 2005) et entre 0,5 % et 1 % des flux de gènes par le pollen ont été reportés entre des champs de colza distants de 2500 m (Rieger *et al.* 2002).

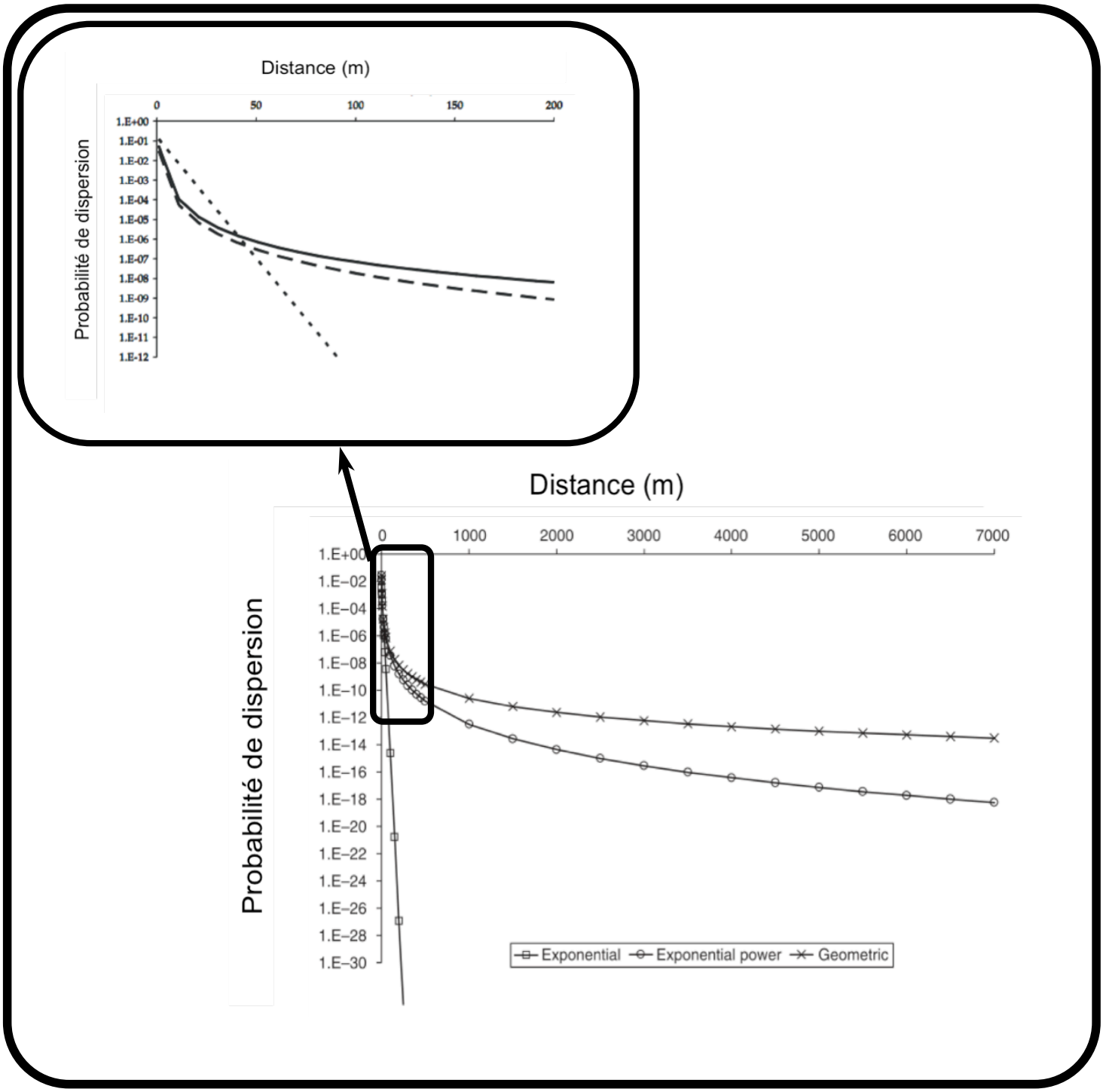


Figure 7. Estimation de la probabilité de dispersion pollinique selon différents modèles d'après Devaux *et al.* 2005.

Timmons *et al.* (1995) rapportent que le pollen de colza peut être dispersé par le vent à plus de 1500 m du champ émetteur, dans des proportions suffisantes pour permettre la production de graines sur des plantes émasculées et apétales. Cependant, Pierre *et al.* (1996) suggèrent que l'utilisation de plantes apétales ne garantit pas l'absence de visites d'insectes pollinisateurs, et par conséquent la présence de grains de pollen à cette distance pourrait être dû aux insectes. Peu d'études ont estimé la composante "insectes" dans la dispersion pollinique et ont déterminé empiriquement l'étendue spatiale des flux de pollen liés aux insectes. Il existe un modèle qui explique la dispersion pollinique par les bourdons, *Bombus* spp. (Cresswell *et al.* 2002).
Ce modèle s'écrit:

$$\xi = \frac{E\psi}{\bar{b}}$$

Où ξ est la proportion de pollen extrinsèque sur les fleurs de la population puits (ou réceptrice), E est la fraction de pollinisateurs déposant du pollen dans la population de plantes puits après avoir visité une population extrinsèque, ψ équivaut au nombre de fleurs complètement pollinisées par du pollen extrinsèque et b est le nombre moyen d'insectes pollinisateurs dans la population de plantes puits. Cependant, les auteurs supposaient que les bourdons observés transportaient du pollen extrinsèque aux champs qu'ils visitaient et le suivi n'était réalisé qu'entre des plantes émettrices de pollen et un champ puits.

5.4. LES INSECTES ET LE COLZA

Le colza est butiné par de nombreuses espèces d'insectes pollinisateurs appartenant à des ordres différents. Des inventaires réalisés indiquent principalement la présence d'Hyménoptères et plus spécifiquement des Apoïdes, de Diptères et plus rarement de Lépidoptères (Taséi 1977, Delbrassine & Rasmont 1988, Brunel *et al.* 1992, 1994).
Les Hyménoptères sont les plus représentés et plus particulièrement l'abeille domestique qui a elle seule représente la majorité de la totalité des insectes pollinisateurs (Brunel *et al.* 1992, 1994). On peut également recenser des Andrènes (*Andrena cineraria, A. flavipes, A. haemorrhoa, A. sabulosa*) et plus rarement des Osmies (*Osmia rufa*) et des *Lasioglossum*. Les bourdons (*Bombus* sp.) sont également largement recensés. L'espèce *Bombus terrestris* a une importance relative et constante, mais on peut également noté la présence de *B. lucorum*, *B.*

cryptarum, *B. pratorum*, *B. lapidarium* dans des proportions plus ou moins importantes selon les régions d'échantillonnage. Cependant, si on compare le nombre de bourdons au nombre d'abeilles domestiques uniquement, il ne représentent en moyenne que 2% de la totalité des pollinisateurs (Delbrassine & Rasmont 1988, Brunel *et al.* 1994).
Parmi les Diptères, les Syrphidés sont les plus représentés (10 à 15% des insectes totaux). Le groupe des Eristales constitue 50% des Syrphidés observés et une espèce en particulier *Eritalis tenax* est très commune sur le colza.

5.5. LES PROBLEMES LIES A LA MISE EN CULTURE

Le colza a une histoire de sélection relativement courte et cette plante a gardé la capacité de se développer en dehors des champs, dans les bordures de champ ou les habitats perturbés, sous forme de populations dites échappées, aussi appelées populations férales, populations hors-champs ou volunteers (Pessel *et al.* 2001). Celles-ci peuvent persister pendant plusieurs années (Crawley & Brown 1995). Les populations férales sont d'éventuelles sources et/ou des relais pour la dissémination des (trans-)gènes à l'échelle du paysage agricole, à la fois dans l'espace et dans le temps (Meynard 1998, Colbach *et al*. 2001, Garnier 2006, Pivard *et al.* 2008). Le colza possède une réelle capacité invasive grâce à sa plasticité morphologique et phénologique (Charters *et al*.1999 in Garnier 2006) et peut alors affecter la structure de l'écosystème (Crooks 2002). Une méthode de lutte contre ces populations férales a déjà été proposée par une fauche précoce avant la floraison du colza (Meynard 1998), cependant les conséquences d'une telle pratique pour la diversité floristique des bordures de champs, ressources pour de nombreuses espèces en milieu agricole (Rands 1986 in Le Coeur *et al.* 1997, Marshall & Moonen 2002), n'a été que rarement étudiée. Or, la perte de la richesse spécifique de la flore peut altérer la stabilité des populations d'abeilles et donc le service écologique de pollinisation (Chapin *et al* 2000, Potts *et al.* 2003*,* Carré *et al*. 2009).
Il semble intéressant de se questionner sur les pollinisateurs puisqu'ils apparaissent utile au cycle des cultures entomophiles, mais parallèlement augmentent les risques de contamination entre les différentes filières agricoles, et plus particulièrement dans le cadre de la coexistence PGM/non-PGM. Les principales filières agricoles de cultures transgéniques, autres que celles liées au colza, sont décrites succinctement dans l'Encadré 3, car même si ce ne sont pas des cultures à caractères entomophiles, une activité pollinisatrice (butinage, transport de pollen, fécondation) par les insectes pollinisateurs au sein de ces cultures reste envisageable.

5.6. UNE COEXISTENCE DIFFICILE DUE AUX PRATIQUES AGRICOLES

Dans le cas du colza, la pollinisation croisée et la persistance des semences dans le sol sur de longues périodes rendent l'évolution du taux de matériel GM dans les productions conventionnelles difficile à prédire. Il dépend en effet de l'ensemble des pratiques agricoles du système de culture sur de longues années, et en particulier, de la pratique ou non du labour, de l'efficacité des herbicides pour le contrôle des repousses dans les cultures de céréales, les moyens employés pour nettoyer les bordures de parcelles, et de la présence de cultures de printemps dans la rotation.

Le modèle GENESYS permet d'évaluer les effets des pratiques culturales sur la dissémination des transgènes par l'intermédiaire des repousses de colza (résistant à un herbicide). L'évaluation prend donc en compte les processus se déroulant sur un ensemble de parcelles (transfert d'une parcelle au voisinage) et sur une échelle de temps pluri-annuelle. Le modèle GENESYS a pour objectif de modéliser les flux de (trans-)gènes hors des cultures de colza GM dans l'espace et le temps afin :

- d'identifier les systèmes de cultures à risques,
- de proposer des règles de combinaison dans le temps et dans l'espace de systèmes de cultures réduisant le risque (Colbach *et al.* 1999, 2001).

De plus, l'effet du niveau initial d'impuretés GM dans les semences est important, surtout dans le cas de grandes parcelles, mais reste moins déterminant que l'effet des pratiques agricoles. Si des simulations sur 50 ans montrent que, après l'introduction de variétés GM dans une région, le niveau de présence fortuite d'impuretés GM n'augmente pas significativement à partir de la deuxième rotation de colza, le seuil réglementaire de 0,9% ne peut être garanti que moyennant des mesures drastiques appliquées dans la durée. L'utilisation de semences de ferme conduit, quant à elle, à une augmentation continue du taux de présence des impuretés GM au cours du temps (Messéan *et al.* 2006).

Le but initial des modèles était d'informer et d'établir les règles de coexistence. En effet, les modèles complétaient les essais en champs et formulaient les règles nécessaires à la coexistence prise par la Commission Européenne en 2003. De plus, ces modèles permettaient (i) de prédire les flux de gènes dans différentes conformations de paysage (du plus simple au plus complexe), (ii) d'apporter des éléments de réponse sur les phénomènes biologiques, climatiques, et agronomiques qui affectent le plus la dispersion des gènes dans les cultures et

de contribuer à la compréhension de la biologie des populations des plantes cultivées (Beckie & Hall 2008).

LE MAÏS (*Zea mays* L., Poaceae)

En Europe, le maïs est la seule espèce pour laquelle des cultures GM sont autorisées et effectives. Une coexistence semble possible au seuil de 0,9% avec des mesures appropriées (Messeguer *et al.* 2006). Les trois principales sources d'impuretés GM dans les cultures de maïs non transgéniques sont (i) la présence de matériel GM dans les lots de semences, (ii) la pollinisation croisée depuis les champs de maïs transgéniques avoisinants. Elle dépend majoritairement de la position des champs GM et non-GM par rapport au vent dominant, de leur forme et de leur taille relative. Pour limiter la pollinisation, il faut prévoir des distances d'isolement entre champs GM et non-GM ou semer une bordure "tampon" de variétés non-GM autour des champs GM, (iii) l'utilisation partagée des outils de récolte; d'après la bibliographie et les avis d'experts, elle intervient pour 0 (récolteuses dédiées) à 0,4 % (récolteuses partagées et absence de pratiques de nettoyage).

Des recommandations ont été établies grâce à l'utilisation du modèle MAPOD (Angevin *et al.* 2008, Le Bail *et al*. 2010). Ce modèle a permis de tester l'efficacité de mesures de coexistence en fonction de conditions climatiques variables. Par exemple, dans le cas où la parcelle non-GM est contre le vent de la parcelle GM, et donc protégée des flux de pollen, les pratiques actuelles permettent de respecter le seuil de 0,9 % dans la récolte (si les semences ne comportent pas plus de 0,4 % d'impuretés). Dans la situation inverse, MAPOD prédit qu'une distance d'isolement de 50 m sera nécessaire pour respecter le seuil de 0,9 % dans le cas de semences pures, et de 100 m si elles contiennent entre 0,3 % et 0,5 % d'impuretés GM. Pour les filières comme l'agriculture biologique qui revendiquent une absence totale d'OGM dans leurs productions, la coexistence à l'échelle locale est en revanche techniquement impossible dans la plupart des cas. En effet, un taux de 0,1 % d'impuretés nécessiterait un isolement minimal de 300 m et des semences pures (Messéan *et al.* 2006, Angevin *et al.* 2008, Le Bail *et al*. 2010).

LE SOJA (*Glycine max* (L.) Merr., Fabaceae)

Les flux de gènes dans les champs GM et/ou non-GM sont très limités car le soja cultivé est généralement autogame. Cependant, des croisements avec des adventices apparentées restent possibles (Nakayama & Yamaguchi 2002). Le soja constitue en Europe la principale source de protéines végétales pour le bétail, notamment depuis l'interdiction des farines animales depuis 2000. Il provient majoritairement d'importation, sous forme de graines ou de tourteaux, en provenance d'Argentine, du Brésil et des Etats-Unis. Ces trois pays ont adopté le soja transgénique résistant au glyphosate (Roundup©Ready). Bien que la culture ne soit pas autorisée en Europe, l'ensemble des matières premières et des sous-produits issus de la transformation de cette graine sont autorisés à l'importation et à la commercialisation au sein de l'UE. Environ 2/3 des tourteaux de soja utilisés dans l'alimentation animale en France en 2003 étaient à base de matériel GM (Bougier *et al.* 2006).

LA BETTERAVE SUCRIERE (*Beta vulgaris* L., Chenopodiaceae)

La betterave sucrière est récoltée pour sa racine, avant floraison. L'origine principale de la présence fortuite de PGM dans les cultures non-GM réside donc dans l'impureté des lots de semences. Ainsi, pour un taux d'impureté des semences au-dessous de 0,1 à 0,5 %, il n'est nul besoin de mesures spécifiques de coexistence pour la production de betterave sucrière pour respecter le seuil de 0,9 %. De plus, la soumission aux règles existantes devrait suffire pour contenir les impuretés GM dans les semences non-GM sous un seuil de 0,5 %. Des mesures supplémentaires ont été recommandées pour assurer que ces niveaux soient maintenus à long terme ou même réduits (leur coût atteint 6 à 14 % de la marge brute). En revanche, les betteraves GM tolérantes à un herbicide soulèvent un problème agronomique qui est le contrôle des betteraves adventices dans le champ où a été cultivé la PGM ainsi que dans les parcelles voisines (Messéan *et al.* 2006).

LE COTONNIER (*Gossypium hirsutum* L., Malvaceae)

Le coton étant majoritairement autogame, c'est-à-dire que la pollinisation croisée est négligeable, aucune mesure supplémentaire à celles déjà en vigueur pour la production de semences certifiées n'est nécessaire. Si le taux d'impuretés GM dans les semences non-GM reste inférieur à 0,5 %, le nettoyage des machines est suffisant pour maintenir la présence fortuite de matériel GM au-dessous de 0,9 % (Messéan *et al.* 2006).

Encadré 3. Principaux éléments de coexistence des filières GM et non-GM chez quatre autres filières agricoles de cultures transgéniques.

Dans mon travail de thèse, les relations entre faune pollinisatrice, contexte paysager et échelle spatiale des flux de gènes ont été étudiées en prenant comme base la région de Selommes (Loir-et-Cher) et celle de Pleine-Fougères (Ille-et-Vilaine). Mon intérêt s'est porté plus spécifiquement sur les flux de gènes qui résultent des transferts de pollen qui sont consécutifs au butinage des insectes.

Cependant le colza est autofertile et il est pollinisé à la fois par de l'auto-pollen et de l'allo-pollen. Ce dernier est transporté par le vent et par les insectes, et les contributions respectives de ces deux vecteurs font encore l'objet de controverses (Beckie & Hall, 2008). J'ai donc essayé d'estimer, dans le cadre de cette thèse, la participation de ces deux vecteurs dans le transport du l'allo-pollen de colza afin de mieux évaluer le rôle des insectes dans les flux de gènes liés à la pollinisation chez cette culture. D'autre part, par le caractère non spécialisé des fleurs de colza, de nombreux insectes sont des pollinisateurs effectifs du colza (*Apis mellifera*, *Bombus* spp., Syrphidae, Brunel *et al.* 1992, 1994, Cresswell *et al.* 1995, Rasmont *et al.* 1995) et pourraient être impliqués dans la dissémination à longue distance du pollen. Enfin, les modèles de dispersion pollinique actuels ne permettent pas de discriminer les différentes composantes de cette dispersion (vent, insectes) contrairement au travail qui a pu être effectué sur les graines (Garnier *et al.* 2006, Nathan *et al.*2008), ainsi en concentrant mes efforts d'échantillonnage sur les insectes pollinisateurs, il me semble possible d'apporter plus d'informations sur une des composantes majeures de la dispersion pollinique et compléter ainsi les modèles déjà établit (Cresswell *et al.* 2002, Devaux *et al.* 2005).

Dans le cadre de ma thèse, il m'a semblé que la compréhension des flux de gènes de colza passait par l'étude de la diversité et l'abondance des insectes pollinisateurs du colza afin d'appréhender le rôle potentiel de cette diversité (i) dans la pollinisation des champs de colza, et (ii) dans le transport de pollen au sein d'un paysage agricole. Les résultats obtenus ont permis de quantifier l'échelle de dispersion du pollen de colza consécutive à l'activité de butinage des principales espèces pollinisatrices en fonction du contexte paysager (importance relative et distance aux sources de pollen).

MATERIELS ET METHODES

1. DEUX SITES D'ETUDES AUX PAYSAGES CONTRASTES

Dans le cadre du programme GMBioImpact deux sites d'études ont fait l'objet d'un suivi en ce qui concerne la diversité et l'abondance des pollinisateurs. Le premier site se situe dans la région Centre et est caractérisé par un paysage ouvert ou openfield autour de la commune de Selommes. Le deuxième site est le site atelier de Pleine-Fougères situé dans la région Ille-et-Vilaine et possède un paysage plus complexe de type bocager. Les expérimentations concernant les suivis de flux de gènes ont été menées uniquement sur le site de Selommes.

1.1. LE SITE DE SELOMMES : UN PAYSAGE OPENFIELD

1.1.1. HISTORIQUE

Depuis 1996, le laboratoire Écologie, Systématique et Evolution (ESE) en collaboration avec le CETIOM et l'INRA, étudie les populations de colza échappées des champs (Pessel & Lecomte, 2000). Le site a été choisi pour la présence du silo à grain dans la commune de Selommes, afin d'étudier les relations entre le transport des graines de colza des champs au silo et la dynamique des populations férales. Les recherches entreprises dans le cadre des thèses de A. Garnier et S. Pivard ont ainsi concerné les processus écologiques impliqués dans la présence de populations de colza dites férales dans les espaces marginaux (bordures de routes et chemins), les modalités de maintien de ces populations (Garnier *et al.* 2006 ; Pivard *et al.* 2007, 2008), leur potentiel d'invasion et leur rôle dans les flux de gènes (Garnier & Lecomte, 2006).

D'autre part, le projet SIGMEA (*Sustainable Introduction of GMOs into European Agriculture*, 2004-2007) dont le laboratoire ESE faisait partie, a étudié les impacts éventuels de l'introduction de cultures transgéniques dans des systèmes de productions agricoles européens sur le fonctionnement et l'équilibre des écosystèmes et de leur biodiversité. Dans le cadre de ce projet et durant sa thèse, C. Devaux a estimé la dispersion de pollen de colza issue des champs à longue distance grâce à un protocole expérimental situé dans cet agroécosystème (Devaux *et al.* 2005).

1.1.2. CARACTERISTIQUES

Le site de Selommes, à paysage de type openfield (ou ouvert), se situe en Beauce et s'étend sur environ 80km^2 autour de la commune de Selommes (Loir-et-Cher ; 47°45'24'' Nord,

1°11’34’’ Est, Figure 8). Le climat est semi-océanique, à hiver très frais et été chaud ou frais. Au printemps, les précipitations moyennes sont de 151 mm et la température moyenne de 10,5°C. Le relief étant très plat, les vents dominants d’ouest, remontant la vallée de la Loire sont fréquent et relativement forts (données disponibles sur le site de la préfecture du Loir-et-Cher). Le sol y est principalement calcaire.

Figure 8 : Situation géographique et photographie aérienne du site de paysage de type Openfield de Selommes

Ce site se caractérise par une agriculture intensive qui est à l’origine de la grande taille des parcelles (5,5 ha en moyenne). La zone autour de la commune de Selommes est occupée à 75% par des terres agricoles. Les espèces cultivées sont principalement des céréales (blés dur et tendre, orge et maïs), du colza et du tournesol (dominance du colza). Dans des proportions moins importantes, certaines cultures maraîchères et fourragères (pois, luzerne, ray-grass) y sont également réalisées.

Les prairies temporaires ou permanentes y sont quasiment absentes et sont principalement situées en périphérie des zones bâties, le long des cours d’eau et près du bois du Coudray à l’ouest de la zone d’étude. L’élevage étant absent à Selommes, ces prairies ne font pas partie intégrantes de l’espace agricole proprement dit. Cependant, des milieux herbacés non cultivés mais ne constituant pas des prairies sont présents dans la zone de Selommes. En effet, certains exploitants ne cultivent pas certaines de leur parcelles car elles sont petites, trop éloignées de l’exploitation, ou car leur sol est de mauvaise qualité (présence de cailloux, mauvaise

irrigation), mais également car ce sont des jachères faune sauvage (Poirel 2008). Deux bois de relativement grande taille, le Bois du Coudray à l'Ouest et le Bois de Monteaux au Nord, sont présents sur le site de Selommes. Dans le reste du site, les zones boisées sont rares et de petite taille. Les éléments boisés sont traditionnellement des bosquets. Les haies présentes sont majoritairement des haies ornementales récentes (haies de conifères ou haies arbustives composées d'essences variées) plantées aux abords des habitations par les agriculteurs (Figure 9).

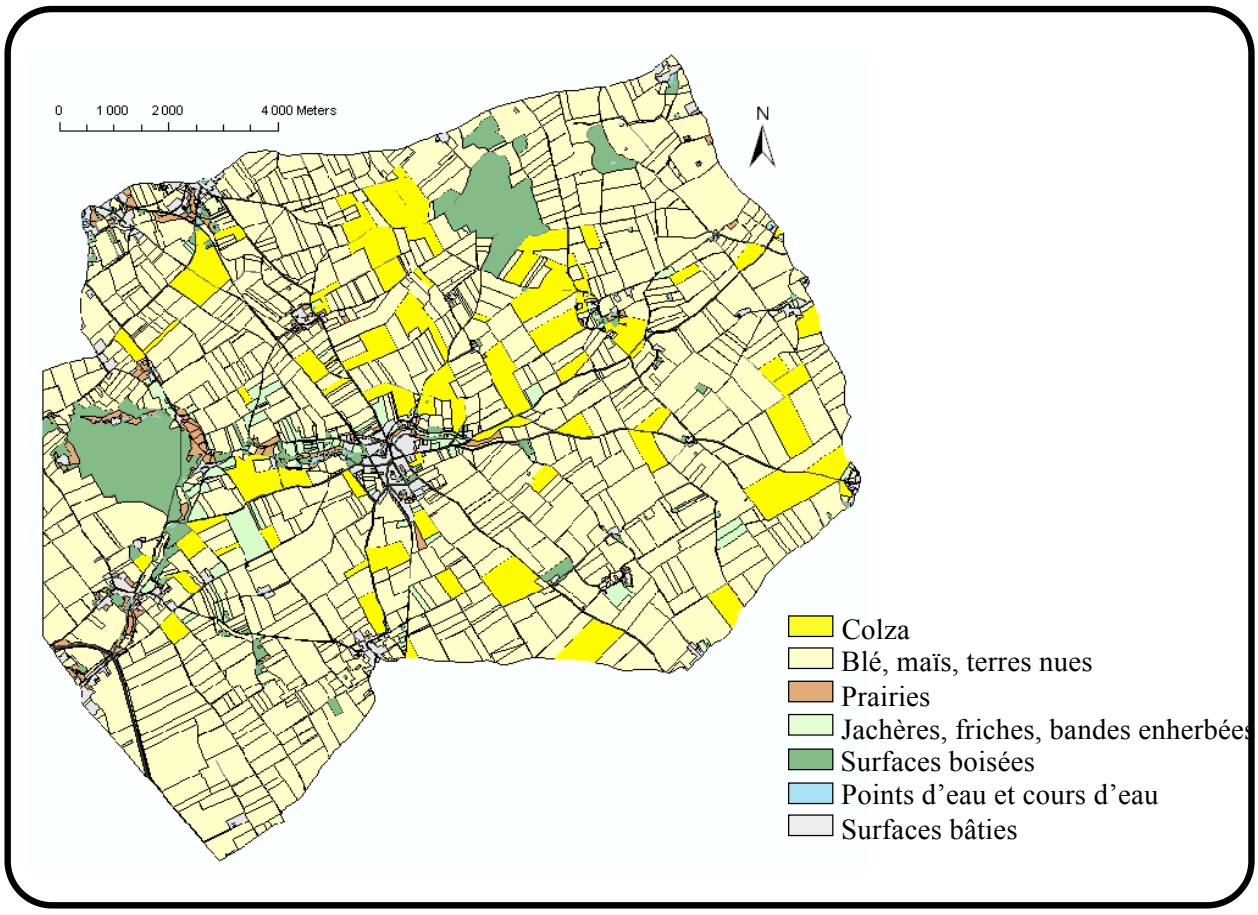


Figure 9. Cartographie du site de Selommes en 2007 ayant la caractéristique d'être un openfield.

À la fin de la floraison du colza (mi-mai), la majorité des ressources disponibles pour les insectes pollinisateurs sont apportées par les fleurs d'espèces sauvages, principalement présentes dans les bordures, ou encore dans les bois et les végétations d'ornementation situés dans les zones de bâti. Les différents éléments du paysage ont été cartographiés à partir d'observations de terrain et d'une photographie satellite et numérisés avec ArcView en 2008 par le laboratoire ESE de l'Université Paris Sud XI – Orsay (UPS).

1.2. LE SITE ATELIER DE PLEINE-FOUGERES : UN PAYSAGE BOCAGER

Le site Pleine-Fougères se situe en Ille-et-Vilaine autour de la commune de Fougère (48°21'6" Nord, 1°12'0" Ouest). Le paysage de type bocager y est plus ou moins ouvert selon un gradient Nord-Sud (Figure 10). Le climat est océanique à hiver humide. Cependant, l'été et le printemps ont des conditions climatiques similaires au site de Selommes. Le site de Pleine-Fougères étant situé au sein du Massif Armoricain, le relief y est ondulé et la roche-mère est principalement granitique. Cependant, ont peut noter une dominance de schistes dans la partie Nord (site de Pleine-Fougères Nord, PFN) et de granodiorites dans la partie Sud (site de Pleine-Fougères Sud, PFS).

Figure 10 : Situation géographique et photographie aérienne du site de paysage de type bocager de Pleine-Fougères

Le site de Pleine-Fougères se caractérise par un contexte paysager plus bocager qu'à Selommes. Les surfaces agricoles ne représentent que 25 à 30% de la surface totale dans la partie sud et environ 50% dans la partie nord. Les cultures sont majoritairement le blé et le maïs. Le colza est globalement présent dans des proportions plus importantes sur le site de Selommes (une centaine de parcelle chaque année) qu'à Pleine-Fougères Sud ou Pleine-Fougères Nord (environ 10 champs par site chaque année). En effet, les parcelles de colza sur les deux sites de Pleine-Fougères y sont plus petites et plus rares que sur le site de Selommes où elles sont présentes en quantités importantes et réparties uniformément dans le paysage.

Les prairies (temporaires ou permanentes) occupent la moitié de la surface de PFS et environ un quart de la surface de PFN. D'autre part, PFS est bordé par la Forêt de Villecartier à l'Est mais aucun des points d'échantillonnage n'est proche de ce massif. En revanche, de nombreux petits bois sont présents à PFS et PFN (en 2007, la proportion moyenne de surfaces boisées était de 5-7 % autour des points d'échantillonnage). PFS et PFN sont des sites bocagers où les haies multicentenaires sont composées de chênes, châtaigniers et noisetiers. Des opérations de remembrement ont été réalisées à PFN dans les années 1970. Aujourd'hui, les haies sont deux fois plus abondantes à PFS qu'à PFN (Figure 11).

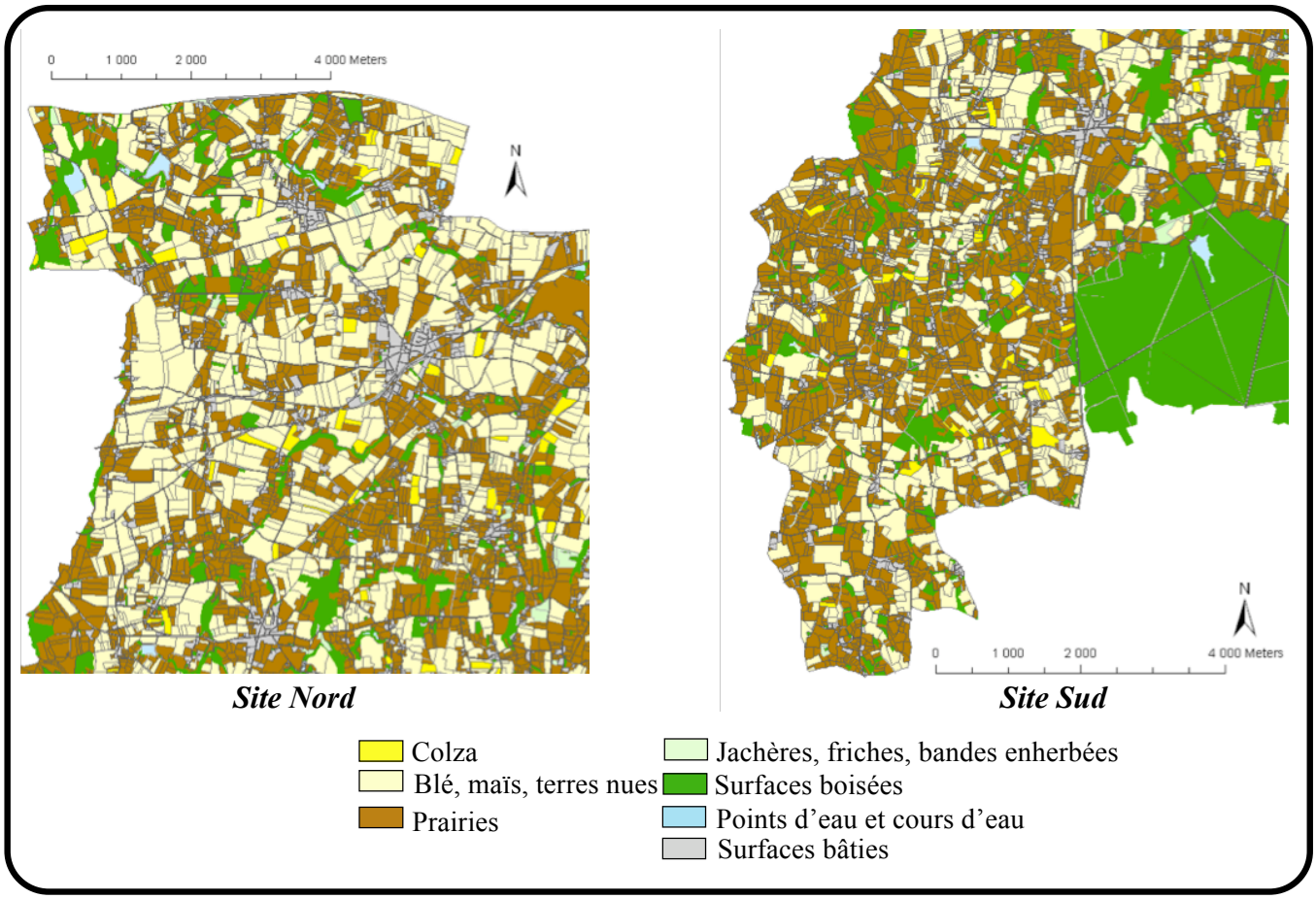


Figure 11. Cartographie des sites de Pleine-Fougères Nord et de Pleine-Fougères Sud en 2007. Les deux sites sont caractérisés par un paysage bocager avec une surface en colza peu importante.

1.3. UN TRAVAIL COMPLEMENTAIRE DANS LE CADRE DE GMBIOIMPACT

Parmi les trois thèses réalisées dans le cadre du programme GMBioImpact, deux portent sur les insectes pollinisateurs (V. Le Féon et R. Chifflet), la troisième, dont les expérimentations n'ont pas lieu à Pleine-Fougères, s'intéresse à la démographie et à la génétique des populations férales de colza (D. Bailleul).

La thèse de Violette Le Féon a pour objectif de mieux comprendre les relations entre colza et insectes pollinisateurs à l'échelle du paysage agricole afin d'obtenir une meilleure compréhension de la distribution spatiale des insectes pollinisateurs pour améliorer la prédiction des flux de gènes. Son travail vise à comprendre comment la structure du paysage et les pratiques agricoles influent sur la diversité, l'abondance et la composition des communautés d'insectes pollinisateurs au sein du paysage agricole.

Ainsi, dans le cadre de nos thèses respectives, nous avons pu mener ensemble des études portant sur l'évaluation de la diversité (i) globale des pollinisateurs au sein du paysage agricole et (ii) des pollinisateurs spécifiques du colza. L'abondance, la diversité et la composition des communautés des principaux pollinisateurs (syrphes et abeilles) ont été analysées de façon similaire dans chacune des thèses. Cependant, seul les résultats portant sur les pollinisateurs du colza seront présentés ici. D'autre part, aucune étude portant sur le transport, la composition génétique et la dispersion du nuage pollinique n'a été conduite sur le site atelier de Pleine-Fougères.

2. DESCRIPTION DE LA FAUNE FLORICOLE ET POLLINISATRICE DU COLZA

2.1. DIVERSITE ET ABONDANCES DES INSECTES FLORICOLES DU COLZA

2.1.1. DEUX ANNEES, DEUX METHODES

Le but est ici de décrire la méthodologie employée pour étudier la faune floricole spécifique du colza en relation avec le contexte paysager et la gestion des bordures de champs lors des expérimentations du programme GMBIOIMPACT. Dans ce texte, le terme pollinisateurs sera synonyme d'abeilles (Hymenoptera : Apiformes) et de syrphes (Diptera : Syrphidae), c'est-à-dire les deux groupes qui constituent l'essentiel de la faune pollinisatrice en France, en général, ainsi que sur le colza, même si d'autres insectes, en particulier des coléoptères, ont été suggérés comme prenant part au transport à longue distance du pollen (Ramsay *et al.* 1999, 2003).

Durant les deux années d'expérimentation, deux méthodes de capture ont été utilisées. L'objectif en 2007 était de décrire la faune floricole du colza de façon quantitative et qualitative. En 2008, en plus de la description qualitative et quantitative de la faune floricole du colza, nous avons tenté d'estimer pour chaque espèce son activité (floricole ou pollinisatrice) sur des parcelles de colza.

2.1.1.1. UN PARCOURS STANDARDISE EN 2007

En 2007, les relevés ont été réalisés dans les 3 sites d'étude (Selommes, Pleine-Fougères Nord et Pleine-Fougères Sud). Pour échantillonner la faune floricole, des captures actives au filet, méthode qui s'est avérée une des plus efficaces dans le cadre du programme européen ALARM (**A**ssessing **LA**rge-scale environmental **R**isks for biodiversity with tested **M**ethods ; http://www.alarmproject.net), ont été réalisées sur chaque site, sur une longueur de 100 m au bord de 10 champs de colza échantillonnés au hasard (Figure 12).

Figure 12. Photographie illustrant une capture active au filet sur un champ de colza.

L'effectif de fleurs épanouies sur 5 plantes sur une bordure des champs échantillonnés a été dénombré lors de chaque session de capture afin d'estimer l'évolution de la floraison à chaque date de relevé. Les insectes étaient capturés directement sur les fleurs de colza pendant 20 minutes sur une bordure du champ échantillonné. Ces insectes pouvaient donc être considérés comme des insectes pollinisateurs de cette culture (Figure 13).

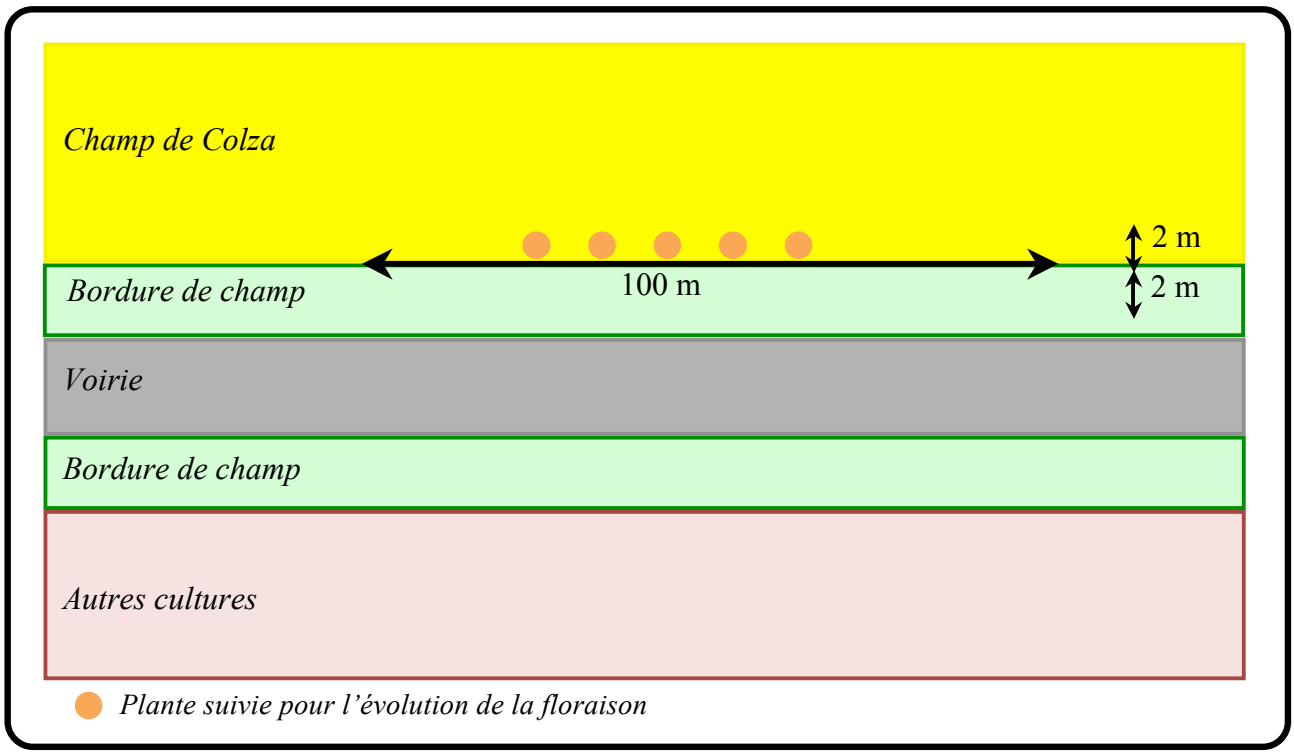


Figure 13. Dispositif d'échantillonnage de la diversité de la faune floricole sur le bord d'un champ de colza

2.1.1.2. UN NOMBRE DEFINI DE COUP DE FILET EN 2008

En 2008, sur chaque site, les relevés ont été effectués sur une longueur de 50 m de deux bords d'un même champ (soit 16 champs et 32 bords). Les relevés ont été réalisés sur le site de Selommes et sur le site atelier de Pleine-Fougères, en ne différenciant pas la partie Nord et la partie Sud du site de PF en raison du faible effectif de champs de colza cultivés (seulement 20 champs de colza sur l'ensemble du site atelier de PF). Pour échantillonner la faune floricole, on a utilisé une méthode de capture active au filet en 6 points distants de 10 m les uns des autres, soit une distance de 50 m au total. Les captures des insectes pollinisateurs ont été réalisées sur les 2 premiers mètres du champ de colza et uniquement sur les fleurs. A chaque point d'échantillonnage, 3 coups de filet ont été réalisés (deux en partant de la bordure vers le centre de la parcelle de part et d'autre de l'observateur et un face à l'observateur dans la parcelle) ; soit un total de 18 coups de filets par bordure par date de relevé. Nous avons, encore une fois, postulé que toutes les abeilles et syrphes capturés sur des fleurs de colza étaient des pollinisateurs de cette culture.

L'évolution de la masse florale des champs a été estimée par le dénombrement des fleurs épanouies sur 4 plantes en 3 points situées à 20 m les uns des autres pour chaque bordure (Figure 14).

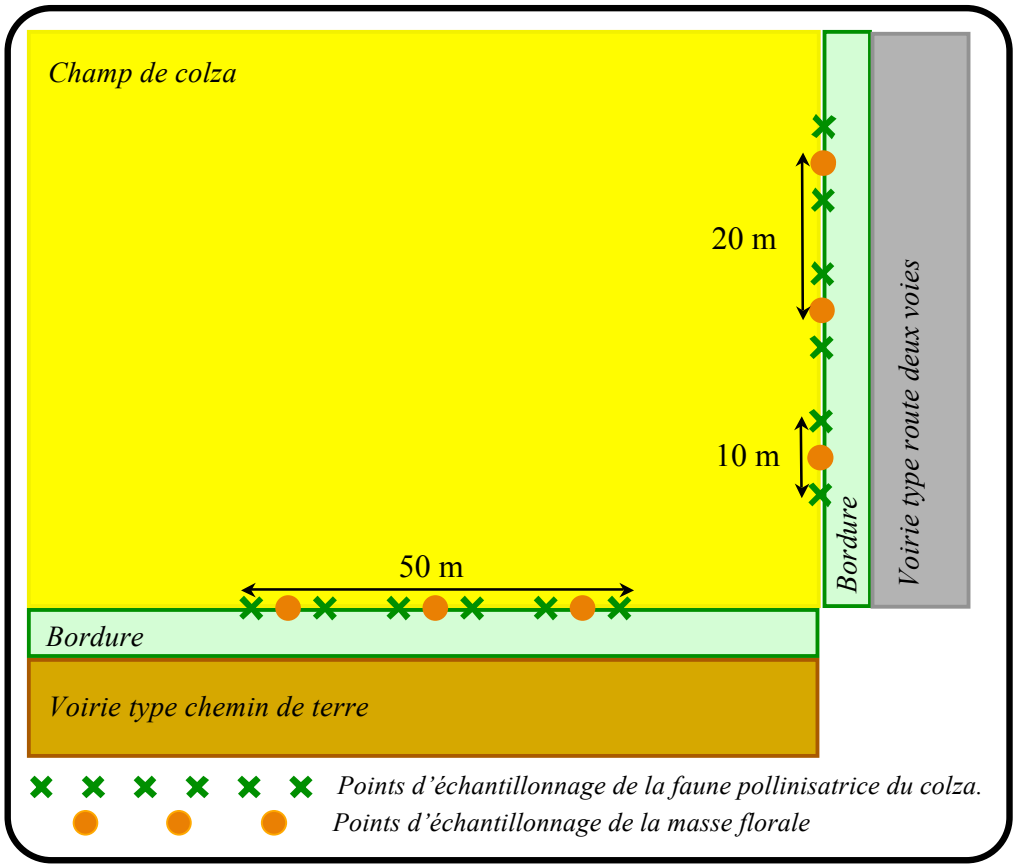


Figure 14. Dispositif d'échantillonnage de la faune floricole sur les bords des champs. Les captures des insectes ont été réalisées uniquement sur les fleurs de colza.

2.1.2. ÉLEMENTS COMMUNS AUX DEUX ANNEES

Les captures ont été réalisées avec un filet à papillons monté avec une poche à mailles fines pour capturer toutes les abeilles et les syrphes (poche standard BIOQUIP). Une fois capturés, les insectes ont été tués à l'aide d'une boite à poison (cyanure de potassium KCN).

L'évolution de la masse florale a été réalisée par un suivi du nombre de fleur épanouie sur des plantes choisies au hasard. Ces plantes ont identifiées avec un petit morceau de ruban coloré afin de pouvoir suivre l'évolution de la floraison à chaque date de relevé. Une fleur était considérée comme épanouie depuis son anthèse (= ouverture de la fleur de sorte que l'on voit ses anthères) jusqu'à ce qu'elle soit fanée, c'est-à-dire à la chute de ses pétales. Une fleur était considérée comme fanée dès lors qu'un pétale (sur les 4) était tombé.

2.1.3. ANALYSES STATISTIQUES

Comme nous l'avons expliqué précédemment, les abeilles et les syrphes possèdent des traits biologiques différents. Les données sur les abeilles et les syrphes pour chaque année ont été traitées séparément.

L'abeille domestique (*Apis mellifera*) n'est pas prise en compte dans ce chapitre, car son abondance en un endroit donné dépend autant, sinon plus, de l'activité apicole que du milieu. Tous sites confondus, les captures de cette espèce ont été relativement peu abondantes en 2007 (48 individus soit 15% des captures) mais reste l'espèce d'abeille majoritaire. Cependant, en 2008 l'abeille domestique représentait environ 45 % des captures effectuées.

Pour chacune des deux années, nous avons comparé la moyenne de la richesse spécifique (nombre d'espèces) et de l'abondance (nombre d'individus) par bordure (des trois sites PFS, PFN et SEL en 2007 et des deux sites PF et SEL en 2008). Le test de Shapiro-Wilk nous indique que les données ont une distribution normale, cependant avec des effectifs inférieurs à 20, ce test, malgré sa robustesse lors de son application à des échantillons de petite taille, risque d'accepter l'hypothèse de normalité alors qu'elle n'est pas remplie. Ainsi, nous utiliserons le test non-paramétrique de Wilcoxon afin de comparer les données. Nous avons également appliqué la correction de Bonferroni, en abaissant le seuil de significativité à 0,05/3 soit 0,016, lorsque nous comparons les 3 sites entre eux (Poinsot 2005). Ces analyses ont été menées sous R (R Development Core Team 2009).

2.2. COMPOSITION DES CHARGES POLLINIQUES

Sur nos sites d'étude la majorité des insectes pollinisateurs observés lors du butinage du colza étaient des pollinisateurs polylectiques ou oligolectiques. Ces insectes prélèvent donc, par définition, du pollen et du nectar sur plusieurs espèces florales. L'objectif de cette étude est de savoir si des pollinisateurs capturés dans d'autres conditions que lors de visites de fleurs de colza transportaient eux-mêmes du pollen de colza sur leur corps ou non afin d'estimer un risque potentiel d'échappement des gènes des parcelles cultivées vers des espaces marginaux (bords de champs ou de routes) contenant des populations férales de colza ou d'aventices apparentées.

Afin d'analyser le pollen présent dans la toison et les corbeilles des insectes pollinisateurs, il nous a fallu (i) réaliser des captures d'insectes sur des bordures de champs non adjacentes à un champ de colza, (ii) extraire la charge pollinique de ces insectes pour l'observer en

microcopie électronique à balayage (MEB) (iii) réaliser un échantillonnage de la diversité pollinique présente dans nos sites d'étude afin d'identifier plus facilement les pollens présents dans la toison et les corbeilles des insectes.

2.2.1. UN ECHANTILLONNAGE DES INSECTES SUR DES BORDS DE CHAMP NON COLZA

Des captures d'insectes ont été réalisées sur 20 bordures non adjacentes à un champ de colza. Ces bordures ont été choisies au hasard sur l'ensemble des bordures non adjacentes à un champ de colza sur chaque site (Figure 15).

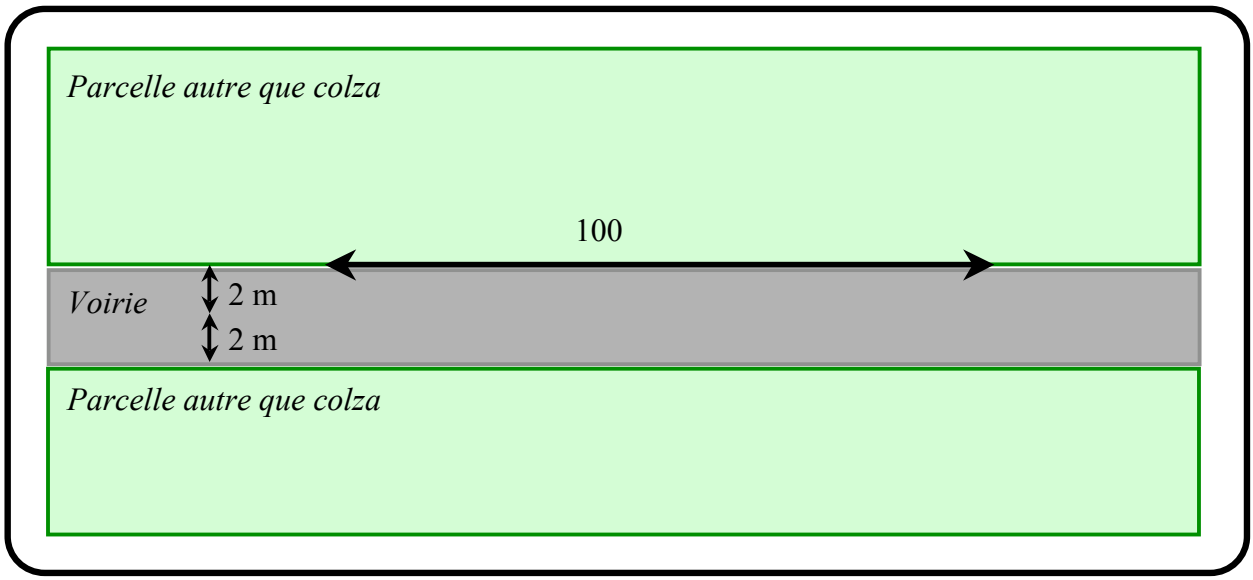


Figure 15. Dispositif d'échantillonnage de la diversité de la faune pollinisatrice dans une bordure de champ autre que du colza

Selon les conditions météorologiques, les captures commençaient à partir de 10h00 heure locale et se poursuivaient jusque vers 19h00, afin d'effectuer des relevés lorsque les pollinisateurs étaient en activité. Les captures pouvaient (i) être débutées plus le matin si la flore était encore humide la rendant moins attractive pour les insectes pollinisateurs, ou (ii) être stoppées moins tardivement si les conditions de température, de vent ou de pluviométrie changer en cours de journée. L'ordre des bordures échantillonnées a été randomisé entre le matin et l'après-midi entre les trois répétitions et en prenant soin de ne pas commencer et finir toujours par les mêmes bordures. Les captures ont été réalisées à l'aide d'un filet à papillons monté avec une poche à mailles fines pour capturer tous les pollinisateurs potentiels (poche standard BIOQUIP) dans un périmètre de 2 m autour de l'expérimentateur. Deux poches étaient utilisées en alternance selon la flore échantillonnée sur la bordure : l'une pour capturer

les pollinisateurs sur les fleurs de population férale de colza, et l'autre pour capturer les pollinisateurs sur les parties végétatives du colza (en fleur ou non) ou sur toute autre espèce végétale. Les insectes étaient tués ensuite à l'aide d'une boîte à poison (cyanure de potassium KCN). Deux flacons à poison ont été utilisés, l'un pour les pollinisateurs capturés sur des fleurs de colza et l'autre pour les pollinisateurs capturés sur les parties végétatives du colza ainsi que sur d'autres espèces végétales.

Les captures duraient au maximum 5 minutes sur un patch de fleurs et 20 minutes sur la bordure. Un patch était constitué de plantes d'une même espèce poussant à proximité (populations férales de colza comprises dans le cas échéant). En conséquence si une bordure ne possédait qu'un patch de fleurs, la durée de capture n'était que de 5 minutes sur cette bordure et aucune capture au filet n'avait lieu sur une bordure sans aucune fleur. Les insectes capturés sur ces bordures ont été conservés individuellement dans de l'éthanol à 70 % (vol/vol) pour assurer leur conservation ainsi que celle du pollen présent sur leur corps (scopae comprise). Après un traitement spécifique pour récupérer leur charge en pollen (voir ci-après), les spécimens ont été montés et étiquetés selon les techniques entomologiques usuelles pour être conservés secs et identifiés.

2.2.2. EXTRACTION DE LA CHARGE POLLINIQUE

Les insectes pouvant transporter des charges en pollen très importantes, un protocole d'extraction du pollen de leur toison a été envisagé (Figure 16). En effet, une abeille domestique pourrait transporter jusqu'à 5 millions de grains de pollen dans l'ensemble de sa toison dont la majorité serait présente dans ses pelotes (Abrol 2007).

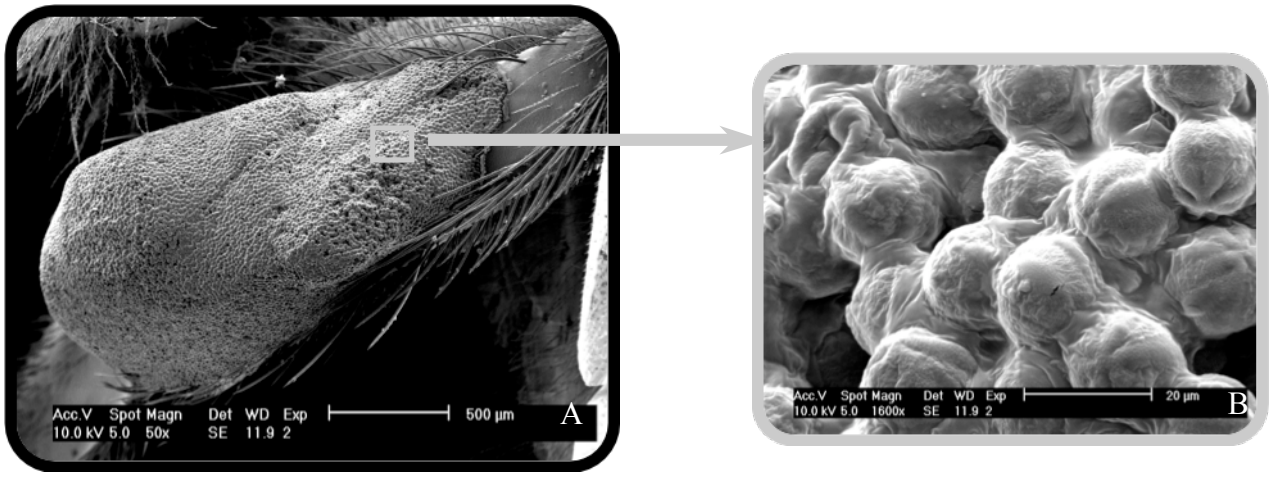


Figure 16. Photographies en microscopie électronique d'une pelote de pollen sur *Apis mellifera*. (A) Pelote de pollen située sur la patte postérieure contenant plusieurs milliers de grains de pollen. (B) Détail de la pelote : les grains de pollen sont agglutinés entre eux par la salive de l'abeille domestique. ©Chifflet & Bornard - INRA 2007.

Les insectes étant conservés individuellement depuis leur capture dans une solution aqueuse d'éthanol à 70 % (vol/vol.), nous avons effectué une première filtration sur un filtre en nylon avec une ouverture de maille de 10 µm. L'insecte et le filtre ont ensuite été placés dans 2 mL de saline à 1 %. Le tube a ensuite été passé d'abord au vortex pendant une minute, puis au bac à ultrasons pendant une minute (Matsuki 2008). La solution obtenue a été filtrée sur un filtre en nylon (10 µm). Le tube contenant le filtre et l'insecte étaient rincés avec de la saline à 1 %. Le pollen était par la suite remis en suspension dans 1 mL de solution d'éthanol à 70 % (vol/vol.) dans un tube Eppendorf de 2 mL, afin d'être conservé jusqu'à l'observation au microscope électronique à balayage (MEB). Ce protocole a été mis au point au sein du Laboratoire de Pollinisation et Ecologie des Abeilles pour deux raisons (i) les insectes pouvant transporter une charge pollinique très importante il n'était pas possible de l'analyser directement et (ii) cette méthode d'extraction limite la dégradation de l'insecte, ce qui conserve la possibilité d'une identification jusqu'à l'espèce.

Pour chaque charge pollinique observée, une goutte de 10 µL de solution de pollen a été prélevée et déposée sur un plot métallique d'observation du MEB. Au préalable, le plot a été recouvert d'une pastille de verre, afin de visualiser un fond lisse lors du visionnage au MEB et ainsi éviter les artefacts, aui a été encollée avec de la colle argent pour augmenter la conductivité des électrons du faisceau et éviter des phénomènes de charges pouvant nuire à l'observation.

Après l'évaporation totale de la goutte d'éthanol, les échantillons ont été métallisés (une métallisation pour 15 plots) dans l'enceinte sous vide poussé du métalliseur. La métallisation a été réalisée à l'or à l'aide d'un courant de 20 mA maintenue durant 120 secondes.
Seule une portion *i* du filtre d'une surface totale *S* (*S* = 1,13cm^2) a été observée. On considère que si *K* grains de colza sont présents sur *S*, alors la probabilité $P_{c/s}$ de trouver au moins 1 grain de pollen de colza dans une surface *s* équivaut à :

$$P_{C/S} = 1 - e^{Ki/S}$$

Pour un nombre de grains de pollen de colza égal à *K*=100 et pour une probabilité égale à *P* = 0,95 alors il faudra observer une surface *s* =1,5% de *S*, soit l'équivalent à l'écran de contrôle du MEB de la surface observée lors de la partie 1 du parcours (Figure 17). Ainsi, nous prenons un risque de 5 % de considérer des abeilles transportant un maximum de 100 grains de pollen de colza comme « non pollinisatrices » alors qu'elles sont « pollinisatrices » du colza.
Un échantillon de 30 insectes a été réalisé sur la totalité des insectes cpaturés sur les bordires non-colza. Chacune des charges pollinique a été observée au MEB, l'échantillon a été « balayé » à un grossissement 1000 x. Des zooms plus importants ont été effectués ponctuellement afin d'identifier plus facilement le pollen. Les grains de pollen ont été dénombrés sur la partie 1 du parcours afin de quantifier l'importance de la charge pollinique. Les 100 premiers grains de pollen ont été identifiés jusqu'à la famille. Les grains de pollen ont été classés en fonction de leurs caractéristiques et ainsi pouvaient, si possible, être associés à une famille de plantes. Les observations des plots ont été réalisées le long d'un parcours prédéfini (Figure 17).

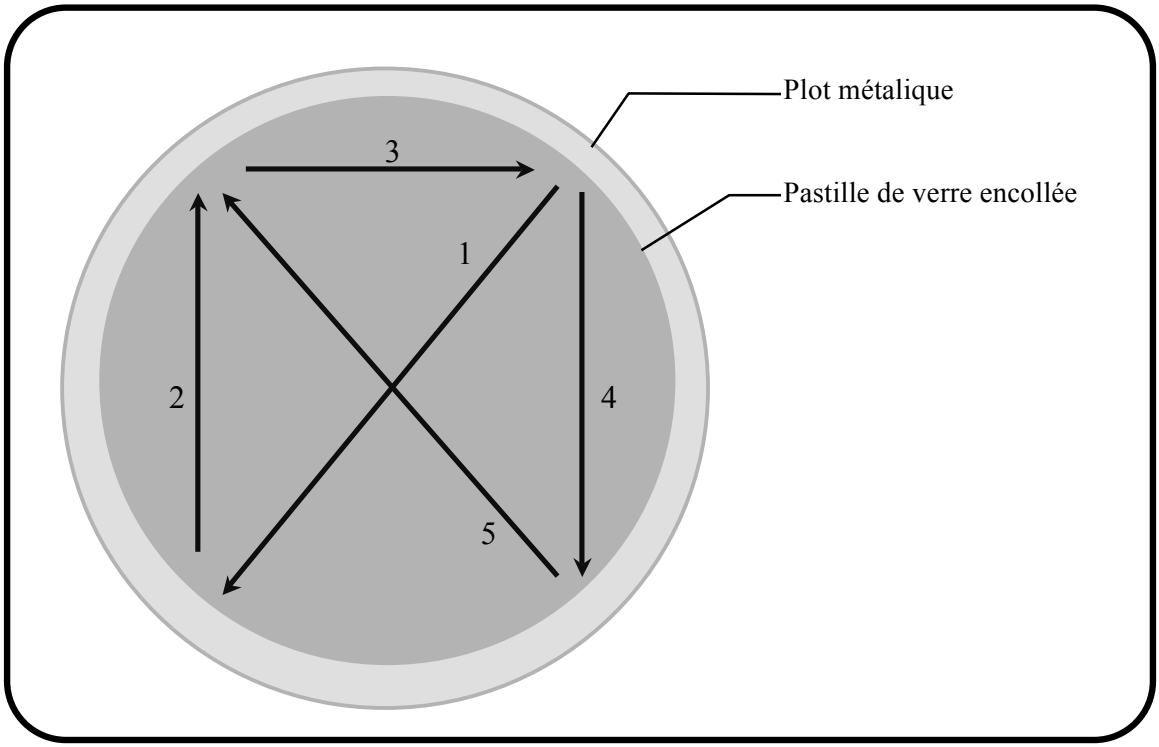


Figure 17. Parcours prédéfini pour l'observation de la charge pollinique d'insectes au MEB.

2.2.3. UN ECHANTILLONNAGE DU POLLEN DES PLANTES EN FLEURS SUR LES SITES D'ETUDE

Sur l'ensemble de chaque site et sur chaque espèce de plante en fleurs, où une capture d'insectes avait été effectuée ou non, 2 ou 3 fleurs (ou inflorescences ou ombelles ou capitules) en début d'anthèse ont été échantillonnées, identifiées. Des fleurs de colza ont également été prélevées sur différents champs de la région afin de mieux caractériser ce pollen. Les fleurs ont été conservées par espèce dans des sac en papier kraft.

Les sacs en papier kraft ayant servi à la récolte des fleurs de plantes dont la floraison était synchrone à celle du colza, ont été conservés à 40°C afin d'assurer une bonne déshydratation des échantillons et éviter le développement de moisissures. Les fleurs ont été ensuite disséquées afin de pouvoir prélever quelques grains de pollen. Aucun traitement chimique n'a été effectué sur les grains de pollen, nous travaillons ici avec du pollen « frais ». Pour chaque espèce, les observations ont été effectuées à l'aide du microscope électronique à balayage (MEB ; Philips XL30 ; Figure 18) de la plateforme de microscopie de l'Unité de Recherche de Pathologie Végétale de l'INRA d'Avignon. Les grains ont été déposés sur un plot métallique préalablement recouvert d'un ruban adhésif double face. Ces plots ont ensuite été

placés dans l'enceinte sous vide poussé du métalliseur pulvérisateur cathodique (Balzers) et métallisés à l'or afin de rendre l'observation au MEB possible. La métallisation a été effectuée pendant 120 secondes en utilisant un courant d'une amplitude de 30 mA.

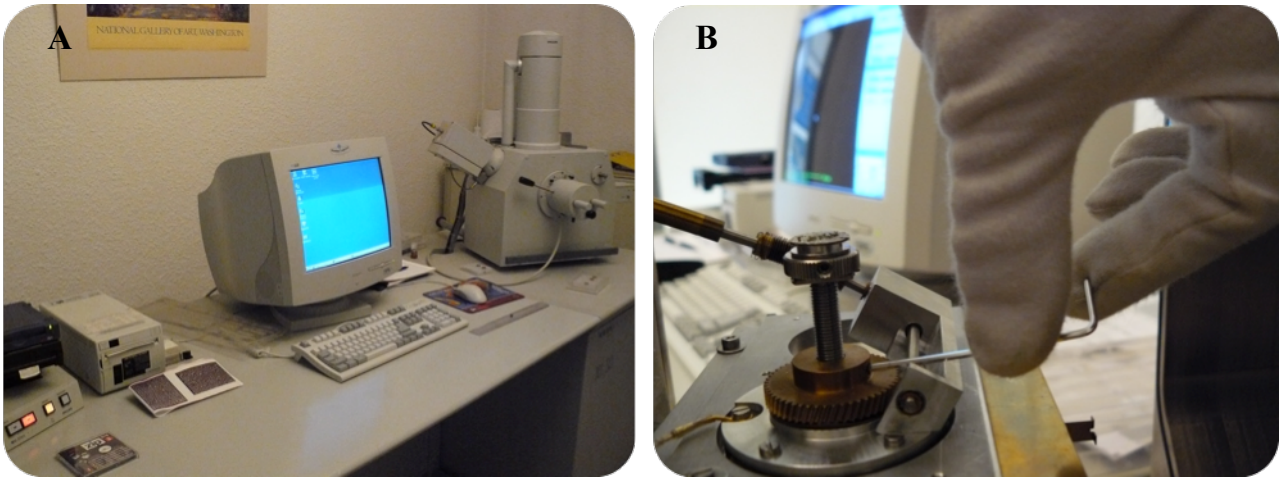


Figure 18. A : Microscope Électronique à Balayage Philips XL 30 et moniteur d'observation ; B : Mise en place d'un plot métallique sur lequel se trouve un échantillon métallisé dans la chambre du MEB.

Une collection de pollen de référence a été constituée. Cette collection a été utilisée d'une part pour déterminer la composition des charges en pollen transportées par les différents insectes pollinisateurs, et d'autres part pour vérifier la présence ou l'absence de pollen de colza dans leur charge pollinique. Les insectes transportant du pollen de colza ont été considérés comme des pollinisateurs de cette culture. Dans le cas d'une charge mixte (composée de plusieurs types de pollen), un seuil de 5 % minimum de pollen de colza dans la quantité totale a été établi pour pouvoir considérer l'insecte comme butineur de pollen de colza ; le cas échéant, il était considéré comme butineur de nectar tout au plus (Westrich 1986). Dans le cadre de cette thèse, ces insectes n'ont pas été exclus des analyses car ils participent potentiellement aux flux de gènes du colza.

3. LES FLUX DE GENES VIA LE POLLEN

Les expérimentations ont eu lieu en 2008 sur le site de Selommes (47°45'1" N lat., 1°11'8" E long., 120 m altitude; Loir-et-Cher, France; Pessel *et al.* 2001). L'ensemble des champs de colza (98 champs) a été cartographié en janvier et des prélèvements de feuilles ont été faits en avril pour connaître leurs génotypes. Des points d'échantillonnages, constitués de pieds de colza mâle-stériles (variétés Yudal, génotypes différents des plants de colza cultivés dans la zone) en fleurs ont été disposés à différentes distances des champs de colza les plus proches, au début de la floraison du colza sur le site. Ces plantes ont servi à estimer (i) la contribution des vecteurs de pollen de colza et l'influence sur la composition génétique des nuages polliniques (cette étude) et (ii) d'estimer la dispersion pollinique due aux insectes dans un paysage agricole de type openfield. Un nuage pollinique peut être défini comme le pool de pollen se trouvant au-dessus d'une plante ; ce nuage est toujours considéré comme efficace, c'est-à-dire qu'il engendre des graines.

Six points d'échantillonnage ont été choisis selon une échelle exponentielle de distances croissantes à partir du champ le plus proche (10, 20, 55, 150, 400 et 1100 m; Figure 19). Ces points ont été sélectionnés grâce au logiciel ArcView (Version 9.1; ESRI, Redlands, California). Quand cela était possible, nous avons sélectionné les points qui se situaient à des distances similaires de plusieurs champs. Toutes les populations férales de colza situées le long des voies d'accès (routes goudronnées et chemins de terre) ont également été cartographiées deux fois durant la saison. La première fois a eu lieu mi-avril durant la période de floraison du colza et la deuxième en juin (méthodes voir Pivard *et al.* 2008).

Sur chaque point d'échantillonnage, 12 plantes Yudal mâle-stériles ont été placées. Parmi ces 12 plantes, quatre ont servit de leurre afin de capturer au filet des insectes pollinisateurs du colza et huit ont servit à estimer la part des différents vecteurs de pollen dans la dispersion pollinique à l'échelle d'un paysage agricole.

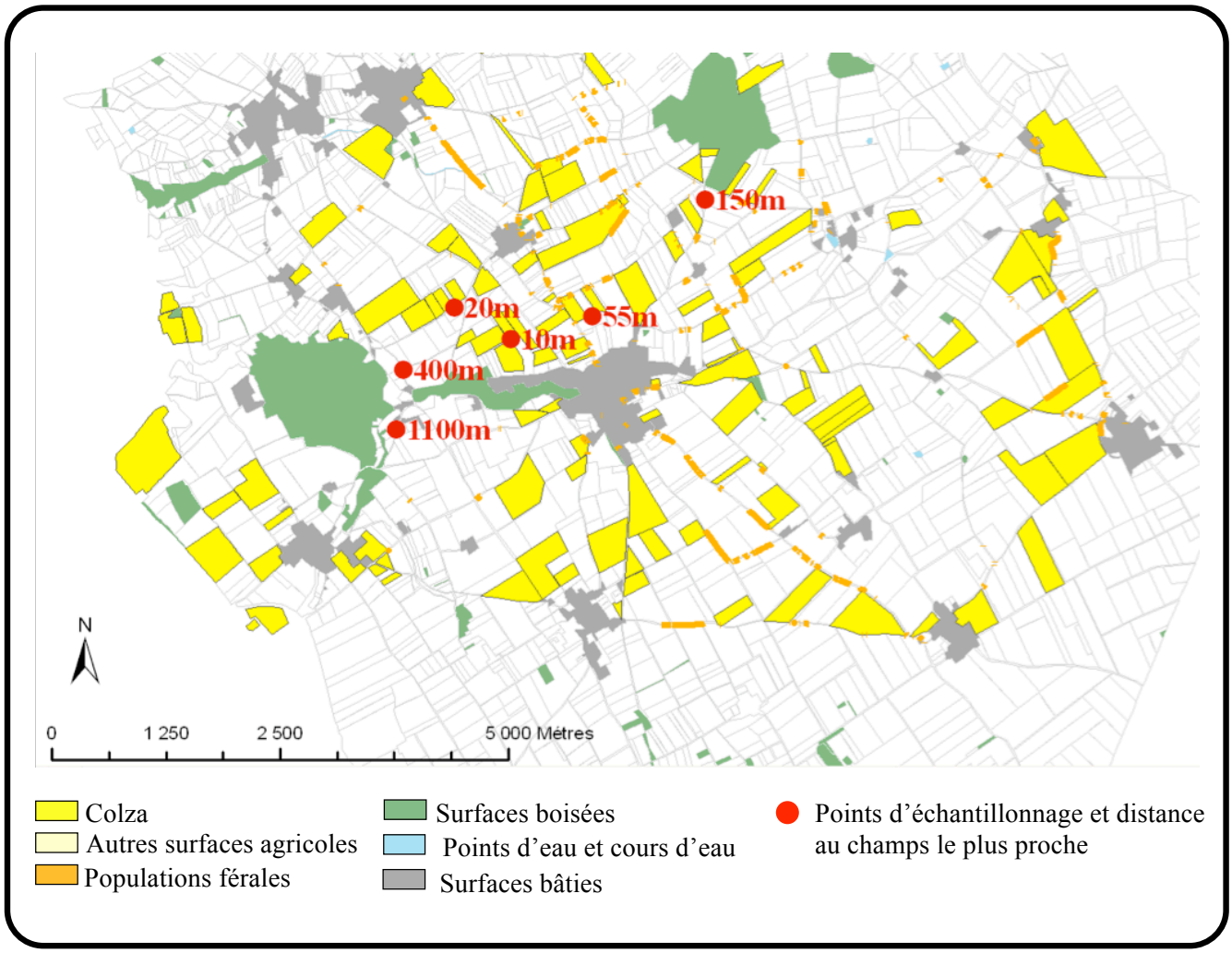


Figure 19. Répartition des champs de colza d'hiver dans la zone d'étude de 10 x 10 km et des populations férales le long des voies d'accès (routes goudronnées et chemins de terre) en 2008. Les six points d'échantillonnage ont été choisis selon une échelle exponentielle de distances croissantes par rapport au champ le plus proche.

3.1. DES TESTS PRELIMINAIRES POUR LA CONSERVATION ET LE MAINTIEN DE LA VIABILITE DU POLLEN

Le site d'étude de Selommes, où les captures d'insectes ont été réalisées en 2008, est distant de plus de 100 km de la serre de l'Université d'Orsay où les pollinisations manuelles ont été effectuées afin d'estimer l'importance des insectes dans la dispersion du pollen de colza. Des tests préliminaires ont été réalisés pour choisir une méthode permettant de maintenir la viabilité du pollen présent sur le corps des insectes entre leur capture à Selommes et leur utilisation à l'Université d'Orsay. Ces tests étaient essentiels puisque la viabilité du pollen de

colza en contact avec le corps d'abeilles domestiques diminue rapidement (Mesquida & Renard 1989).

Ces tests ont été réalisés à partir de deux cultures de colza dans deux serres « insect-proof » (empêchant l'entrée et la sortie d'insectes) à Avignon. La première culture était composée de deux cultivars de colza d'hiver (Aviso et Banjo) avec une colonie d'abeilles domestiques dans la serre. Sur cette culture, quelques fleurs ont été ensachées pour éviter la collecte du pollen par les abeilles. Ces fleurs servaient de témoin pour la mesure de la viabilité. La deuxième culture était constituée uniquement de plantes mâle-stériles (MS) de la variété Yudal et aucune ruche n'était disposée à l'intérieur de la serre.

3.1.1. UNE METHODE D'EUTHANASIE DES INSECTES

Deux méthodes d'euthanasie des insectes ont été comparées afin de déterminer si elles modifiaient la viabilité du pollen. Des abeilles domestiques ont été capturées au filet sur des fleurs de colza. Ces abeilles ont été euthanasiées par exposition soit (i) au cyanure contenu dans les boîtes à poisson, ce qui constitue la méthode usuelle au sein du laboratoire de pollinisation et d'écologie des abeilles et des entomologistes, soit (ii) au CO_2 émis par de la carboglace au sein d'un tube en verre Kimble.

Pour chaque traitement, deux lots de 6 abeilles ont été constitués. Les abeilles euthanasiées des lots 1 et 2 ont été stockées pendant 6 heures, respectivement à température ambiante et à une température réfrigérée de 6°C. La viabilité du pollen présent sur le corps des abeilles a ensuite été estimée à l'aide de la Réaction Fluoro-Chromatique (FCR) (Heslop-Harrison *et al.* 1984, Jahier 1992).

Lors de la FCR, le diacétate de fluorescéine non-fluorescent et apolaire pénètre dans le grain de pollen où il est hydrolysé par des estérases en fluorescéine, composé fluorescent et polaire retenu dans la cellule par la membrane plasmique. Après excitation en lumière ultra-violet, la fluorocéine présente une fluorescence vert brillant (Figure 20). Cette méthode mesure deux caractères : l'intégrité membranaire et l'activité estérasique. L'avantage de cette méthode est de différencier très facilement et rapidement les grains viables des grains non-viables. Elle peut cependant sous-estimer la viabilité lorsque le pollen est déshydraté (Stone *et al.* 1995, Pline *et al.* 2002).

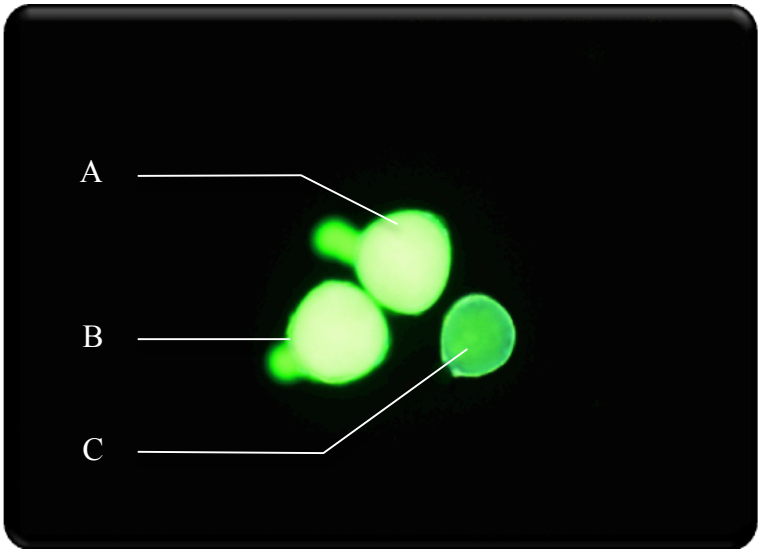


Figure 20. Photographie de grains de pollen de melon *Cucumis melo* observés lors de la Réaction Fluoro-Chromatique (FCR) en microscopie optique à épifluorescence. Les grains de pollen A et B sont considérés comme viables contrairement au grain C où seule la fluorescence naturelle de l'exine est visible. ©C.Dibos –Inra, Avignon-2008.

3.1.2. UNE METHODE DE POLLINISATION

Deux méthodes de pollinisations manuelles ont été comparées : (i) par extraction de la charge en pollen des abeilles par l'utilisation d'un solvant (pentane) (Risser & Rode 1984), (ii) par frottement direct des insectes sur le stigmate des fleurs, pour savoir laquelle permettait d'obtenir un plus grand nombre de graines.

Pour chaque méthode (extraction au pentane et frottement), 9 abeilles domestiques ont été utilisées. De plus, 9 fleurs ont été prélevées au moment des captures et stockées à 6°C afin de servir de témoin. Des pollinisations manuelles ont été réalisées 6 heures après les captures des abeilles. Pour chaque fleur pollinisée manuellement, le nombre de graines a été compté.

3.2. ESTIMATIONS DES FLUX DE POLLEN DUS AUX INSECTES A L'ECHELLE D'UN PAYSAGE AGRICOLE

3.2.1. UNE METHODE ORIGINALE CIBLEE SUR LE VECTEUR « INSECTE »

L'estimation de la dispersion du pollen de colza par les insectes a été réalisée à partir du pollen présent sur le corps des insectes. Les insectes ont été capturés au filet sur les plantes mâles stériles de variétés Yudal en fleurs présentes sur chaque point d'échantillonnage afin de certifiés que les insectes possédaient une préférence alimentaire pour le colza, mais aussi

d'éviter de pollen de colza de la plante de capture elle-même. Pour chaque point, les insectes vus en train de visiter une fleur de colza MS ont été capturés sans distinction de l'ordre ou du genre d'appartenance durant des laps de temps de 30 minutes choisis au hasard entre 10h00 et 17h00. L'échantillonnage n'a été réalisé que dans des conditions météorologiques favorables au butinage (température >12 °C, vitesse de vents ≤ 5 m/s, pas de précipitation et végétation sèche Wesphal *et al.* 2008). Le nombre d'insectes capturés par point a été tant que possible identique. Les insectes capturés dans le filet ont été tués à l'aide de CO_2 émis par de la carboglace et conservés dans des tubes en verre individuellement à l'intérieur d'un réfrigérateur de voiture à 2 °C.

Les insectes ont ensuite été transportés jusqu'à l'Université d'Orsay où des pollinisations manuelles ont été effectuées directement avec le corps des insectes pollinisateurs sur des fleurs MS de la variété Yudal. Les pollinisations manuelles ont été réalisées entre 3 et 6 heures après la dernière capture. Pour chaque insecte, un minimum de 5 fleurs MS a été pollinisé et des pollinisations étaient réalisées jusqu'à ce que le pollen visuellement présent sur le corps de l'insecte, observé sous une loupe frontale, ait disparu. Pour les melligethes du colza, *Melligethes aneus*, une seule pollinisation était réalisée en raison de leur petite taille.

Afin d'augmenter les chances d'aboutir à une fructification, une seule fleurs par plante a été pollinisée manuellement par le pollen transporté sur le corps de l'insecte à chaque date de capture (Figure 21). Chaque fleur pollinisée a ensuite été placée sous un sachet de tulle « fraise » afin d'éviter la perte des informations et des graines par ouverture prématurée des siliques et un code identique à celui de l'insecte lui a été associée. Les siliques ont été récoltées à maturité et les graines formées ont ensuite été dénombrées et analysées génétiquement.

Figure 21. Photographie d'une pollinisation manuelle par frottement direct de l'insecte contre le stigmate de la fleur

Chaque insecte a été identifié jusqu'à l'espèce (excepté deux guêpes de la famille des Sphecidae) et la distance entre les deux tegula, point d'insertion des ailes, a été mesuré avec un micromètre. La distance inter-tegullaires (IT span) est utilisée comme mesure de la taille de l'insecte, et est bien corrélée avec les distances de vol des abeilles (Cane 1987, Greenleaf *et al.* 2007).

3.2.2. ANALYSES STATISTIQUES

Le succès de grenaison est une variable binaire déclarant si un insecte a produit une graine à travers l'ensemble des pollinisations manuelles réalisées directement avec son corps. Le succès de grenaison peut être limité par (i) la quantité de pollen transportée par un insecte, (ii) le nombre de champs de colza visité par l'insecte (possibilité d'aucun), (iii) la disponibilité en pollen dans chaque champ, (iv) le nombre de fleurs d'espèces différentes visité par l'insecte depuis sa dernière visite d'une fleur de colza, (v) la viabilité du pollen sur le corps de l'insecte. Les variables testées dans les modèles étaient qualitatives (ordre, genre et espèce de l'insecte, effet de la date d'échantillonnage) et quantitatives (distance au champ de colza le plus proche, distance inter-tegullaires, température journalière, niveau de floraison et heure d'insolation).

Le succès de grenaison a été analysé à travers une régression logistique suivant une distribution binomiale et une fonction ayant un lien logit (proc GENMOD, SAS 9.1, SAS

Institute). Les effets des variables ont été calculés selon une approche de type III utilisant un test de rapport de vraisemblance. Dans la suite des résultats, seul le modèle logistique final a été reporté où seules trois variables significatives (distance au champ de colza le plus proche, distances inter-tegullaires et température journalière) ont été sélectionnées. Le nombre total de graines produites (transformation log) par insecte ayant produit au moins une graine a été analysé en utilisant un modèle linéaire avec la distance au champ de colza le plus proche, la distance inter-tegullaires, la température journalière et l'ordre de insecte ont été utilisés comme variables exploratoires.

3.3. TRANSPORT, COMPOSITION ET STRUCTURE DES NUAGES POLLINIQUES

3.3.1. PART DE CHAQUE VECTEUR DANS LA PRODUCTION DE GRAINES

3.3.1.1. L'UTILISATION DE TULLE POUR ESTIMER LE ROLE DES VECTEURS

L'évaluation de l'importance des différents vecteurs de pollen de colza a été réalisée grâce à l'utilisation de 8 plantes Yudal mâle-stériles ont été placées durant toute la période de floraison du colza à chaque point d'échantillonnage. Pour déterminer la part du vecteur « vent » dans la pollinisation du colza, les hampes florales de quatre des huit plantes utilisées ont été placées sous tulle blanc en nylon (polyamide) avec des mailles carrées de 0,7 x 0,7 mm afin d'empêcher les insectes de les visiter. Ce traitement qualifié de pollinisation sous tulle sera noté dans la suite de ce travail PsT (Figure 22). Les sachets de tulle utilisés lors de ces mesures ne permettent pas de mesurer la totalité du nuage pollinique, mais une proportion d'environ 70% (B. Vaissière, communication personnelle).

Les hampes florales des quatre autres plantes n'ont pas été ensachées durant toute la durée de l'expérimentation. Il s'agit du traitement pollinisation libre noté PL dans la suite de cette thèse. Les graines produites par les plantes laissées en PL pourront être considérées comme la résultante des nuages polliniques transportés par le vent et par les insectes.

Figure 22. Photographie d'une hampe florale de colza sous tulle pour mesurer le vecteur vent.

Enfin, quatre autres plantes MS ont été mises en place afin d'attirer les insectes pollinisateurs du colza. Les pollinisateurs observés en train de butiner les fleurs de ces plantes ont été capturés au filet, euthanasiés au CO_2 et des pollinisations manuelles ont ensuite été réalisées par frottement de leur corps sur le stigmate de plantes MS cultivées en serre. Dans la suite de ce travail, je parlerai de pollinisations manuelles (PM), même si ces pollinisations ont été réalisées par frottement d'un insecte. Les PM ont été réalisées pour (i) déterminer la composition génétique du nuage pollinique apporté par les insectes et (ii) évaluer la dispersion pollinique due aux insectes à l'échelle d'un paysage agricole. Les graines produites ont ensuite été comptées par traitement, par insecte et par distance.

3.3.1.2. ANALYSES STATISTIQUES POUR ESTIMER LE ROLE DES VECTEURS DANS LE TRANSPORT DU POLLEN

Le nombre de graines produites (transformation log) par plante a été analysé à travers une analyse de variance (ANOVA) à l'aide du logiciel XLstat. Les effets des variables ont été calculés selon une approche de type III. Les modalités des variables explicatives significatives ont ensuite été comparées deux à deux par le test HSD de Tukey, qui est un test de comparaisons multiples dont le but est de vérifier lesquelles des moyennes obtenues pour les différentes modalités d'un facteur sont significativement différentes entre elles.

3.3.1. DETERMINATION DE LA COMPOSITION ET DE LA DIVERSITE GENETIQUE DES NUAGES POLLINIQUES

3.3.1.1. UN ECHANTILLONNAGE OBLIGATOIRE DES GRAINES

Un total de 30571 graines a été ontenu tout traitements de pollinisation confondu (PM, PL et PsT). Pour des raisons de coût, il n'était possible de génotyper l'ensemble de ces graines. Sur les 4047 graines obtenues à partir des 455 pollinisations manuelles effectuées avec les 71 insectes capturés sur les fleurs de colza MS, un total de 1488 graines a été analysé génétiquement. Nous avons analysé un maximum 200 graines par insecte, ce qui représente en moyenne 92% du total de graines obtenu par insecte et l'ensemble des graines de 25 insectes sur 28. Pour seulement trois insectes, la totalité des graines n'a pas pu être analysée, nous avons échantillonné 200 graines parmi l'ensemble des graines obtenues pour ces insectes.

Les plantes laissées en PL ont permis la récolte de 23230 graines et les plantes en PsT ont permis la récolte de 3294 graines. L'ensemble des graines issues des plantes situées à 400 et 1100 m ont été analysées, pour toutes les autres plantes si le total des graines produites par une plante était inférieur à 150 graines alors l'ensemble des graines a été analysé génétiquement, mais si le total était supérieur à 150 graines alors 15% des graines étaient sélectionné au hasard. Au final, 5968 graines issues des plantes en PL et 784 graines issues des plantes en PsT ont été analysées.

Lors des expérimentations, les plantes placées sur le point d'échantillonnage se situant à 150 m d'un champ de colza ont subi un traitement d'herbicides anti-dicotylédones appliqué sur les champs de céréales à proximité de ce point. Malgré la formation de quelques siliques, nous avons préféré éliminer cette donnée de l'ensemble des analyses. D'autre part, aucune PM réalisée avec les insectes capturés à 400 m n'a abouti à la formation de graines.

Le nombre de graines produites par plante est une variable quantitative qui peut être expliquée par des variables qualitatives qui sont : (i) la distance au champ le plus proche (5 distances), (ii) le traitement de pollinisation (2 traitements : PL et PsT) et (iii) une interaction entre la distance au champ et le traitement de pollinisation (Tableau 4).

Tableau 4. Nombre de graines produites par les plantes placées durant toute la période de floraison des champs par distance et par traitement de pollinisation lors des expérimentations à Selommes en 2008.

TRAITEMENT DE POLLINISATION	DISTANCE AU CHAMP DE COLZA LE PLUS PROCHE				
	10 m	20 m	55 m	400 m	1100 m
PsT	1000	561	1689	20	24
PL	6870	4036	8882	1798	1245

3.3.1.2. UTILISATION DE MARQUEURS MICROSATELLITES ET CARACTERISATION DES GRAINES

Les graines issues des plantes en PsT, des plantes en PL, et des PM ont été génotypées par la plateforme de génotypage de l'INRA de Clermont-Ferrand (France). Le génotype des plantes mères étant connu au préalable (plantes MS *var.* Yudal) étant déjà connu, elles n'ont pas fait l'objet d'analyses génétiques supplémentaires. Le génotypage a été réalisé pour 8 locus microsatellites (Tableau 5). Ces marqueurs ont été sélectionnés parmi 100 marqueurs microsatellites provenant du "Biotechnology and Biological Science Research Council" (BBSRC, http://www.ukcrop.net/perl/ace/search/BrassicaDB). Ces marqueurs servent aux analyses génétiques pour le suivi des populations férales et des champs de colza réalisées par le laboratoire Ecologie Systématique et Evolution de l'Université Paris Sud XI (Orsay, France) et plus spécifiquement dans les thèses de Céline Devaux (2006), Aurélie Garnier (2006), Sandrine Pivard (2006) et Diane Bailleul (en cours). Ces 8 marqueurs ont été sélectionnés pour leur niveau de polymorphisme élevé permettant de discriminer le génotype de la variété Yudal parmi l'ensemble des autres variétés cultivées à Selommes et, dans une moindre mesure, les variétés cultivées sur le site de Selommes depuis 1998 entre elles.

L'extraction de l'ADN a été réalisée par l'adaptation de la méthode de Cheung *et al.* (1993), et son amplification par PCR (*polymerase chain reaction*) selon les méthodes de Middendorf *et al.* (1992) utilisant des marqueurs fluorescents et celle de Don *et al.* (1991) pour l'amplification.

Tableau 5. Marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage et taille des allèles en paire de base (PB) dans les variétés cultivées et dans la variété mâle-stérile Yudal (* allèles du génotype de la variété Yudal)

MARQUEUR	LOCUS	TAILLE DE L'ALLELE (PB)							
Ra2E11-A	1	170	186*	190	199	201			
Na12D08	2	74	75*	79	94	107	109	112	116
Na10H03	3	108	112*						
Ol12F02-A	4	112	118*						
Ol12F02-B	5	131	139*	142	144	171			
Ol11B05-A	6	111	120*						
Na14H11-A	7	103	108*						
Ra2A05-B	8	80	83	85*					

3.3.1.3. ANALYSE DE LA STRUCTURE GENETIQUE DES POPULATIONS

Si l'on considère l'ensemble des graines issues des différents traitement de pollinisation (PsT, PL et PM) aux différentes distances (10, 20, 55, 150, 400 et 1100 m) comme une seule population divisée en sous-populations correspondant aux différentes distances et aux différents traitements, il est possible d'utiliser les paramètres définis par Wright (1943, 1946) afin de décrire la structure de ces sous-populations (Encadré 4). Plus spécifiquement, le modèle TWOGENER (Smouse *et al.* 2001), est basé sur l'analyse des distances génétiques (et donc l'hétérogénéité) pouvant exister entre les gamètes mâles (ici le pollen). Les mères (ou femelles) sont considérées comme des pièges à pollen permettant d'échantillonner le pool de gamètes mâles présents dans une zone donnée. Pour chaque graine échantillonnée, Smouse *et al.* (2001) suppriment la participation gamétique de la mère et basent leur analyse de l'hétérogénéité génétique sur l'utilisation de la participation gamétique du père. Les auteurs définissent le paramètre Φ_{FT} qui estime la différenciation entre pools de gamètes mâles et qui est semblable au F_{ST} de Wright (1943, 1946). En effet, le Φ_{FT} explique la part de la variance due aux différences entre les femelles. Ainsi, dans les analyses réalisées dans cette étude, connaissant le génome de la plante mère de variété Yudal, pour chaque graine nous avons soustrait la contribution maternelle pour obtenir le gamète mâle reçu par la plante-capteur. Nous avons ensuite utilisé les logiciels classiques de génétique des populations en créant des haploïdes doublés à partir des génotypes des pères.

Dans le cas de cette thèse, seul le paramètre Φ_{FT} permettant la comparaison entre les sous-populations a été utilisé car cet indice permet la mesure du déficit, par rapport à la structure de Hardy-Weinberg, dû à la différenciation entre les sous-populations. Cet indice a été calculé à l'aide du logiciel GENEPOP 4.0 (Raymond & Rousset, 1995). Des tests exacts de

différenciation génique globaux ont été effectués à l'aide de GENEPOP 4.0, l'hypothèse nulle testée étant : « la distribution allélique est identique dans toutes les populations ». Pour chaque locus, ce programme construit des tables de contingence, décrivant la composition allélique dans chaque population. Des comparaisons deux a deux de chaque population sont réalisées grâce à des valeurs de Φ_{FT} *pairwise*. Pour chaque valeur, un test exact de Fisher est réalisé (Raymond & Rousset, 1995) et une estimation non biaisée de la valeur de probabilité du test exact de Fisher est donnée.

Les analyses ont été réalisées sur une structuration soit (i) inter-distance, c'est-à-dire que chaque sous-population de graines correspond à l'ensemble des graines échantillonnées à une distance donnée, (ii) inter-individu au sein de chaque traitement et/ou distance, c'est-à-dire que chaque groupe de graines correspond à l'ensemble des graines d'un individu (insecte, plante en PsT ou PL) par distance afin d'obtenir des informations sur le niveau de divergence génétique entre les graines des individus ayant subit un même traitement de pollinisation à une même distance, (iii) inter-traitement au sein des distances, c'est-à-dire que chaque groupe de graines correspond à l'ensemble des graines des individus ayant subi un même traitement de pollinisation à une distance donnée, afin d'obtenir des informations sur le niveau d'hétérogénéité par traitement en fonction de la distance.

3.3.1.4. DIVERSITE GENETIQUE DES POPULATIONS

Le polymorphisme génétique est la coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou locus donné dans une population. C'est le fait qu'une espèce présente des individus différents au sein d'une même population. Le polymorphisme correspond donc aux variations de la séquence des nucléotides d'un gène dans une population. Considérons deux gènes A et B pour lesquels il existe plusieurs allèles : A_1, A_2, A_3, A_4 et B_1, B_2, B_3, B_4. Les différentes combinaisons de gènes et d'allèles donnent naissance à des génotypes divers tels que [$A_1A_1B_1B_1$], [$A_1A_2B_1B_1$], [$A_1A_3B_1B_1$], [$A_2A_4B_2B_3$]. Dans le cadre de cette étude, le polymorphisme étudié était basé sur celui d'ADN microsatellites, il était donc constitué par le nombre de répétition des séquences.

L'indice de polymorphisme ou indice de diversité de Nei (1973) mesure le polymorphisme pour un gène en fonction des fréquences de chaque allèle dans une population. Ce calcul peut être appliqué pour n'importe quelle population sans se soucier du nombre d'allèles à chaque locus ou des forces évolutives (mutation, sélection ou migration). Supposons qu'il existe n allèles à un locus donné et que la fréquence du $i^{ème}$ allèle est x_i dans la population, il est

possible d'après l'indice de Nei de calculer d'une part la diversité génétique H_e de la population selon :

$$H_e = 1 - \sum x_i^2$$

(Nei 1973).

La diversité génétique a été calculé pour chaque individu (Plante PsT ou PL, insecte-PM) à chaque distance, excepté pour les individus dont la production de graines était inférieure à $n < 3$. Pour chaque traitment de pollinisation (PL, PsT ou PM), les individus (plante ou insecte) ont été comparés deux à deux à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis pour chaque distance échantillonnée avec le logiciel R version 2.7.0 (R Core Team 2009).

LA STRUCTURE D'HARDY-WEINBERG

Le premier modèle, concernant la structure génotypique d'une population, a été publié par le mathématicien G.H. Hardy et par le médecin W. Weinberg de façon simultanée et indépendante. Dans leur modèle, ils ont adopté des hypothèses permettant de simplifier les calculs et les raisonnements:

H_1: les gamètes s'associent au hasard par rapport aux gènes considérés, c'est l'hypothèse de panmixie.

H_2: la population a une taille infinie; la fréquence d'un événement est donc égale à sa probabilité.

H_3: la fréquence des gènes n'est pas modifiée d'une génération à la suivante par la mutation, la sélection ou encore la migration.

Ainsi pour une population diploïde, pour un locus A ayant deux allèles en fréquence respective p et $q = 1-p$, sous les hypothèses H_1 et H_2, la structure génotypique de la nouvelle génération sera:

Individus AA	p^2
Individus Aa	$2pq$
Individus aa	q^2

Cette structure génotypique est appelée structure de Hardy-Weinberg.

Selon l'hypothèse H_3, les gamètes que produira cette nouvelle génération contiendront:

le gène A en fréquence	$p' = p^2+(2pq)/2 = p(p+q) = p$
le gène a en fréquence	$q' = q^2+(2pq)/2 = q(p+q) = q$

Ainsi, sous ces hypothèses, la fréquence des gènes et des génotypes ne varient pas d'une génération à l'autre.

STRUCTURE SPATIALE DES POPULATIONS ET "STATISTIQUE" F DE WRIGHT

Dans une population, plusieurs causes d'écart (dérive génétique, dépression de consanguinité, effet Wahlund) à la structure de Hardy-Weinberg peuvent se superposer: la population peut être structurée en plusieurs sous-populations. De plus, chaque sous-population peut s'écarter de la structure de Hardy-Weinberg pour diverses raisons (régime de reproduction non panmictique, mutation…). Wright (1951) a définit différents paramètres pour décrire les populations dans ces situations:

F_{IS} mesure l'écart à la structure de Hardy-Weinberg à l'intérieur des sous-populations (*IS* pour "individu dans sous population") dans la $i^{éme}$ sous-populations la proportion d'hétérozygotes est en moyenne:

$$H_i = 2p_iq_i \times (1-F_{IS})$$

F_{ST} mesure le déficit dû à la différenciation entre sous-populations (*ST* pour « sous-population dans total »):

$$F_{ST} = V(p)/PQ$$

Où P est la fréquence moyenne de l'allèle A sur l'ensemble des populations, Q celle de l'allèle a, et $V(p)$ est la variance des fréquences alléliques.

F_{IT} mesure l'écart global à la structure de Hardy-Weinberg dans l'ensemble (*IT* pour « individu dans le total »):

$$H = 2PQ \times (1 - F_{IT})$$

Encadré 4. Notions de génétique des populations : la structure de Hardy-Weinberg et les paramètres *F* de Wright.

3.3.1.5. ESTIMATIONS DE LA PART DU VENT DANS LE TRANSPORT DU NUAGE POLLINIQUE TOTAL

Souvent, les taxa étroitement liés, ont été précédemment isolés géographiquement, dans l'histoire phylogénétique, avant d'être mis en contact suite à des perturbations plus récentes de leur habitat. Des hybridations peuvent alors se produire quand des individus de différents taxa se reproduisent entre eux et produisent donc une descendance. Ainsi, deux populations divergent d'une population commune puis peuvent s'hybrider. La plupart des échantillonnages actuels recensent les descendants connus des deux populations parentales et de la population hybride. Des méthodes d'analyses des données génétiques permettent d'estimer la proportion de mélange μ (admixture) entre les populations ancestrales (Beaumont 2007, Figure 23).

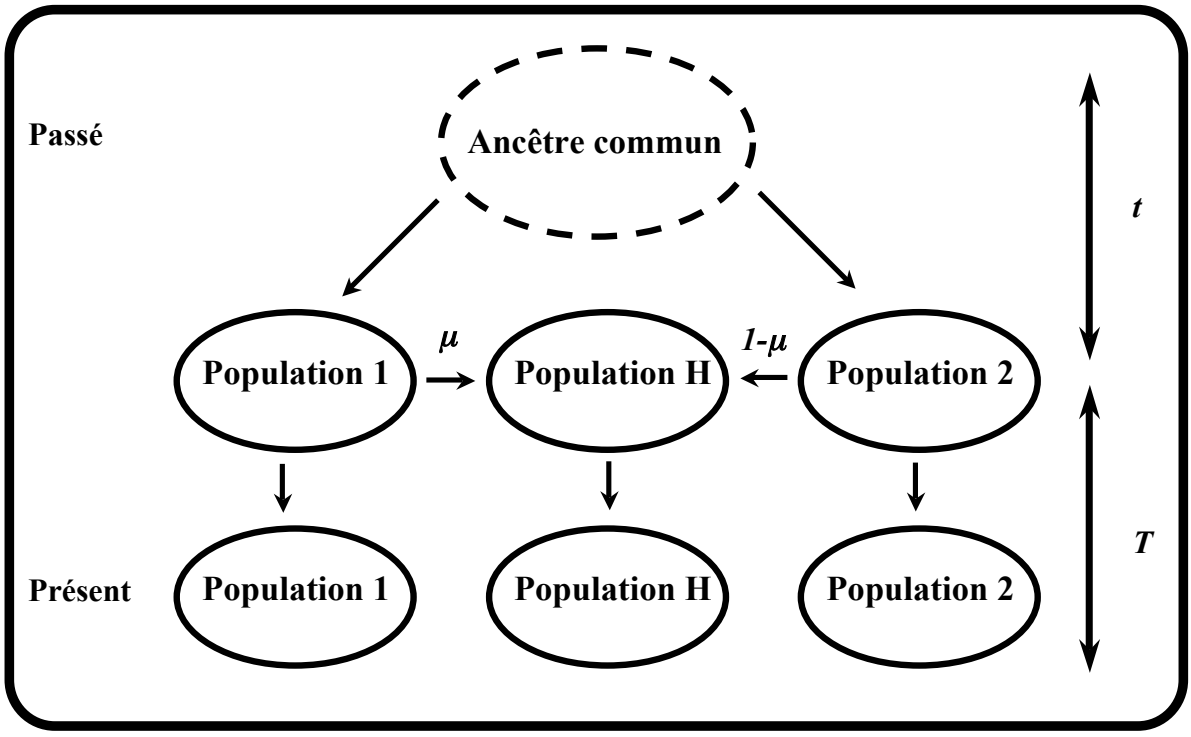


Figure 23. Illustration du modèle d'admixture. Les deux populations parentales (1 et 2), se différencient de l'ancêtre commun durant une période d'un temps *t*, et s'hybrident pour produire une population hybride H, avec une proportion μ des allèles de la population 1 et *1-*μ de la population 2. Ces populations divergent et se distinguent les unes des autres au cours d'un temps *T* sans participation de phénomène de migration.

Les graines produites par les plantes laissées en PL peuvent être considérées comme résultant du nuage pollinique total (insecte + vent). Ce nuage pollinique est constitué d'une proportion μ correspondant au nuage pollinique transporté par le vent et d'une proportion 1-μ correspondant au nuage pollinique transporté par les insectes. Ainsi, à partir des données

génétiques des graines PL, PsT et PM, nous avons estimé cette proportion μ, en nous basant sur la méthode d'estimation du taux d'admixture *D* selon les estimations de Chakraborty *et al.* (1992):

$$D_Z^{(0)} = \mu(1-\mu)\delta_A\delta_B$$

où Z est la population admixtée (ici PL) ayant obtenu une fraction μ de la population *X* (ici PsT) et 1-μ de la population *Y* (ici PM), et A et B sont deux loci non affecté par la sélection, $\delta_A = \left[p_A(X) - p_A(Y)\right]$ et $\delta_B = \left[p_B(X) - p_B(Y)\right]$.

Dans le cadre de cette étude nous avons fait le choix de travailler avec les estimations de Chakraborty *et al.* (1992) qui permettent de travailler pour des loci à plusieurs allèles. D'autre part, nous comparerons ces estimations avec les données, de la méthode d'échantillonnage instantanée basée sur l'abondance des graines, présentées au chapitre 5.

PARTIE 1: DESCRIPTION DE LA FAUNE FLORICOLE ET POLLINISATRICE DU COLZA

1. DIVERSITE ET ABONDANCES DES INSECTES FLORICOLES DU COLZA

Notre objectif est ici de caractériser les communautés d'abeilles et de syrphes diffèrent entre nos trois sites d'étude, du point de vue de la richesse spécifique (nombre d'epèces) et de l'abondance (nombre d'individus), mais également de la composition spécifique (espèces présentes). Nos données ont été récoltées au cours de deux années d'échantillonnage (2007 et 2008) que nous analysons séparément car les méthodes de captures des insectes pollinisateurs ne sont pas identiques (méthodes décrites dans le chapitre Matériel et Méthode**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

Les sites de Pleine-Fougères Sud (PFS) et Pleine-Fougères Nord (PFN), très proches géographiquement, partagent sans doute un pool régional commun d'espèces. Notre hypothèse est que PF est plus favorable aux abeilles et aux syrphes car l'agriculture y est moins intensive et les habitats semi-naturels (prairies, haies) plus présents qu'à Selommes (SEL). Le site de SEL cumule le fait d'être localisé dans une région distante de 250 km de PF et de présenter un paysage et un type radicalement différent d'agriculture. Les éléments semi-naturels y sont peu présents, mais les cultures entomophiles occupent de plus grandes surfaces. Ainsi, il est intéressant de s'interroger sur l'existence des facteurs géographiques et paysagers responsables d'une différenciation des communautés faunistiques au sein des sites de PF et SEL, et donc indirectement qui pourraient avoir un impact sur la dispersion du pollen au sein des paysages agricoles.

Nos hypothèses de travail étaient que les trois sites d'étude ne possèdaient pas la même faune pollinisatrice. Le site de PF, par son agriculture plus extensive et sa plus grande proportion d'habitat semi-naturel, présente plus de sites nécessaires au développement de la faune pollinisatrice (sites de nidification, de reproduction et d'alimentation) et donc doit posséder une plus grande diversité de pollinisateurs que le site de SEL où l'agriculture est plus intensive et le paysage moins diversifié.

1.1. DESCRIPTIONS DES COMMUNAUTES D'INSECTES

Au total, tous sites confondus, l'ensemble des captures au filet (2007 et 2008) ont permis d'échantillonner 400 abeilles et 269 syrphes. On dénombre 38 espèces d'abeilles et 25 espèces de syrphes. Une liste des espèces est présentée en Tableau 8 (Abeilles) et Tableau 11 (Syrphes).

1.1.1. DESCRIPTION DES CAPTURES D'ABEILLES

1.1.1.1. LA RICHESSE SPECIFIQUE

En 2007, le nombre total d'espèces d'abeilles est de 12 à PFS et à PFN et 18 à SEL. La richesse spécifique par bordure est la même à PFN, PFS et SEL ($P > 0{,}016$). En 2008, le nombre total d'espèces d'abeilles capturées est de 22 à PF et de 20 à SEL. Les richesses spécifiques par bordure ne diffèrent pas significativement entre les deux sites ($W = 593$, $P = 0{,}2666$) (Figure 24).

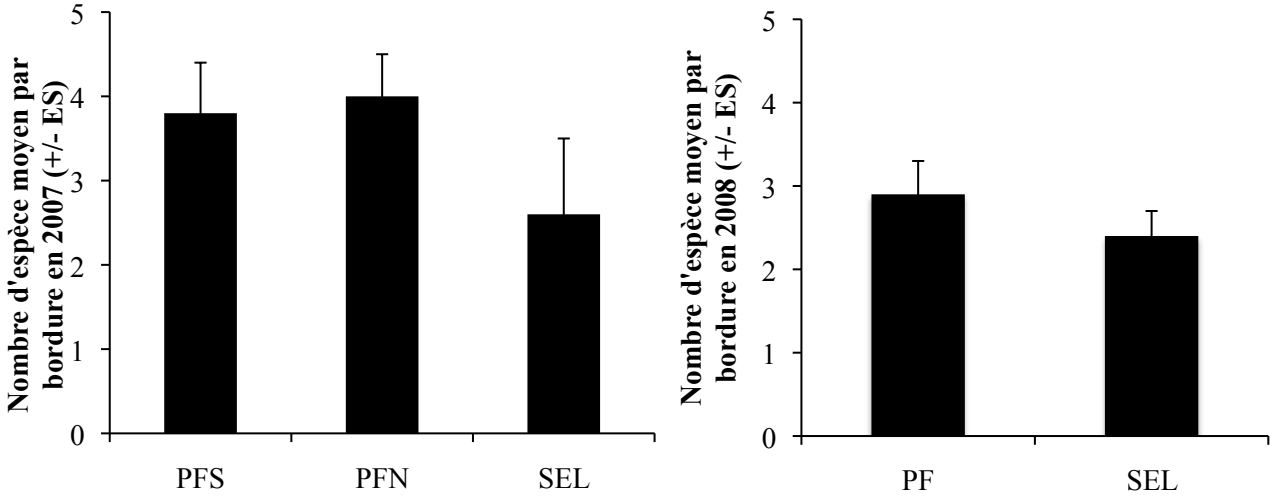


Figure 24. Richesse spécifique moyenne d'abeilles par bord de champ dans chaque site en 2007 (a) et 2008 (b). PF: Pleine-Fougères, S: Sud, N: Nord, SEL: Selommes

Au total, en considérant les deux années d'échantillonnage, le nombre d'espèces d'abeilles détectées est de 24 sur les sites de PF et de 28 à SEL (Tableau 6).

Tableau 6. Richesse spécifique des abeilles dans les trois sites d'étude en 2007 et 2008. En 2007, les abeilles ont été capturées au filet, sur 10 bords de champs de colza dans chaque site lors d'un transect de 20 min. En 2008, les abeilles ont été capturées sur 32 bordures de 16 champs. Afin d'obtenir le nombre de champs nécessaire les sites PFS et PFN ont été regroupé en un site PF. Les moyennes sont indiquées avec leur erreur standard.

	RICHESSE SPECIFIQUE TOTALE			RICHESSE SPECIFIQUE MOYENNE PAR BORDURE							
	2007	2008	2007+2008	2007				2008			
				Moy	± ES	Min	Max	Moy	± ES	Min	Max
PFS	12	22	24	3,8	0,6	1	5	2,9	0,3	0	7
PFN	12			4	0,5	0	6				
SEL	18	20	28	2,6	0,9	1	10	2,4	0,3	0	7
TOTAL	23	47	38								

1.1.1.2. L'ABONDANCE

En 2007, le nombre total d'abeilles capturées est de 28 à PFS, 40 à PFN, 106 à SEL. Aucune différence significative n'est observée entre les sites de PFS et PFN (W=47, P=0,8485). Cependant PFS et PFN différent tous les deux du site de SEL (respectivement W=9, P=0,002 ; W=12, P=0,0044) (Figure 25).

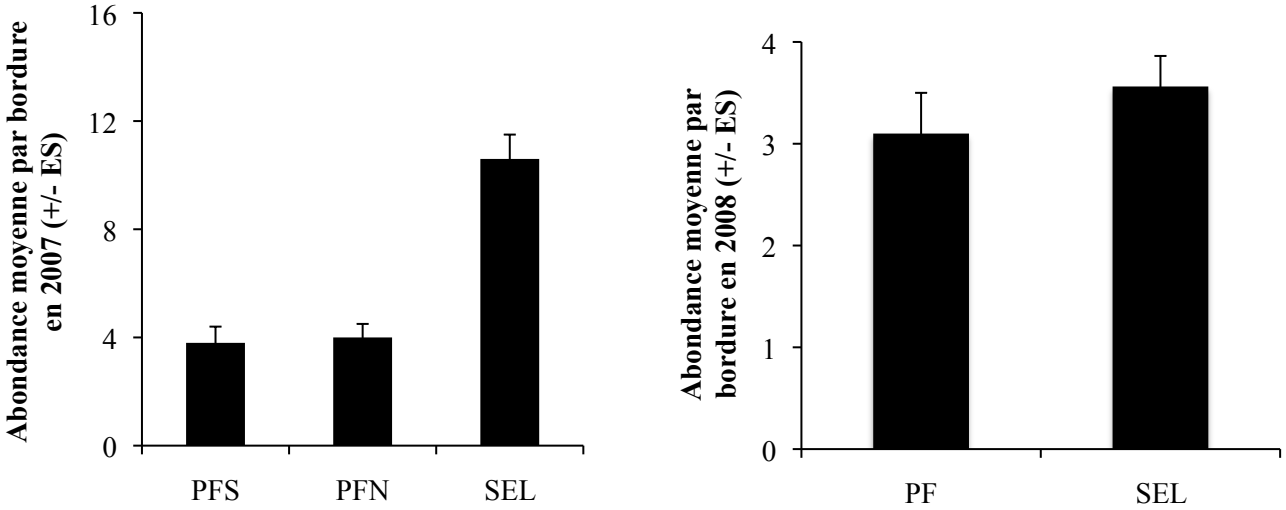


Figure 25. Abondance moyenne d'abeilles par bord de champ dans chaque site en 2007 (a) et 2008 (b). PF: Pleine-Fougères, S: Sud, N: Nord, SEL: Selommes. L'échelle des deux ordonnées n'est pas la même

En 2008, le nombre total d'abeilles capturées est de 114 à PF et 102 à SEL. Les abondances par bordure ne diffèrent pas significativement entre les deux sites (W=579, P=0,3575) (Figure 25 ; Tableau 7).

Tableau 7. Abondance des abeilles dans les trois sites d'étude en 2007 et 2008. En 2007, les abeilles ont été capturées au filet, sur 10 bordures de champs de colza dans chaque site lors d'un transect de 20 min. En 2008, les abeilles ont été capturées sur 32 bords de 16 champs. Afin d'obtenir le nombre de champs nécessaire les sites PFS et PFN ont été regroupé en un site PF. Les moyennes sont indiquées avec leur erreur standard.

	ABONDANCE TOTALE			ABONDANCE MOYENNE PAR BORDURE							
	2007	2008	2007+2008	2007				2008			
				Moy	± ES	Min	Max	Moy	± ES	Min	Max
PFS	28	114	192	3,8	0,7	1,0	6	3,6	0,4	0	9
PFN	40			4	0,8	0	7				
SEL	106	102	208	10,6	1,5	2	16	3,1	0,5	0	12
Total	184	216	400								

1.1.1.3. COMPOSITION DES COMMUNAUTES D'ABEILLES

Pour les deux années, dans chacun des sites les communautés d'abeilles sont dominées par quelques espèces abondantes. En effet, 3 ou 4 espèces ont une abondance relative supérieure à 10 % mais le nombre d'individus capturés reste peu important (surtout à PF $5 < n < 10$). La grande majorité des espèces sont présentes en très faibles effectifs (Figure 26 et Figure 27). A titre indicatif, dans chaque site, chaque année, la proportion des espèces dont le nombre d'individus capturés n'excède pas cinq est environ de 64 % (cette proportion varie entre 58 et 70 % selon le site et l'année, Tableau 8).

Dans tous les cas, ce sont des espèces du genre *Andrena* qui sont les plus abondantes, en particulier *Andrena cineraria, A. haemorrhoa* et *A. dorsata* dans les trois sites, *A. dorsata* à PFS et PFN, et *Andrena flavipes*, surtout à SEL (Figure 26 et Figure 27). A PF, des espèces du genre *Bombus* spp. présentent une abondance supérieure à 10 % chacune des deux années, ce qui n'est pas le cas à SEL.

Tableau 8. Effectifs d'abeilles capturées en train de visiter des fleurs de colza sur le site de PF et sur le site de SEL en 2007 et 2008

ESPECES	PLEINE-FOUGERES	SELOMMES	TOTAL
Andrena cineraria	28	29	57
Andrena haemorrhoa	27	44	71
Andrena dorsata	24	1	25
Andrena nitida	15	10	25
Bombus terrestris	15	5	20
Andrena carantonica	12	2	14
Bombus lapidarius	8	8	16
Andrena flavipes	6	32	38
Andrena lagopus	5	11	16
Andrena nigroaenea	3	19	22
Osmia rufa	2	1	3
Andrena gravida	1	6	7
Andrena similis	1	1	2
Nomada fucata	1	1	2
Bombus pratorum	30		30
Bombus pascuorum	6		6
Andrena fulva	1		1
Andrena synadelpha	1		1
Bombus hypnorum	1		1
Colletes cunicularius	1		1
Nomada bifasciata	1		1
Nomada flava	1		1
Nomada goodeniana	1		1
Xylocopa violacea	1		1
Andrena distinguenda		15	15
Nomada lathburiana		6	6
Andrena chrysoceles		3	3
Dolerus haematodes		2	2
Lasioglossum pauperatum		2	2
Sphecodes rufricrus		2	2
Andrena angustior		1	1
Andrena fulvata		1	1
Andrena pilipes		1	1
Andrena strohmella		1	1
Anthophora plagiata		1	1
Anthophora plumipes		1	1
Eucera nigrescens		1	1
Osmia brevicornis		1	1

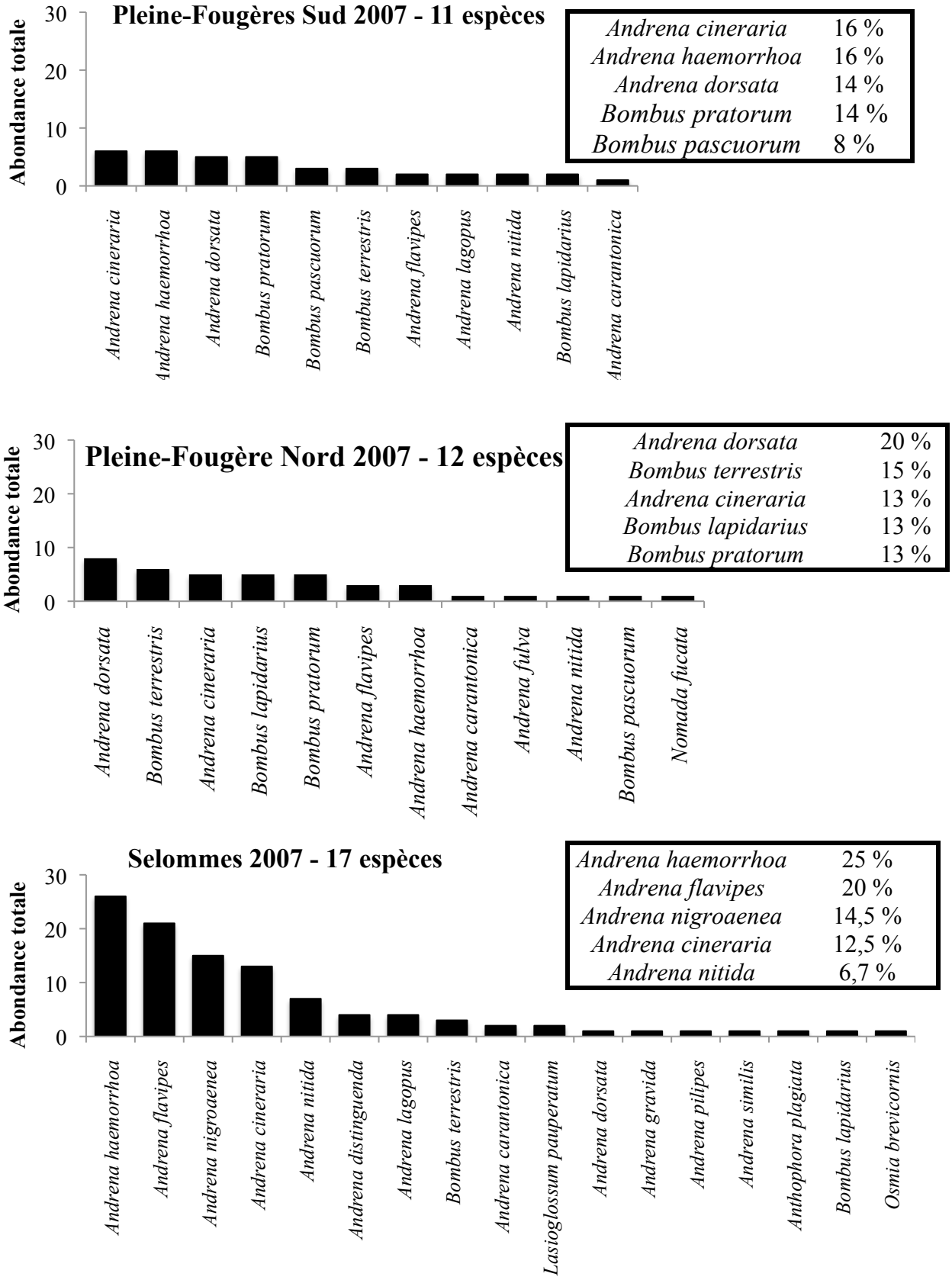


Figure 26. Diagramme rang-espéces des abeilles de chaque site en 2007, basé sur le nombre d'individu par espèce. Dans l'encadré, la proportion des cinq espèces les plus abondantes parmi les abeilles est donnée pour chaque site

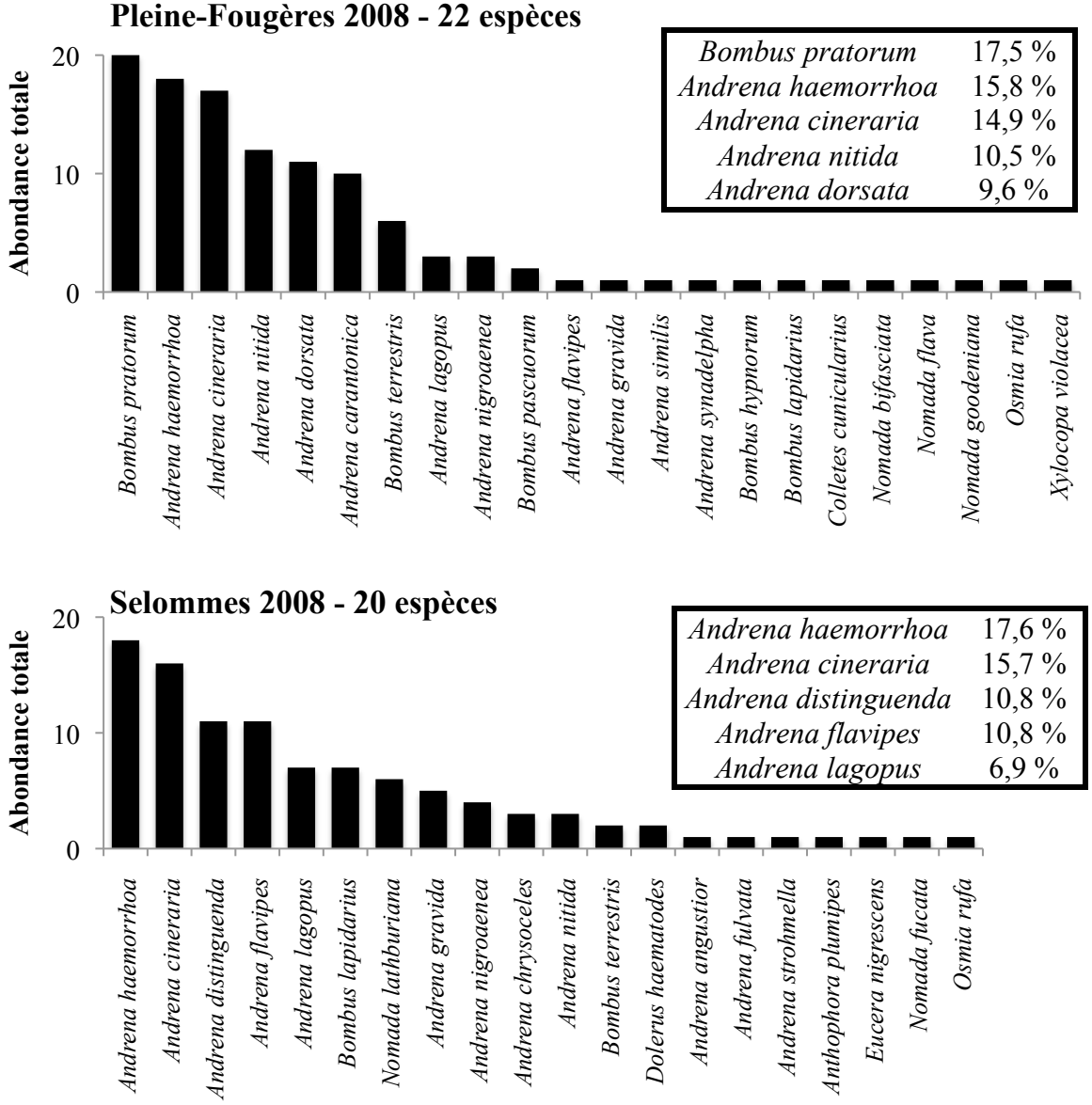


Figure 27. Diagramme rang-espéces des abeilles de chaque site en 2008. Dans l'encadré, la proportion des cinq espèces les plus abondantes parmi les abeilles est donnée pour chaque site

1.1.2. DESCRIPTION DES CAPTURES DE SYRPHES

1.1.2.1. LA RICHESSE SPECIFIQUE

En 2007, le nombre total d'espèces de syrphes est de 9 à PFS et à PFN et 7 à SEL. La richesse spécifique par bordure ne diffère pas entre les sites. En 2008, le nombre total d'espèces de syrphes capturées est de 14 à PF et de 3 à SEL. Les richesses spécifiques par bordure diffèrent significativement entre les deux sites (W= 925,5, P=7,15.E^{-9}) (Figure 28).

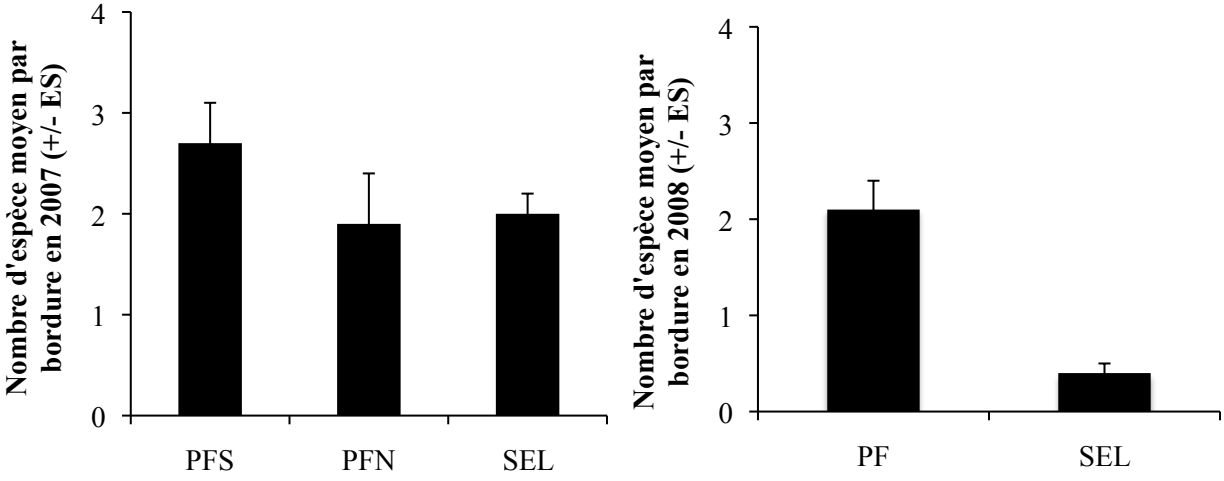


Figure 28. Richesse spécifique moyenne de syrphes par bord de champ dans chaque site en 2007 (a) et 2008 (b). PF: Pleine-Fougères, S: Sud, N: Nord, SEL: Selommes

Au total, en considérant les deux années d'échantillonnage, le nombre d'espèces détectées est de 20 sur les sites de PF et de 8 à SEL (Tableau 9).

Tableau 9. Richesse spécifique des syrphes dans les trois sites d'étude en 2007 et 2008. En 2007, les syrphes ont été capturés au filet, sur 10 bords de champs de colza dans chaque site lors d'un transect de 20 min. En 2008, les syrphes ont été capturés sur 32 bords de 16 champs. Afin d'obtenir le nombre de champs nécessaire les sites PFS et PFN ont été regroupé en un site PF. Les moyennes sont indiquées avec leur erreur standard.

	RICHESSE SPECIFIQUE TOTALE			RICHESSE SPECIFIQUE MOYENNE PAR BORDURE							
	2007	2008	2007+2008	2007				2008			
				Moy	± ES	Min	Max	Moy	± ES	Min	Max
PFS	9	14	20	2,7	0,4	1	5	2,1	0,3	0	6
PFN	9			1,9	0,5	0	5				
SEL	7	3	8	2	0,2	1	3	0,4	0,1	0	2

1.1.2.2. L'ABONDANCE

En 2007, le nombre total de syrphes capturés est de 24 à PFN, 67 à PFS, et de 44 à SEL. La seule différence significative est observée entre PFS et PFN (W=88,5 ; P=0,004 ; Tableau 10). En 2008, le nombre total de syrphes capturés est de 211 à PF et de seulement 14 à SEL. Les abondances moyennes par bordure diffèrent significativement entre ces deux sites (W=948,5 ; P=1,5.E^{-9}) (Tableau 10 ; Figure 29).

Tableau 10. Abondance des syrphes dans les trois sites d'étude en 2007 et 2008. En 2007, les syrphes ont été capturés au filet, sur 10 bords de champs de colza dans chaque site lors d'un transect de 20min. En 2008, les syrphes ont été capturés sur 32 bords de 16 champs. Afin d'obtenir le nombre de champs nécessaire les sites PFS et PFN ont été regroupé en un site PF. Les moyennes sont indiquées avec leur erreur standard.

	ABONDANCE TOTALE			ABONDANCE MOYENNE PAR BORDURE							
	2007	2008	2007+2008	2007				2008			
				Moy	± ES	Min	Max	Moy	± ES	Min	Max
PFS	67	120	211	6,7	1	2	12	3,8	0,4	0	10
PFN	24			2,4	0,6	0	5				
SEL	44	14	58	4,4	0,6	1	7	0,5	0,2	0	4
TOTAL	135	134	269								

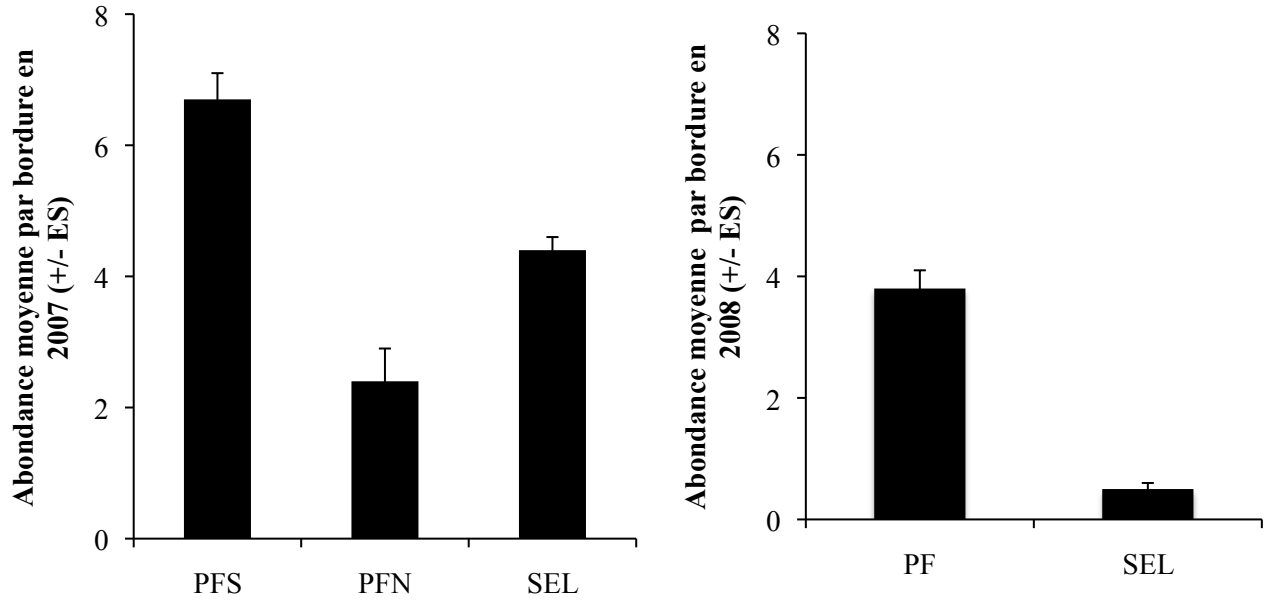


Figure 29. Abondance moyenne de syrphes par bordure dans chaque site en 2007 (a) et 2008 (b). PF: Pleine-Fougères, S: Sud, N: Nord, SEL: Selommes

1.1.2.3. COMPOSITION DES COMMUNAUTES DE SYRPHES

Pour les deux années, les communautés de syrphes sont dominées par quelques espèces (Tableau 11). Cela est particulièrement marqué à PFS en 2007 et PF en 2008, où une espèce, *Rhingia campestris*, représente respectivement 68 et 58 % de l'abondance totale (Figure 30, Figure 31). C'est aussi le cas à SEL, avec une autre espèce, *Melanostoma mellinum* (en 2007, 64 % de l'abondance totale en syrphes et en 2008, 86 %). La composition spécifique diffère de façon importante entre les sites de PF et le site de SEL. Tout d'abord, l'espèce largement majoritaire à PF, *Rhingia campestris*, est absente de SEL. Ensuite, l'espèce la plus abondante à SEL, *Melanostoma mellinum* n'est que très faiblement représentée à PF.

Tableau 11. Effectifs de syrphes capturés en train de visiter des fleurs de colza sur le site PF et sur le site de SEL en 2007 et 2008

ESPECES	PLEINE-FOUGERES	SELOMMES	TOTAL
Eristalis tenax	10	1	11
Melanostoma mellinum	3	40	43
Episyrphus balteatus	2	6	8
Syrphus vitripennis	2	2	4
Rhingia campestris	121		121
Eristalis pertinax	21		21
Eristalis nemorum	10		10
Eristalis interrupta	9		9
Syrphus ribesii	7		7
Eristalis arbustorum	6		6
Eristalis abusivus	5		5
Platycheirus albimanus	4		4
Heliophilus pendulus	3		3
Eristalis similis	2		2
Eristalis fratercula	1		1
Eristalis trivittatus	1		1
Helophilus pendulus	1		1
Myathropa florea	1		1
Platycheirus clypeatus	1		1
Syritta pipiens	1		1
Sphaerophoria scripta		6	6
Chrysotoxum cautum		1	1
Melanostoma scalare		1	1
Sphaerophoria pipiens		1	1

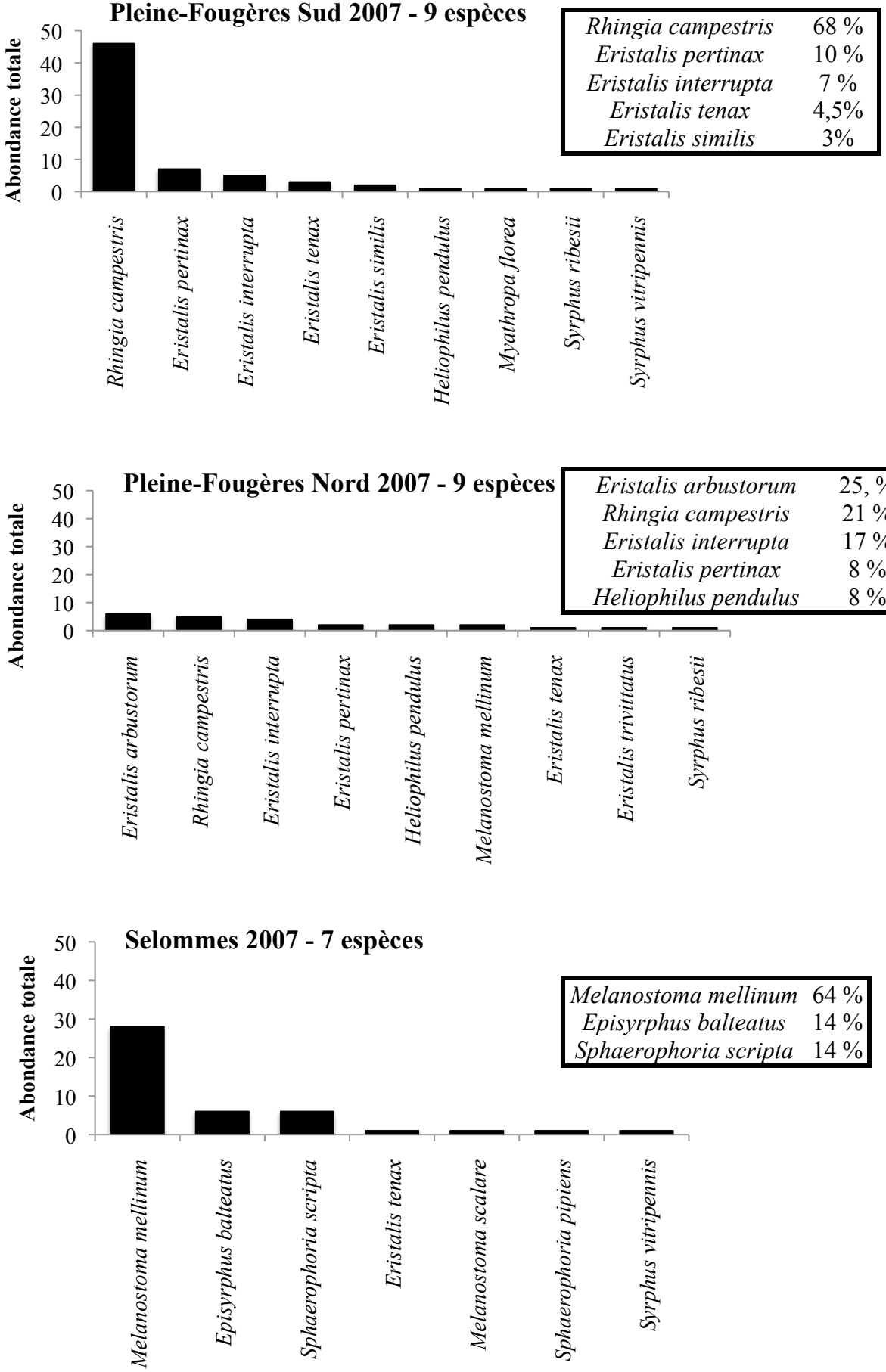


Figure 30. Diagramme rang-espéces des syrphes de chaque site en 2007. Dans l'encadré, la proportion des cinq espèces les plus abondantes parmi les syrphes est donnée pour chaque site.

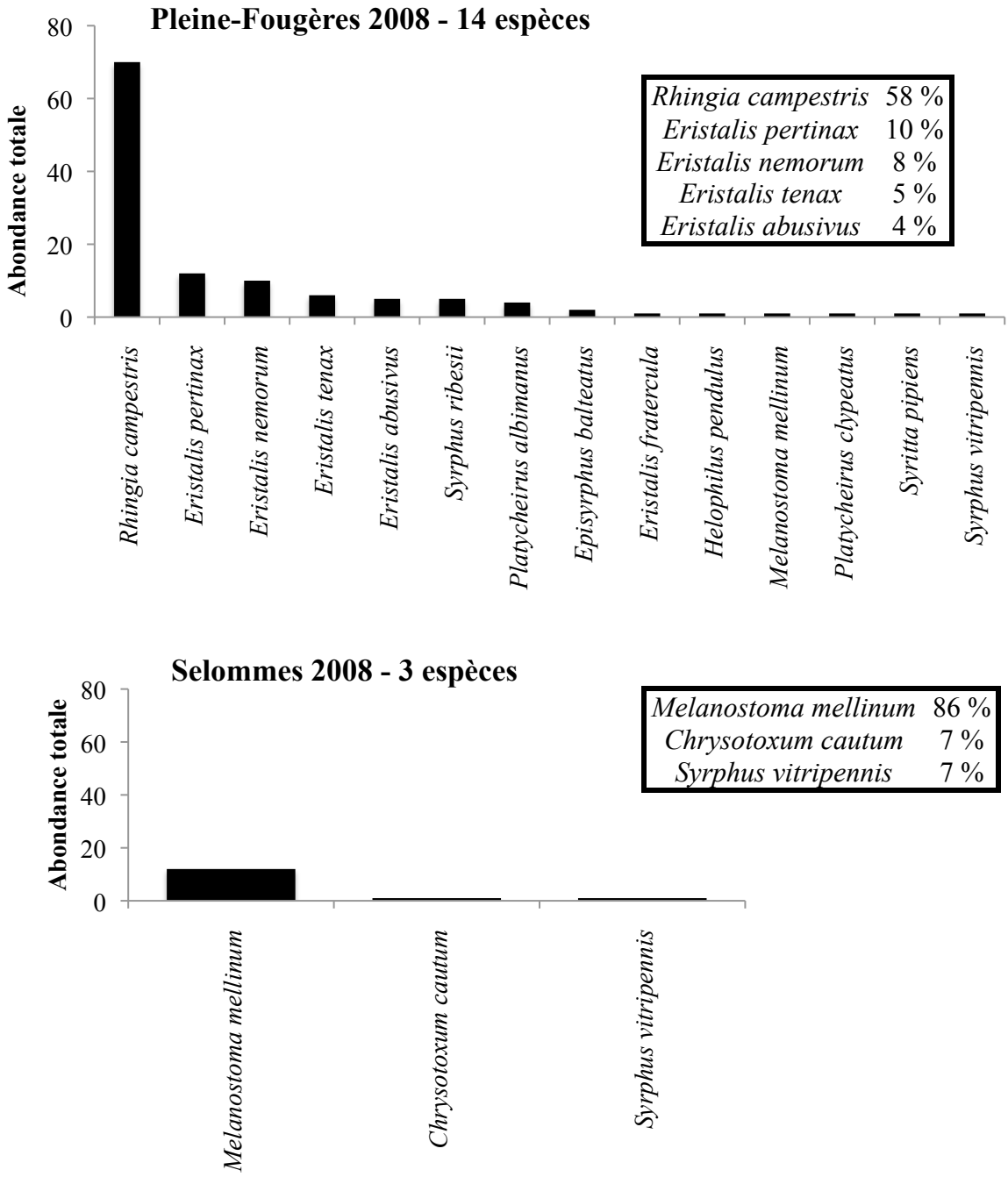


Figure 31. Diagramme rang-espéces des syrphes de chaque site en 2008. Dans l'encadré, la proportion des cinq espèces les plus abondantes parmi les syrphes est donnée pour chaque site.

1.1.3. ESTIMATION DE L'ACTIVITE POLLINISATRICE DES CHAMPS EN 2008

Pour les deux sites, l'ensemble des espèces de pollinisateurs capturés ne sont pas présents dans l'ensemble des champs, excepté *Rhingia campestris* pour le site de PF qui a été observé sur l'ensemble des 16 champs échantillonnés. Le nombre de champs visité est corrélé au nombre d'individus capturés par espèce pour les deux sites (à PF r^2 =0,75 ; à SEL r^2 =0,84,

Figure 32) ce qui laisse supposer que les individus d'une même espèces sont répartis de façon homogène sur les champs des régions d'étude.

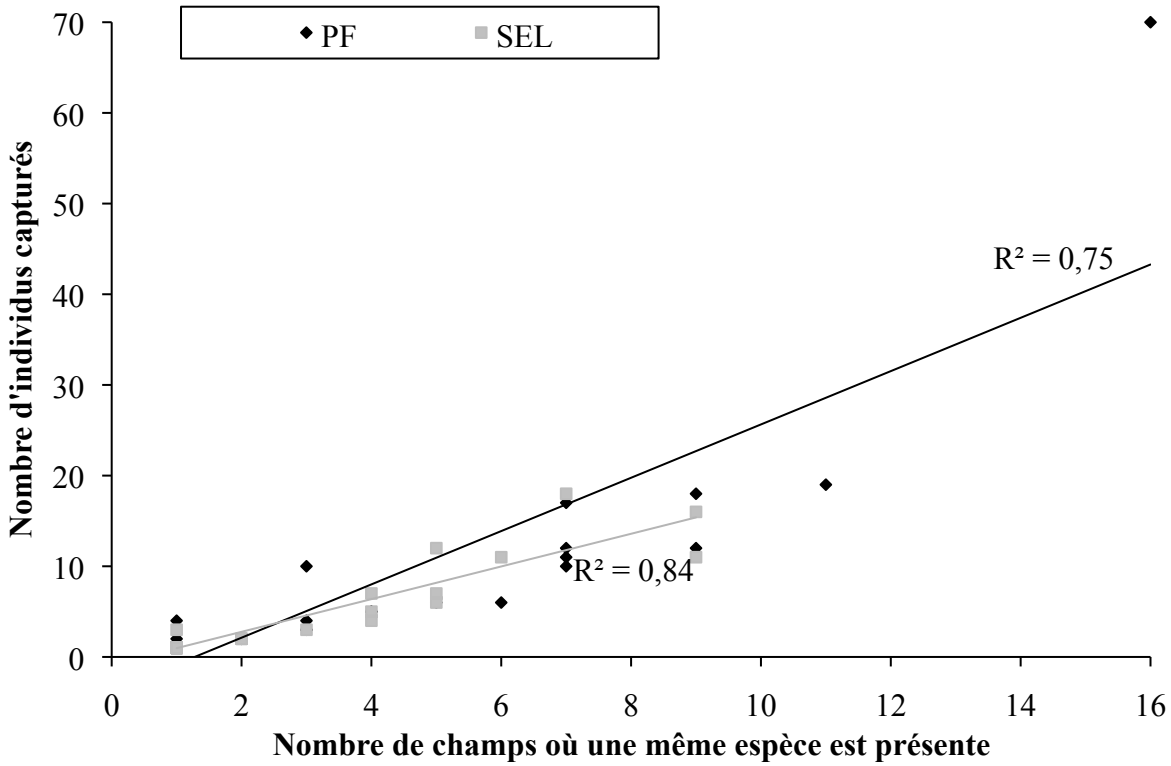


Figure 32. Corrélation entre le nombre d'individu capturés par espèces et le nombre de champs où cette espèce est présente. Sur les deux sites une forte corrélation est observée.

Sur les 35 espèces capturées sur le site de PF, seulement 8 sont présentents dans plus de 40 % des champs échantillonnées et 17 sont présentes dans moins de 10 %. Sur le site de SEL, seulement 3 espèces, toutes des *Andrena* spp., ont été observé dans plus 40 % des champs échantillonnées et 10 espèces dans moins de 10%. L'importance des différentes espèces d'insectes dans la pollinisation du colza n'est sans doute pas la même.

1.2. DISCUSSION

1.2.1. LES ABEILLES

Lors des captures actives, au filet, les abeilles visitant des fleurs de colza, ont ainsi été identifiées comme des pollinisateurs de cette culture. Nous avons pu déterminer 62 espèces comme participant activement à la pollinisation du colza, tous sites confondus. Il s'agit majoritairement d'espèces appartenant au genre *Andrena* et *Bombus*.

Les espèces du genre *Andrena*, ou andrènes, sont des espèces solitaires à langue courte. Elles creusent leur nid de préférence dans des sols sableux et/ou meubles. Le degré de spécialisation alimentaire varie au sein de ce genre (Michener 2000). Parmi les espèces capturées ici, deux espèces sont oligolectiques sur Brassicaceae (*A. distinguenda* et *A. lagopus*), une sur Fabaceae (*A. similis*). Les espèces les plus abondantes dans nos sites, *A. cineraria, A. haemorrhoa* et *A. nigroaenea* sont univoltines et polylectiques (Robert 2010). Elles émergent en mars ou avril puis disparaissent au début de l'été, tandis que *A. flavipes* est bivoltine (on peut trouver des adultes de mars à octobre).

Les bourdons (*Bombus* spp.) sont des espèces sociales à longue langue. Les adultes sont en général actifs du début du printemps jusqu'à l'automne, voire toute l'année (*B. terrestris*). Ce sont des espèces polylectiques. Les bourdons ne creusent pas de terrier, ils utilisent des cavités déjà existantes, comme les terriers de petits mammifères, ou s'installent sous des touffes d'herbes ou à la surface du sol. D'autre part, les densités de nids de bourbons sont plus importantes dans des paysages complexes composées de haies, de clôtures et de bordures de champs boisées (Osborne *et al.* 2007) comme c'est le cas à PF.

La richesse spécifique totale ne diffère pas entre les sites les deux années, mais une plus forte abondance totale est observée la première année sur le site de SEL (10,6 insectes/bordure) par rapport aux sites de PF (3,8 à PFS et 4 à PFN). Il est possible que la différence observée en 2007 réside dans les différences de caractéristiques paysagères entre les sites de Pleines-Fougères (PFS et PFN) d'une part et le site de Selommes (SEL) d'autre part. En effet, le site SEL a un ensoleillement plus important, un sol calcaire plus drainant et xérothermophile que celui de PF, un paysage ouvert et une surface en sol nu plus importante qu'à PF. De plus, la ressource alimentaire y est importante, par la forte densité de champs de colza. Ces facteurs rendent le site de SEL plus favorable au développement des abeilles et offrent une plus grande disponibilité de sites de nidification pour les espèces tericoles *(Andrena* spp.) qui représentent la majorité des espèces capturées sur les sites d'étude. Cet effet paysage devrait

se retrouver d'une année sur l'autre. Cependant, aucune différence n'est détectée la seconde année, ce qui peut paraître surprenant et discréditer notre hypothèse sur l'effet « paysage favorable ». La forte augmentation du nombre total de captures à PF (x 1,5) s'explique par l'augmentation importante de l'abondance de 3 espèces, *Bombus pratorum* (x2), *Andrena haemorrhoa* (x2) et d'*A. nitida* (x4) à PF entre ces deux années, tandis qu'il est similaire à SEL.

1.2.2. LES SYRPHES

Lors des captures au filet nous avons pu capturer un total de 25 espèces de syrphes en train de butiner des fleurs de colza. La richesse spécifique ne diffère pas entre les trois sites la première année, mais une différence est observée lors de la deuxième année (entre PF et SEL). Bien qu'en 2007, la seule différence d'abondance totale observée soit entre les sites de PFS et de PFN, un écart important existe entre SEL et PF lors de la deuxième année d'expérimentation.

Il semblerait donc que le contexte paysager et l'activité agricole au sein du paysage influence directement l'abondance et la composition des communautés des syrphes. En effet, l'abondance supérieure sur le site de PF peut être liée à une plus grande diversité de micro-habitats présents pour les larves : élevages bovins et porcins, cultures à pucerons, zones humides. Bien que peu d'information soit disponible sur l'impact des communautés de syrphes sur la pollinisation du colza, il est envisageable que des communautés différentes, en termes d'espèces, n'ont pas la même influence sur la pollinisation des parcelles agricoles. Les syrphes de grande taille passent moins de temps à se déplacer qu'à se nourrir, et selon les espècesla gamme et le nombre de fleurs est plus ou moins important (Gilbert 1985, Sarthou 1996).

Seules 2 espèces apparaissent majoritaires : *Ringhia campestris* à PF et *Melanostoma mellinum* à SEL. La larve de *Rhingia campestris* se nourrit principalement de bactéries et protozoaires dans des micro-habitats variés tels que des végétaux en décomposition, des déjections animales, du fumier, du lisier, des lits de cours d'eau. Les adultes sont habituellement présents dans des zones boisées, en bordure de bois et dans les haies (Stubbs & Falk 2002). D'autre part, *Melanostoma mellinum* est une espèce commune présente dans des zones ouvertes avec une dominance d'espèces végétales herbacées (graminées) (Ball & Morris 2000) et dans les tournières (espace reservé pour faire tourner les engins agricoles au bout du sillon) (Francis *et al.* 2005). Les larves pourraient être des prédateurs plutôt

généralistes et sont présentes dans la litière végétale (Ball & Morris 2000, Stubbs & Falk 2002).

D'après nos résultats, une grande diversité d'insectes pollinisateurs participe à la pollinisation des champs de colza. Cette diversité est différente d'une région à l'autre avec des dominantes différentes. D'autre part, l'abondance de ces communautés ainsi que la richesse spécifique peuvent varier d'une région à l'autre et d'une année sur l'autre. Il est donc envisageable que les fluctuations inter-annuelles des populations d'insectes influencent de façon importante la dispersion pollinique des cultures au sein des paysages agricoles. En effet, on peut supposer que durant les années où les abondances d'insectes sont importantes, l'activité pollinisatrice au sein des parcelles plus importants et donc que le rendement par parcelle est meilleur. Cependant, cette augmentation de l'activité pollinisatrice au sein des parcelles induit en plus du rendement, des échanges par pollinisation croisée entre les parcelles plus importantes et, donc, un plus grand niveau d'échange de (trans)gènes entre les parcelles.

2. COMPOSITION DES CHARGES POLLINIQUES

2.1. CREATION D'UNE COLLECTION DE PHOTOGRAPHIES DE POLLEN

Sur l'ensemble des trois sites échantillonnés en 2007, 75 espèces de plantes en fleur au moment des sessions de captures ont été identifiées et leur pollen a été examinés au MEB. Les pollens ont ensuite été classés selon des critères palynologiques (forme, apertures, ornementation) pour faciliter l'identification ultérieure des pollens contenus dans les charges polliniques des insectes analysés (Figure 33).

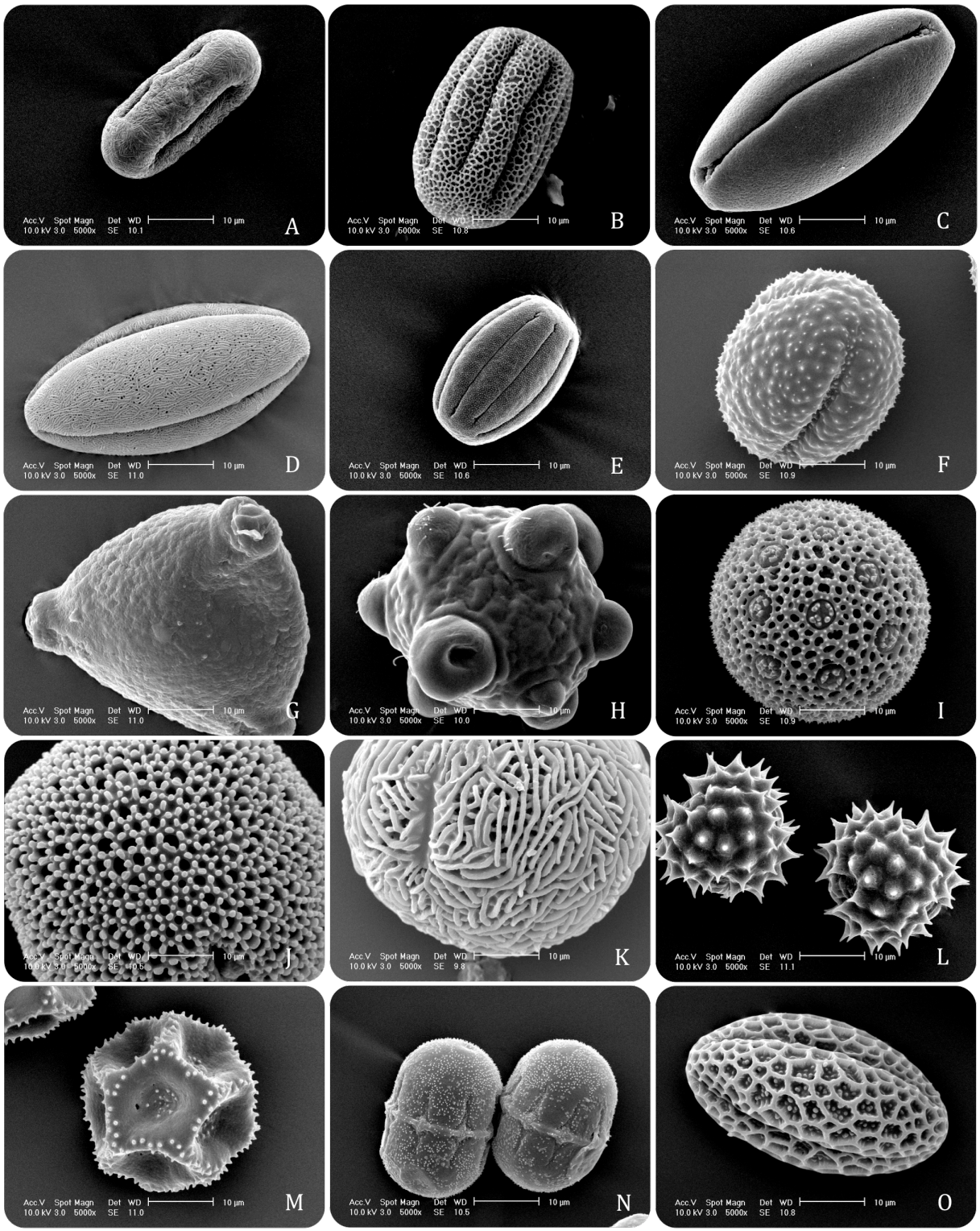


Figure 33. Photographies en microscopie électronique à balayage du pollen de quelques plantes en fleurs durant les captures d'insectes pendant la floraison du colza à Selommes en 2007. A : *Anthricus sylvestris* – Apiaceae. B : *Primula vulgaris* – Primulaceae. C : *Viola canina* – Violaceae. D : *Veronica persica* – Plantaginaceae. E : *Sherardia arvensis* – Rubiaceae. F : *Ranunculus repens* – Ranunculaceae. G : *Elaeagnus* sp. – Elaeagnaceae. H : *Fumaria muralis* – Papaveraceae. I : *Silene latifolia* – Caryophyllaceae. J : *Geranium molle* – Geraniaceae. K : *Erodium cicutarium* – Geraniaceae. L : *Bellis perennis* – Asteraceae. M : *Stellaria holostea* – Caryophyllaceae. N : *Symphytum officinale* – Boraginaceae. O : *Sinapis arvensis* – Brassicaceae. ©Chifflet & Bornard - INRA 2008

Le pollen de la famille des Brassicaceae étant le seul pollen réticulé échantillonné, la différenciation avec ceux des autres familles paraît la plus évidente. Pour la majorité des spécimens de pollen observés, il paraît assez facile d'identifier la famille dont le pollen est issu. Il est, cependant, plus difficile de différencier les 7 espèces de Brassicaceae récoltées en 2007 (Figure 34).

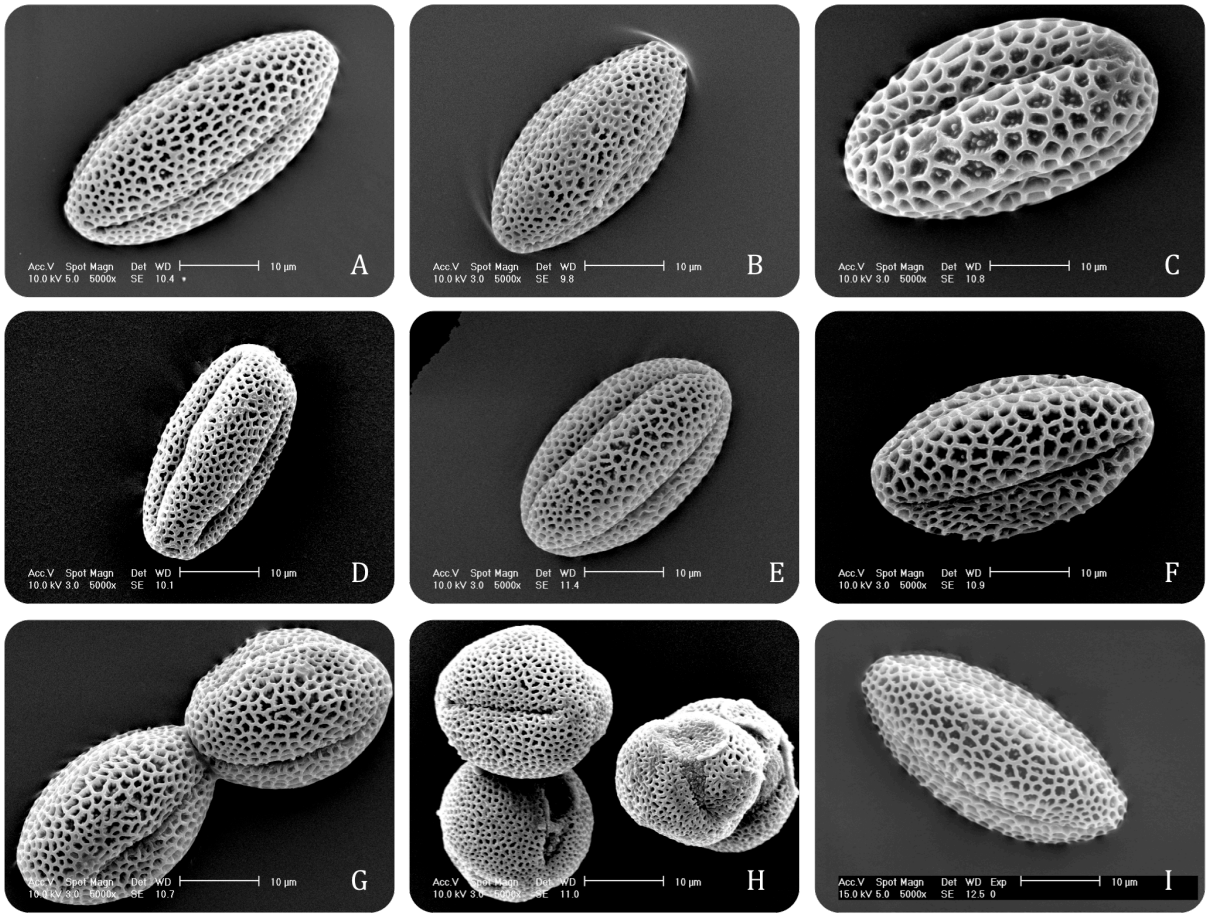


Figure 34. Photographies en microscopie électronique à balayage (MEB) de pollens de Brassicaceae. A : *Brassica napus*. B : *Raphanus raphanistrum.* C : *Sinapis arvensis.* D : *Arabidopsis thaliana.* E : *Capsella bursa-pastoris.* F : *Cardamine* sp. G : *Moricandia arvensis.* H : *Alliaria petiolata.* I : *Brassica napus.* ©Chifflet & Bornard - INRA 2007

D'autre part, il semble exister une variabilité dans la forme, la taille et l'ornementation du pollen de colza. Il est possible de supposer que cette variabilité provienne soit de différences entre les variétés de colza cultivé, soit du niveau de maturité du pollen au moment de l'anthèse de la fleur (Bretagnolle & Thompson 1995, Figure 35).

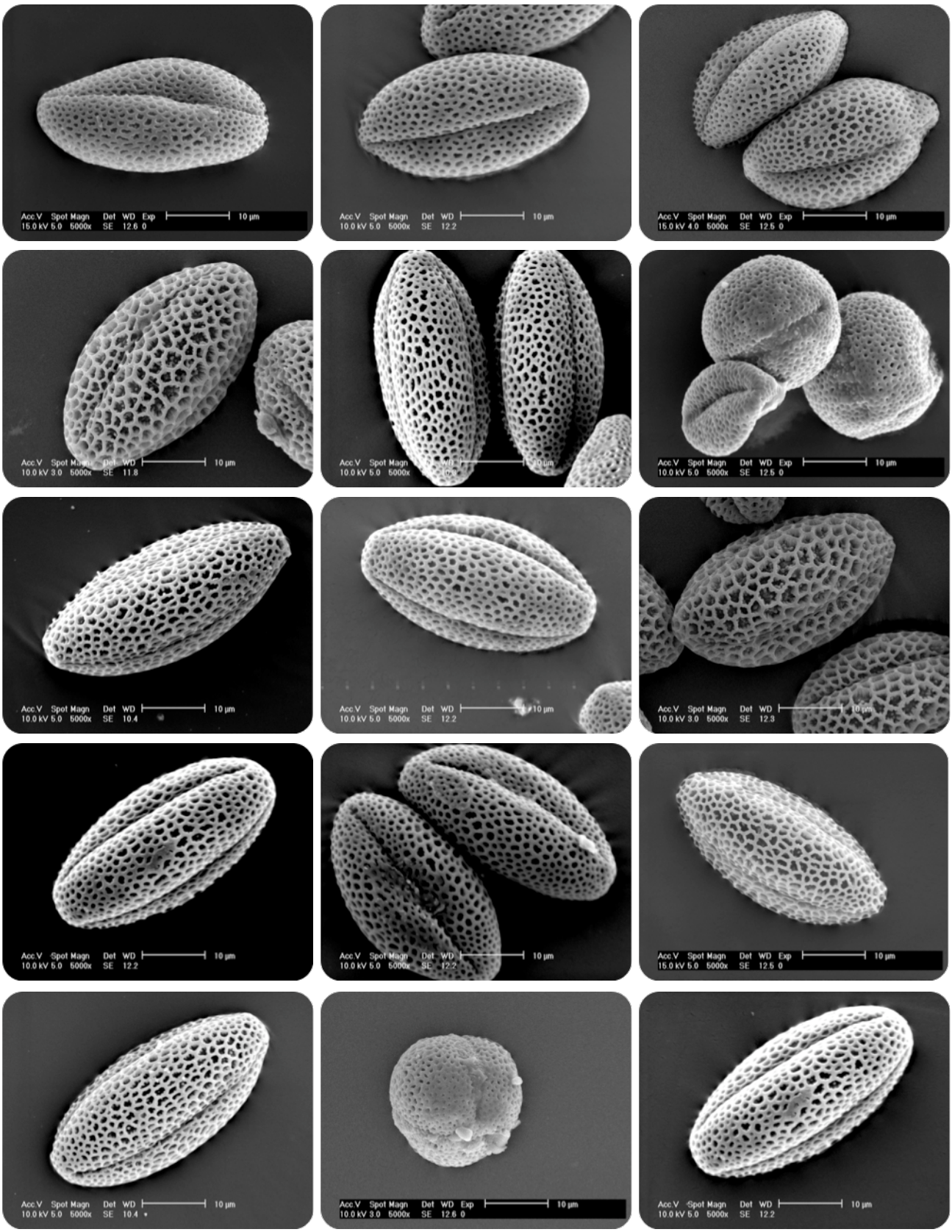


Figure 35. Photographie en microscopie électronique à balayage de grains de pollen de colza – *Brassica napus* – provenant de différentes parcelles (et donc potentiellement de différentes variétés) cultivées dans la zone de Selommes en 2007.

2.2. ANALYSES DES CHARGES EN POLLEN

L'estimation de la charge pollinique totale varie selon les insectes de $1{,}3.10^5$ à $3{,}3.10^7$ grains de pollen, en admettant que les grains de pollen étaient répartis de façon uniforme sur l'ensemble de la surface observée. Or, lors des comptages, j'ai pu observer des amas de grains de pollen dans certaines zones et d'autres zones où aucun grain de pollen n'était présent (Figure 36). Réaliser une estimation d'un nombre de grain de pollen dans la charge totale des insectes semble donc peu fiable et il semble plus pertinent de ne considérer que le nombre de grains de pollen dénombrés sur la partie 1 du parcours. Sur cette partie, le nombre de grains de pollen varie de 1 à 250 et est inférieure à 65 pour 18 insectes.

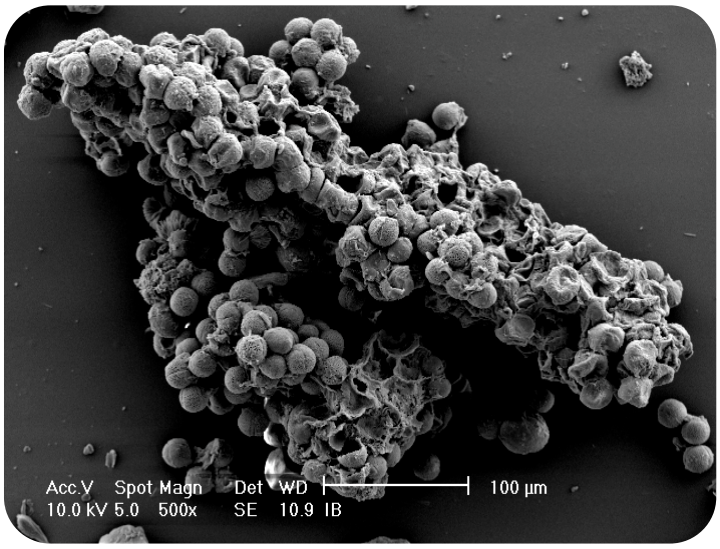


Figure 36. Photographie d'un amas de pollen de Brassicaceae. ©Chifflet & Bornard - INRA 2009.

Nous avons observé au MEB un échantillon de la charge pollinique de 30 insectes capturés sur le site de Selommes (Tableau 12). Suite aux premières observations, il nous est apparu que l'identification du pollen de Brassicaceae parmi la charge pollinique était plus difficile que prévue et cela malgré l'utilisation de la banque photographique de grains de pollen de référence réalisée pour l'ensemble des deux sites.

Tableau 12. Liste des insectes et proportions des pollens des différentes familles de plantes observés en MEB

	Proportion de grains de pollen (%)																Nombre de grain de pollen sur la partie 1
	Brassicaceae	Autres	Asteraceae	Pinus sp.	Cerastium	Rosaceae	Geraniaceae	Ulmus	Prunus	Ranunculaceae	Grossulaceae	Violaceae/Hyacinthaceae	Papavaraceae	Poaceae	Cyprus	Plantaginaceae	Fabaceae	
Andrena cineraria	100																	*250*
Xylocopa violacea	88	9		1									1				1	*109*
Andrena sp.	99					1												*102*
Bombus lapidarius	90	7		1									2					*101*
Andrena sp.	99							1										*100*
Bombus lapidarius	87	11	2															*100*
Xylocopa violacea	75	21	1									1	2					*100*
Bombus terrestris	72	25	3															*100*
Xylocopa violacea	63	34				2					1							*100*
Andrena sp.	38	54				2			4	2								*100*
Bombus terrestris	38	44	1	1		10			4		1						1	*100*
Andrena sp.	21	17				58		4										*100*
Bombus lapidarius	*36*	*51*	*2*	*7*							*2*		*3*					*61*
Bombus terrestris	*61*	*29*	*3*	*3*		*2*									*2*			*58*
Bombus sp.	*31*	*56*		*6*												*6*	*3*	*36*
Andrena sp.	92	5					2	1										*31*
Halictidae	*59*	*5*				*32*	*2*		*2*									*31*
Bombus terrestris	*11*	*74*		*7*									4	4				*27*
Andrena cineraria	*94*	*6*																*20*
Andrena sp.	*55*	*40*											*5*					*17*
Anthophora sp.	*31*	*62*		*8*														*11*
Andrena sp.	*74*	*19*	*2*	*2*	*2*	*2*												*10*
Andrena sp.	*11*	*44*	*33*				*11*											*9*
Andrena sp.	*88*	*13*																*8*
Halictidae	*0*	*9*	*9*	*4*			*78*											*7*
Andrena sp.	*60*	*20*		*10*			*10*											*6*
Nomada/Sphecodes	*30*	*40*	*10*						*20*									*4*
Andrena sp.	*50*	*30*		*10*									*10*					*3*
Syrphidae	*0*	*25*				*25*	*50*											*2*
Syrphidae	*100*																	*1*

La variabilité du pollen de colza (vu plus haut) et la difficulté de différenciation avec les autres espèces de Brassicaceae n'ont pas permis de caractériser de manière spécifique le pollen de colza dans la charge pollinique des insectes observés. Il a donc été seulement possible de spécifier si les insectes avaient visité ou non une plante de la famille des Brassicaceae. Cependant, compte tenu de la floraison importante du colza sur les trois sites d'études (Selommes, Pleine-Fougères Sud et Pleine-Fougères Nord) lors des captures d'insectes, il est fort possible que le pollen observé soit du pollen de colza.

Sur les 1815 grains de pollen dénombrés, 21% n'ont pas pu être assignés à une famille. D'autre part, un certain nombre de grains de pollen n'ont pas pu être pris en compte à cause de la présence de nombreux « déchets » (poils d'insectes, débris de végétaux, cires) ainsi que de la superposition des grains de pollen (malgré l'observation de seulement 10 µL sur les 2 mL de solution ; Figure 37).

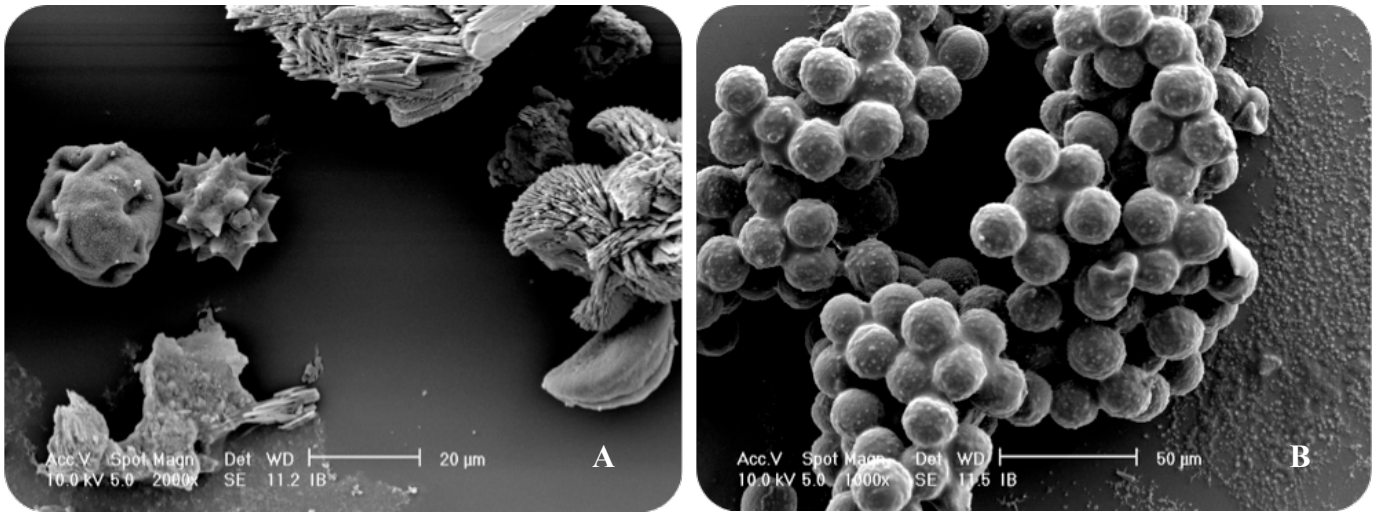


Figure 37. Photographies en MEB de charges polliniques d'insectes dont l'identification était rendue difficile par la présence de déchets. (A) Présence de nombreux éléments non identifiés. (B) Grains de pollen agglomérés. ©Chifflet & Bornard - INRA 2009.

Cependant, sur les 30 insectes observés, 29 avaient une charge pollinique mixte (composée de plusieurs types polliniques) et un seul individu, *Andrena cineraria*, avait une charge pollinique composée uniquement de pollen de Brassicaceae. Parmi les 29 insectes ayant une charge pollinique mixte, 25 d'entre eux transportaient du pollen de Brassicaceae (11 à 99% des grains de pollen observés) et une part non négligeable de grains de pollen non identifiables (5 à 74% des grains de pollen observés ; Figure 38). Seuls deux insectes ne transportaient pas de pollen de Brassicaceae (un Halictidae mâle et un Syrphidae).

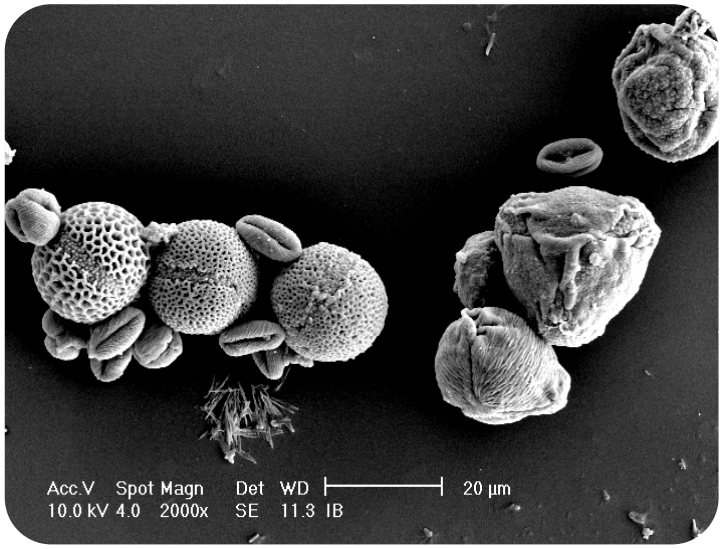


Figure 38. Photographie d'une charge pollinique mixte, c'est-à-dire composée de plusieurs types polliniques. Ici Brassicaceae, Rosaceae et Fabaceae. ©Chifflet & Bornard - INRA 2009.

2.3. DISCUSSION

La plupart des insectes capturés à Selommes dans d'autres conditions qu'au moment du butinage des fleurs de colza semblent majoritairement transporter du pollen de Brassicaceae dans leur charge pollinique, la proportion du pollen de Brassicaceae semblant varier de façon importante dans la charge pollinique de ces insectes. Cependant, nos estimations de la charge pollinique totale des insectes, bien que sans doute surestimées en raison des amas de pollen, semblent cohérentes avec celles déjà réalisées sur abeilles domestiques (Abrol 2007).

Les champs de colza sont la ressource majoritaire au printemps dans les zones agricoles par leur floraison précoce (Husson & Leterme 1997, Wesphal *et al.* 2007), ce qui pourrait expliquer la présence de pollen de Brassicaceae dans la charge en pollen de 90 % des insectes observés. Parmi les 30 insectes observés, seulement un possédait une charge pollinique constituée uniquement de pollen de Brassicaceae, tous les autres transportaient des pollens de plusieurs espèces de plantes. D'après nos observations, il est possible que les insectes pollinisateurs (abeilles et syrphes) participent bien à la pollinisation efficace des champs de colza et qu'ils peuvent également être responsables de pollinisations croisées entre (i) les champs cultivés et (ii) les champs cultivés et les plantes adventices apparentées. Ainsi, dans le cas de culture GM, l'ensemble de la faune pollinisatrice d'une zone d'étude est à prendre en compte afin de s'assurer de la pureté des récoltes et de limiter les risques d'échappement des transgènes vers d'autres cultures ou des adventices apparentées où des croisements ont été

démontrés (Chèvre *et al.* 1997, 2007, Fitzjohn *et al.* 2007). Cependant, la discrimination des différentes espèces de Brassicaceae basée sur la morphologie des grains de pollen n'a pas été possible dans le cadre de notre étude. Afin de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse des analyses en biologie moléculaire pourraient être utilisée afin de vérifier si un même insecte transporte du pollen d'une ou plusieurs espèces de Brassicaceae et ainsi participer clairement aux flux de gènes intra ou inter-spécifique.

Il n'a pas été possible dans cette étude d'affirmer que le pollen de Brassicaceae observé correspondait à du pollen de colza ou à celui d'une autre espèce. Cependant, lors des captures d'insectes, la proportion de fleurs de colza épanouies par rapport aux autres fleurs de Brassiceae était largement plus importante. Un travail sur du pollen acétolysé (Gadbin 1979, Loublier *et al.* 1989, Chung *et al.* 2010) permettrait peut-être d'affiner l'identification au genre et d'éliminer une grande partie des déchets fixés sur les grains. Cependant, la discrimination entre les différentes espèces de Brassicaceae demeure délicate et elles sont souvent regroupées par morphotype (*Brassica*, *Synapis*,… comm. pers. Y. Loublier).

Enfin, aucune estimation de la viabilité du pollen et donc de son efficacité pollinisatrice n'a pu être prise en compte lors de cette étude. Or, bien qu'il est intéressant de savoir qu'environ 90 % des insectes observés transportent du pollen de Brassicaceae, une estimation de la pollinisation efficace est indispensable dans le cadre d'études sur la dispersion du pollen et plus spécifiquement dans l'estimation du risque d'échappement du transgène dans la cadre d'une coexistence de filière GM et non-GM.

PARTIE 2 : LES FLUX DE GENES VIA LE POLLEN

La dispersion du pollen de colza, et plus spécialement pour les longues distances, est toujours au cœur de débats entre les scientifiques comme je l'ai déjà évoqué en introduction de cette thèse (Mesquida & Renard 1982, Pierre *et al.* 2002, Ramsay *et al*. 2003, Cresswell 2008). En effet, la part du vent et des insectes dans le transport du pollen de colza peut être largement discutée en raison du faible nombre de pollinisateurs en sein même des parcelles de colza (prédominance du vent, Cresswell 2008) et du fait que les charges polliniques peuvent être relativement importantes selon les espèces de pollinisateurs (Primack & Silander 1975). Il est donc apparu important pour mieux comprendre les phénomènes de dispersion du pollen de colza dans le paysage agricole, de mieux discriminer la contribution des deux principaux vecteurs dans ce transport et d'étudier l'influence de la distance à la source en pollen la plus proche selon les vecteurs.

1. TESTS PRELIMINAIRES : CONSERVATION ET MAINTIEN DE LA VIABILITE DU POLLEN

1.1. UNE EUTHANASIE PAR CO_2 ET A BASSE TEMPERATURE

La viabilité moyenne du pollen était de 59 % pour les fleurs stockées à température ambiante (≈ 20°C) et de 69 % pour les fleurs stockées à température réfrigérée (≈ 6°C). En ce qui concerne le pollen présent sur le corps des insectes anesthésiés avec du CO_2, la viabilité moyenne était de 28 % et de 52 % pour les abeilles stockées respectivement à 20°C et 6°C (n = 6 abeilles par test). Aucune différence significative a été observé ($\chi^2 = 3,01$; ddl = 5, $p = 0,69$) entre les deux températures, même si la viabilité du pollen semble plus haute à 6°C (52 %) qu'à 20°C (28 %). Le pollen présent sur le corps des abeilles anesthésiées à l'aide de boite à poison avait respectivement une viabilité de 26 % et 29 % à 20°C et 6°C. Aucune différence significative a été observé ($\chi^2 = 4,03$; ddl = 5 ; $p = 0,55$).

Lorsque l'on compare les deux méthodes d'anesthésie (CO_2 et Cyanure) à 6°C, aucune différence significative est observée entre les deux méthodes ($\chi^2 = 8,17$; ddl = 5 ; $p = 0,15$). Cependant, la viabilité du pollen semble supérieure à 6°C et lorsque l'abeille est anesthésiée avec du CO_2 (52 %, Figure 39). Nous avons opté pour cette méthode d'anesthésie et de conservation lors des expérimentations qui ont eu lieu sur le site de Selommes.

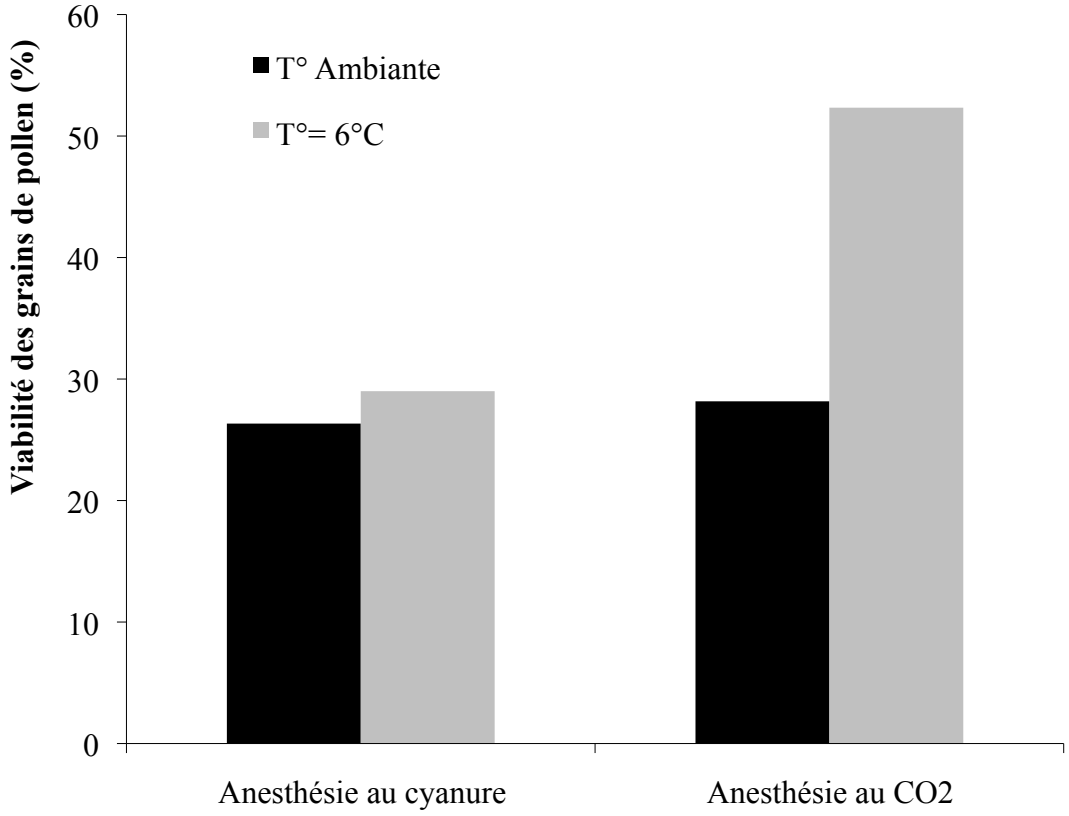


Figure 39. Viabilité du pollen présent sur le corps d'abeilles domestiques capturées en serre et anesthésiées selon deux traitements (i) par l'utilisation d'une boîte à poison contenant du cyanure (ii) par exposition à du CO_2 émis par de la carboglace.

1.2. DES POLLINISATIONS MANUELLES

Nous avons également testé différentes méthodes de pollinisation manuelle des fleurs MS de colza à partir du pollen présent sur les corps des butineuses d'abeilles domestiques capturées sur des plantes MF. Les deux méthodes envisagées étaient (i) l'extraction du pollen de la toison de la butineuse par l'utilisation de pentane (Risser & Rode 1984), ou (ii) par frottement direct du corps de l'abeille sur le stigmate de la fleur MS.

Aucun fruit ou graine n'a été obtenu à partir du pollen extrait au pentane tandis qu'une moyenne de 12 graines par fleur pollinisée a été obtenu par frottement du corps de l'abeille sur le stigmate.

1.3. DES RESULTATS INDISPENSABLES

Par conséquent, les insectes capturés sur le site de Selommes lors des expérimentations portant sur l'étude de la dispersion pollinique ont été anesthésiés au CO_2 et conservés à 6°C individuellement dans des tubes en verres afin de minimiser la perte de la viabilité du pollen jusqu'à l'arrivée dans la serre pollen-proof de l'Université d'Orsay, où des pollinisations manuelles ont été réalisées par frottement direct sur le stigmate des fleurs MS afin d'évaluer l'échelle spatiale de la dispersion pollinique par les insectes. Notre méthode pour anesthésier les insectes (CO_2) et les transporter (6°C) permet le maintien de la viabilité du pollen autour de 50 % après 6 h, ce qui est probablement proche de la viabilité du pollen de colza quand un insecte visite un plant de colza *in natura* (Mesquida & Renard 1989), ainsi les estimations qui seront réalisées grâce à l'échantillonnage des insectes en milieu agricole devraient être assez proches de la réalité.

2. ESTIMATIONS DES FLUX DE POLLEN DUS AUX INSECTES A L'ECHELLE D'UN PAYSAGE AGRICOLE INTENSIF

Chifflet R., Klein E.K., Lavigne C., Le Féon V., Ricroch A.E., Lecomte J. & Vaissière B.E. (2010) Spatial scale of insect-mediated pollen dispersal in oilseed rape in an open agricultural landscape, *Journal of Applied Ecology*.

Il semble important d'avoir de bonnes estimations de l'échelle spatiale de la dispersion pollinique et une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents (qui concernent la dispersion) afin d'établir des recommandations pour minimiser les flux de pollen effectifs entre les champs (Meagher et al. 2003). En effet, ces recommandations pourraient porter sur des distances d'isolement afin de limiter l'échappement des transgènes vers les populations de plantes férales ou sauvages génétiquement proches. Ici, nos objectifs étaient (i) d'évaluer l'échelle spatiale de la dispersion pollinique due aux insectes pollinisateurs dans un agro-écosystème de type openfield, et (ii) de déterminer les facteurs influençant cette dispersion dans le cas de culture de colza. Nous avons émis l'hypothèse que la dispersion pollinique pouvait être affectée par le type d'insectes (niveau taxonomique) et par l'environnement (conditions climatiques et stade de la floraison des champs). De plus, nous avons supposé que la dispersion pourrait augmenter avec la taille de l'insecte et décroître avec la distance à la source de pollen.

2.1. L'ENVIRONNEMENT DURANT L'EXPERIMENTATION

Durant l'expérimentation, la température moyenne journalière varie entre 7,5 °C et 15 °C et la température la plus basse a été observée lors de la troisième date (15 avril). Les trois premières dates d'échantillonnage ont eu lieu durant le début de la floraison des champs de colza (2 fleurs par plante), tandis que les deux dernières se sont déroulées durant le pic de floraison (114 et 230 fleurs par plante, Figure 40)

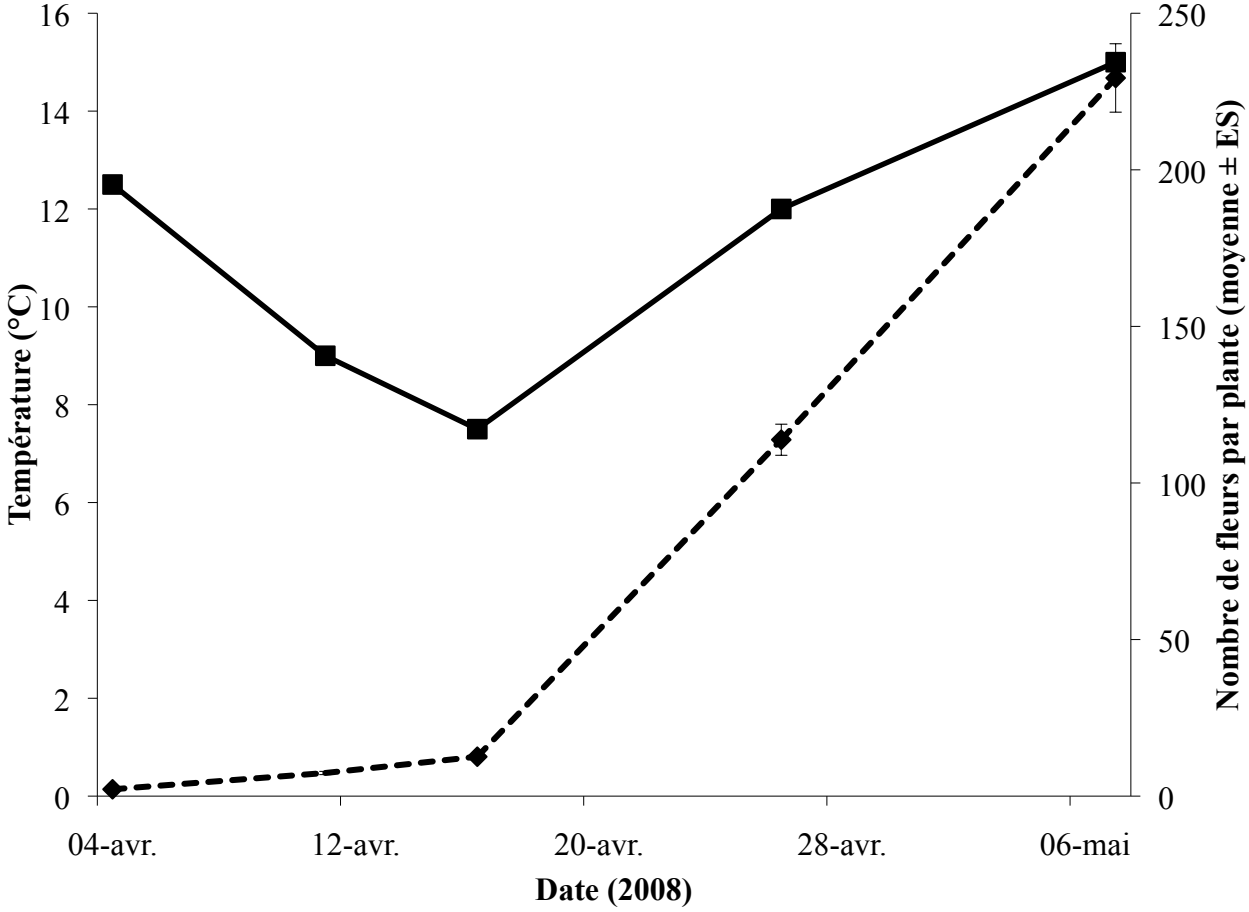


Figure 40. Évolution du niveau de floraison moyen (ligne hachurée) des champs de colza (basé sur 384 plantes) et de la température journalière moyenne (ligne pleine) durant la période d'expérimentation en 2008.

L'inspection des populations férales, durant le mois d'avril, nous a permis de repérer uniquement deux plantes férales de colza au stade rosette à une distance inférieure à celle du champ le plus proche pour le point d'échantillonnage à 1100 m. Cependant, ces plantes n'ont pas été retrouvées durant les relevés de juin. Une plante férale, non repérée en avril, a été observée au stade graine en juin à seulement 140 m du point normalement distant de 150 m du champ de colza le plus proche.

2.2. LES INSECTES AYANT VISITE LES FLEURS DE COLZA

Nous avons capturé 71 insectes répartis en 3 ordres (Coleoptera, Diptera and Hymenoptera), 9 familles et 26 espèces. Dans les hyménoptères, sont inclus une majorité d'abeilles (Apiformes, 50 individus) mais également 4 symphytes (Symphyta) et deux guêpes de type Sphecidae. L'ordre des Diptères est uniquement représenté par la famille des Syrphidae. Des

méligéthes du colza, *Meligethes aeneus,* ont été collectées à chaque point (13 spécimens). Une seule abeille domestique, *Apis mellifera*, a été capturée, et aucune ruche n'a été observée dans la zone d'étude malgré nos recherches (Tableau 13).

Tableau 13: Succès de grenaison et nombre de graines produites par les 71 insectes capturés sur les fleurs mâle-stériles de colza. Pour chaque espèce et chaque point d'échantillonnage, nous fournissons : (ligne supérieure) le nombre d'individus qui ont produit des graines / le nombre total d'individus capturés, (ligne du bas) le nombre moyen de fruit par individu [le nombre moyen de graine par individu]. La distance inter-tégullaires (DIT) fournit une mesure de référence pour la taille de l'insecte.

ORDRE	FAMILLE	ESPECES	DIT	DISTANCE AU CHAMP LE PLUS PROCHE					
			(MM)	10M	20M	55M	150M	400M	1100M
Hymenoptera	Andrenidae	*Andrena cineraria*	3,6	1/1 3[14]		1/1 4[7]		0/1	
		Andrena distinguenda	1,7			0/2			0/1
		Andrena flavipes	2,2	1/1 5[26]				0/3	0/1
		Andrena gravida	3,1				1/2 31[759]	0/1	
		Andrena haemorrhoa	2,9	1/1 20[504]		1/1 2[2]		0/1	0/1
		Andrena nigroaenea	3,2	1/1 1[8]		1/1 5[16]	0/1		0/1
		Andrena nitida	3,5		1/1 1[1]	1/1 80[1898]	0/1		
		Andrena pusilla	1,7						0/1
		Andrena strohmella	1,6					0/3	1/1 3[3]
		Andrena subopaca	1,6						0/1
	Apidae	*Anthophora plumipes*	4,7	1/1 2[11]					
		Apis mellifera	3,7			1/1 5[62]			
		Bombus hypnorum	4,0					0/1	

		Bombus lapidarius	6,6			2/2 5,5[35,5]	3/3 3[47,7]		
		Bombus terrestris	7,1				2/2 5,5[108,5]		
		Nomada flavoguttata	1,6						0/1
		Xylocopa violacea	7,1						1/1 1[1]
	Halictidae	*Lasioglossum calceatum*	2,4					0/1	0/1
		Lasioglossum malachurum	2				1/1 5[25]		0/1
		Lasioglossum xanthopus	2,5		1/1 2[2]				
		Sphecodes ruficrus	2,5					0/1	
	Megachilidae	*Osmia cornuta*	4,7						0/1
	Sphecidae		1			1/2 5[19]			
	Tenthredinidae	*Dolerus haematodes*	2,5	1/1 5[64]	0/1		1/1 5[54]		
		Mesoneura opaca	1,7		1/1 6[138]				
Diptera	Syrphidae	*Episyrphus balteatus*	2,5			1/1 5[8]			
		Syrphus vitripennis	3,6	0/1					
Coleoptera	Nitidulidae	*Melligethes aeneus*	0,5	0/2	0/4	0/2	0/1	0/3	0/1

La taille moyenne des insectes capturés aux différents points est similaire, excepté pour le point 150 m où des insectes de taille plus importante ont été capturés ($F_{5,65} = 3,13$, $P = 0,014$).

2.3. LA MONTEE EN GRAINES SUITE AUX POLLINISATIONS MANUELLES

Nous avons effectués 451 pollinisations manuelles en frottant directement les 71 insectes sur les stigmates des fleurs mâle-stériles. Nous avons ensuite récolté 4047 graines issues de 227 siliques résultant des pollinisations avec 28 insectes parmi les 71 échantillonnés.

Aucune des 13 méligèthes du colza n'a donné de graines. Un diptère (*Episyrphus balteatus*), trois symphites (deux *Dolerus haematodes* et un *Mesoneura opaca*) et une guêpe sphécide ont permis la formation de graines (Tableau 13). Parmi les abeilles, 23 spécimens sur 50 ont permis de récolter des graines dont deux pour le point d'échantillonnage le plus éloigné des champs - 1100 m (*Xylocopa violacea* and *Andrena strohmella*).

La proportion d'insectes ayant donné des graines est similaire pour les quatre premières distances (58,8 % pour les insectes échantillonnés à $\leq$ 150 m; G = 2,145; df = 3; $P = 0,542$) mais cette proportion est bien plus faible pour les distances les plus éloignées (7,7 % pour les insectes $\geq$ 400 m et les valeurs à 400 et 1100 m sont similaires avec $P = 0.206$ selon un test exact de Fisher ; Figure 41).

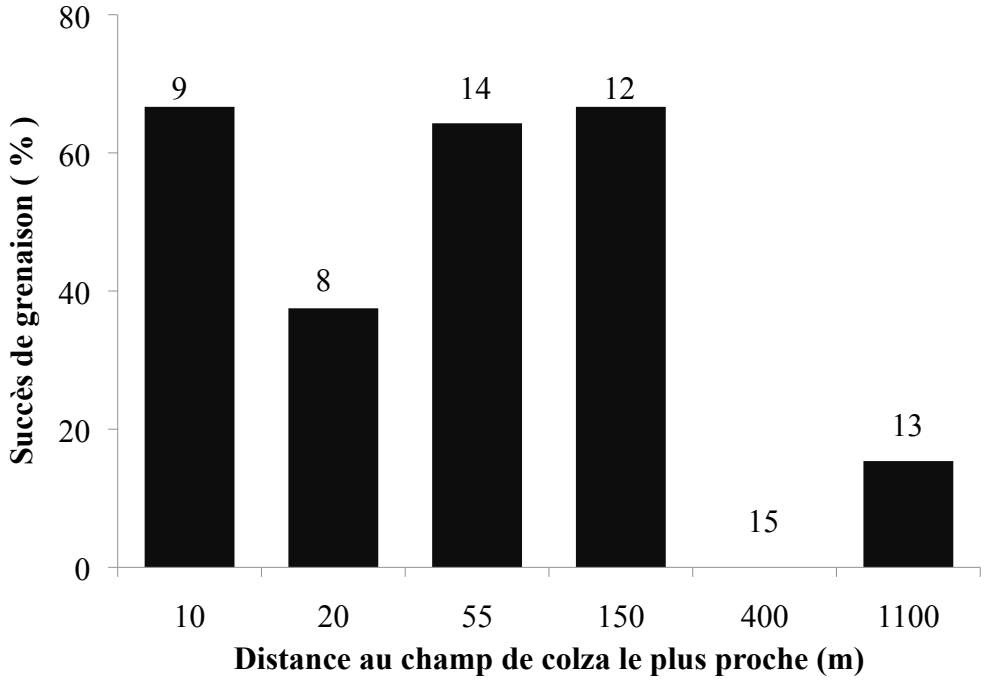


Figure 41. Effet de la distance au champ de colza le plus proche sur succès de grenaison du aux insectes butinant les plantes mâle-stériles. Le nombre au dessus de chaque colonne indique le nombre d'insectes capturés à chaque point.

Le plus faible succès de grenaison a été observé à la troisième date (15 avril ; 18 % des insectes ayant donnés des graines) et le plus haut succès a été noté lors de la dernière date (50 % des insectes ayant donnés des graines ; Figure 42).

Les abeilles de la famille des Andrenidae et *Bombus terrestris* ont donné le plus grand nombre de graines (>100 ; Tableau 13). L'abeille domestique a permis la récolte de 62 graines à partir de 5 pollinisations manuelles.

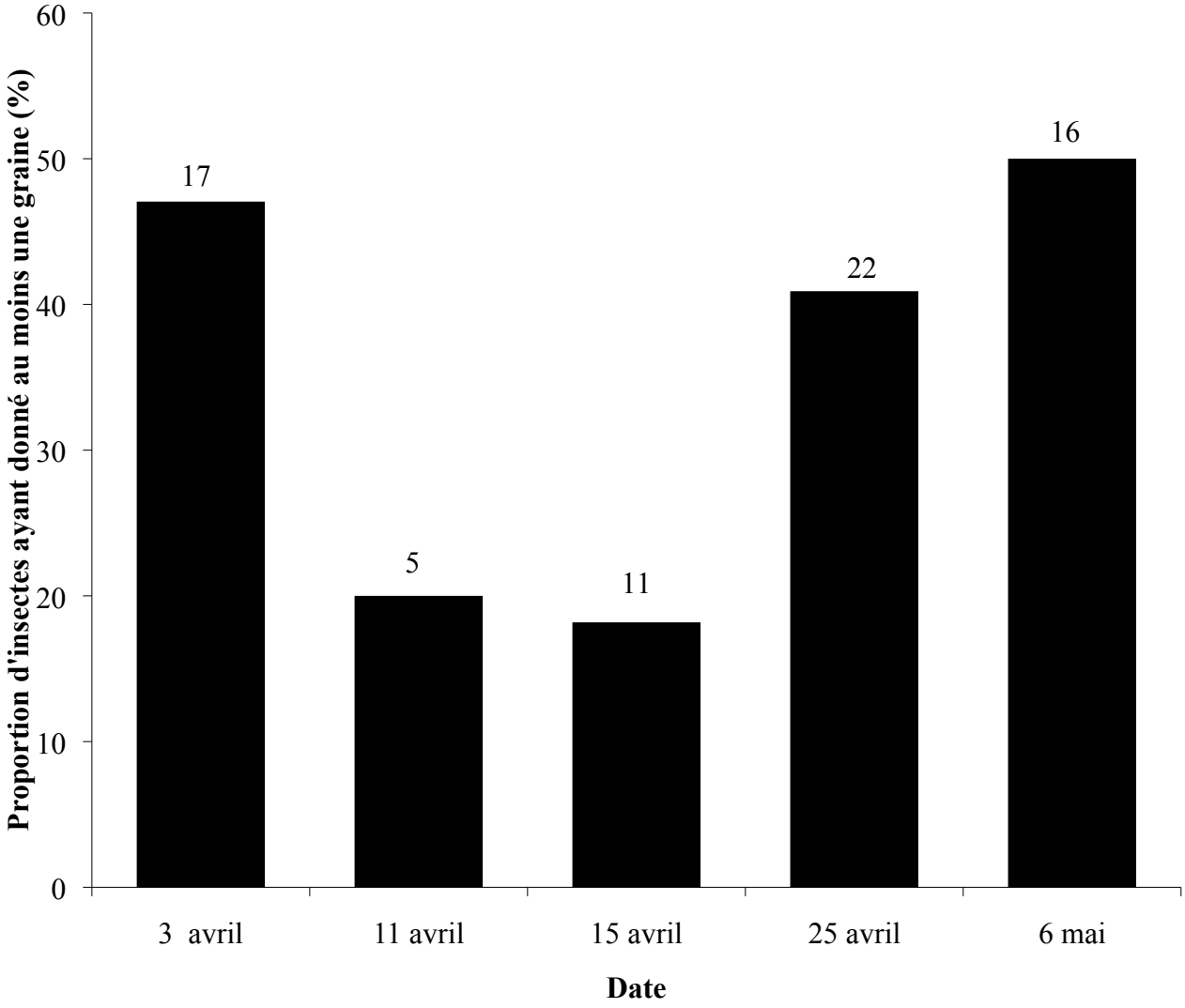


Figure 42. Evolution du succès de grenaison (proportion d'insectes ayant donné au moins une graine) à partir des pollinisations manuelles faites avec les insectes capturés en train de butiner sur les fleurs des plantes mâle-stériles durant la période d'expérimentation en 2008. Le nombre au-dessus de chaque colonne indique le nombre d'insectes capturés à chaque point d'échantillonnage.

2.4. MODELISATION DE LA DISPERSION POLLINIQUE PAR LES INSECTES

Le succès de grenaison noté *SSS* (seed-set success) de chacun des 71 insectes a été le mieux expliqué par le modèle logistique prenant en compte la distance au champ de colza le plus proche (*D*), la distance inter-tégulaire (*IT*) et la température journalière moyenne (*T*) (Tableau 14). La probabilité qu'un insecte produise des graines a été obtenue par :

Équation 1.

$$SSS = \frac{\exp^{-7,32-0,004D+1,02IT+0,41T}}{1+\exp^{-7,32-0,004D+1,02IT+0,41T}}$$

Ainsi, le succès de grenaison est affecté négativement par la distance au champ de colza le plus proche (P = 0,0005 ; Tableau 14, Figure 43) et positivement par la taille de l'insecte (DIT) (P = 0,0103; Tableau 14; reste vrai même lorsque seules les abeilles sont prises en compte, P = 0.042).

Tableau 14. Effet de la distance au champ de colza le plus proche, de la distance inter-tégulaire (DIT) et de la température journalière moyenne sur la probabilité de succès de grenaison. Nous fournissons les résultats du modèle logistique incluant ces trois covariables quantitatives analysées en approche de type III avec un test de rapport de vraisemblance.

EFFETS	DEGRES DE LIBERTE	χ^2	*P*
Distance au champ de colza le plus proche	1	12.02	0.0005
Température	1	23.04	<0.0001
DIT	1	6.58	0.0103

Le R^2 généralisé (Nagelkerke 1991) était égal à 0,60. Pour la plus grande DIT (7,5 mm) à température moyenne (11,2 °C), l'*équation 1* prédit un succès de grenaison < 1 % à partir de la distance au champ de colza le plus proche ≥ 2230 m, et pour la plus petite DIT (0,8 mm) un succès de grenaison < 1 % pour des distances ≥ 670 m (Figure 43). L'interaction entre la distance au champ de colza le plus proche et la taille de l'insecte n'est pas significative, comme toutes les interactions.

Finalement, les différences entre les dates d'échantillonnage sont complètement expliquées par un effet positif de la température journalière moyenne ($P < 0.0001$). Le succès de grenaison est plus faible aux deux dates intermédiaires ayant les températures les plus froides, et est plus fort aux autres dates, avec des températures plus chaudes (Figure 43).

Enfin, aucune des variables testées n'avait un effet significatif sur la production grainière, quand seul les insectes ayant donné des graines étaient pris en compte.

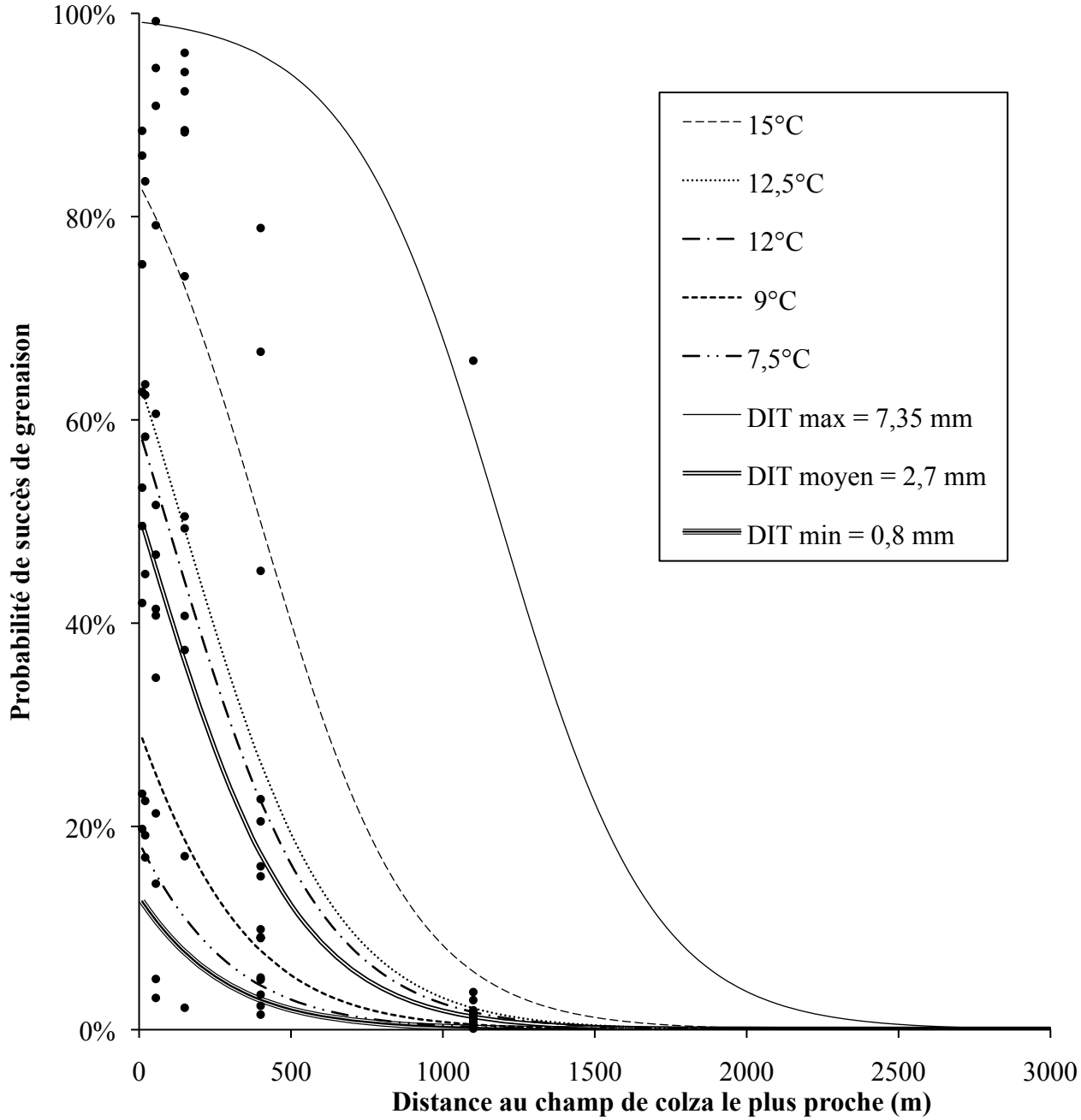


Figure 43. Probabilité de succès de grenaison en relation avec la distance au champ de colza le plus proche, la taille de l'insecte mesurée par la distance inter-tégullaire (DIT, température moyenne = 11,2 °C) et les 5 températures journalières moyenne (DIT moyen = 2,7 mm) durant lesquelles les insectes butineurs ont été attrapés. Chaque point représente un insecte capturé lors du butinage d'une fleur mâle-stérile.

2.5. DISCUSSION

Nous avons observé une diversité d'insectes sur les fleurs de colza mâle-stériles qui transportaient du pollen viable à des distances supérieures à 1100 m, incluant les abeilles, les syrphes, les symphites et les guêpes sphécidées. Notre méthode nous a permis de nous focaliser sur la part du pollen dispersé par les insectes à l'échelle du paysage contrairement aux études précédentes qui utilisaient des plantes en pollinisation libre, ce qui rendait impossible de séparer la part respective du vent et des insectes dans le nuage pollinique échantillonné (plantes apétales dans Timmons *et al.* 1995, plantes male-stériles dans Ramsay *et al.* 1999 et Devaux *et al.* 2005, autres cultivars dans Cai *et al.* 2008). Ayant capturé des insectes durant leur visite des fleurs, il nous est possible d'établir un lien entre le comportement de butinage et la dispersion du pollen chez une seule et unique espèce de plante. Cette nouvelle approche complète celles existantes sur le comportement de vol des insectes (radar harmonique, Osborne *et al.* 1999, radio-tracking, Pasquet *et al.* 2008 ou utilisation d'un nourrisseur, Kuhn-Neto *et al.* 2009) en fournissant des informations sur le succès de grenaison, et donc les flux de gènes, en fonction des insectes et de leurs caractéristiques de vol.

Les études sur les distances de butinage portent habituellement sur les bourdons (*Bombus* spp., Osborne *et al.* 1999, Cresswell *et al.* 1995 & 2002) ou l'abeille domestique (*Apis mellifera*, Ramsay *et al.* 1999, Pierre *et al.* 2003), mais notre approche considère la diversité des guildes de pollinisateurs incluant les insectes de petite taille et évalue directement leur contribution potentielle à la dispersion du pollen efficace. Une relativement haute proportion et diversité d'insectes visitant des plantes de colza isolées transportent du pollen de colza viable dans leur toison. Une majorité d'abeilles participe à ce transport (14 espèces), ce qui n'est pas surprenant car elles sont les principaux pollinisateurs de cultures (Klein *et al.* 2007). *Episyrphus balteatus* (Syrphidae) transporte également du pollen de colza viable, ce qui est cohérent avec l'étude de Jauker & Wolters (2008). Plus surprenant, les symphites (Tenthrenidae) aussi visitent les fleurs de colza et transportent du pollen de colza viable, ce qui, à notre connaissance, n'a pas fait l'objet d'observations précédentes. Réciproquement, aucune des 13 méligéthes du colza, *M. aeneus*, n'a permis l'obtention de graines, ce qui infirme l'hypothèse sur leur rôle dans les transferts à longue distance du pollen (Ramsay *et al.* 2003). En fait, la taille de l'insecte est le seul facteur significatif afférent aux insectes qui explique le succès de grenaison. L'effet de la taille peut être expliqué par la capacité des grands insectes à transporter dans leur toison des quantités de pollen plus importantes durant

un temps plus long ou par une aire de butinage plus grande leur permettant de visiter plus de fleurs. D'autre part, des espèces particulières peuvent présenter des adaptations spécifiques pour transporter de très grandes quantités de pollen malgré leur petite taille (par exemple *Andrena nitida* avec un DIT=3,5 mm transporte suffisamment de pollen pour produire 1898 graines) (Thorp 1979). Dans l'ensemble, la diversité d'espèces trouvées en train de transporter du pollen de colza est cohérente avec le fait que ces fleurs soient relativement non spécialisées. Ainsi, une telle diversité devrait être prise en considération lors des études d'évaluation des flux de pollen dans des paysages agricoles.

Nos résultats fournissent la preuve que les insectes jouent un rôle dans la pollinisation du colza à longue distance et peuvent peut-être induire l'échappement de gènes d'un champ transgénique, même si leur nombre peut être réduit dans les champs (Cresswell 2008) en fonction de la zone géographique. Quelques graines ont été obtenues à partir d'insectes capturés à 1,1 km de la source en pollen la plus proche. Il est probable que cette distance ne soit pas surestimée car notre inventaire intensif n'a fourni aucune preuve de la présence de plantes férales en fleurs entre un point d'échantillonnage et son champ le plus proche pendant l'expérience.

La décroissance du succès de grenaison à longue distance résulte certainement de la faible proportion de colza parmi les plantes en fleurs dans le voisinage des points d'échantillonnage (Goodell *et al.* 1997). Une baisse dans la dispersion du pollen efficace avec la distance à la source pollinique la plus proche a déjà été observée dans de nombreuses études (Timmons *et al.* 1995, Cresswell *et al.* 1995, Ramsay *et al.* 2003, Devaux *et al.* 2005, Cai *et al.* 2008, Hoyle & Cresswell 2009) mais aucune ne considérait uniquement la part due aux insectes. De plus, nous avons observé une baisse majeure seulement après 150 m des sources de pollen, ce qui est plutôt plus éloigné que les distances d'environ 50 m reportées par d'autres auteurs qui considéraient la part du vent et des insectes ensemble dans la dispersion du pollen (Devaux *et al.* 2005, Klein *et al.* 2006, Cai *et al.* 2008).

Le succès de grenaison varie également avec la température journalière moyenne. Nos résultats ont montré une relation négative entre ces deux variables. D'autres études avaient aussi montré un impact négatif de basses températures sur l'activité de butinage des abeilles (Szabo & Smith 1972) et de la dispersion pollinique (Hirao *et al.* 2006) et plus généralement des conditions météorologiques (température, humidité relative, vent et pluie, Eastham & Sweet 2002).

Il est à envisager que notre étude présente des biais méthodologiques. On peut supposer qu'il existe deux biais possibles qui sont (i) que nous sous-estimons le transfert potentiel de pollen

car le succès de grenaison observé ici représente seulement une fraction du pollen efficace présent dans la toison de l'insecte au moment de sa capture, et, (ii) par opposition, que nous surestimons le transfert potentiel de pollen par les insectes lorsque que nous frottons leur corps sur le stigmate des fleurs mâle-stériles jusqu'à la disparition de tout le pollen visible sur leur toison. Par considération, (i) il est possible qu'une partie du pollen sur les insectes soit perdue durant le transport en condition réfrigérée et lors des pollinisations manuelles. D'autre part, la viabilité du pollen présent sur le corps des insectes diminue au cours du temps (Mesquida & Renard 1989). Cependant, notre méthode pour anesthésier les insectes (CO_2) et les transporter (6°C) permet le maintien de la viabilité du pollen autour de 50% après 6h, ce qui est probablement proche de la viabilité du pollen de colza quand un insecte visite un plant de colza *in natura* (Mesquida & Renard 1989). Ensuite, (ii) Pierre *et al.* (1996) ont trouvé que les insectes butinant des fleurs de colza avaient une grande variété de comportements de butinage intra-floral pour accéder au nectar et au pollen. Ainsi le pollen de la plupart des parties du corps est susceptible d'être déposé sur le stigmate des fleurs de colza (mais voir Cresswell 2000 pour la sensibilité du dépôt pollinique en fonction de la longueur du stigmate).

Pour conclure, une distance d'isolement de 1,1km entre les cultures GM et conventionnelles dans le cas de champs de colza ne paraît pas suffisant pour éviter totalement un risque d'échappement des trans-gènes dans les productions conventionnelles ou les populations d'adventices apparentées. Ainsi, les populations férales de colza, plus ou moins isolées et pouvant servir de points de relais dans les paysages agricoles (Van Rossum *et al.* 2009) devraient faire l'objet d'une gestion plus rigoureuse afin de limiter l'augmentation de la dispersion pollinique par ces points « relais » à l'échelle du paysage. D'autre part, notre modèle apporte de nouveau élément pour la gestion et la conservation de population de plantes sauvages en milieu agricole, puisque nous avons pu définir les distances de pollinisation possible et donc indirectement des échanges de gènes afin d'éviter un dépression de consanguinité.

3. PART DE CHAQUE VECTEUR DE POLLEN DANS LA PRODUCTION DE GRAINES

3.1. LA PRODUCTION DE GRAINES

Toutes distances confondues, un total de 3294 graines a été récolté pour les plantes ayant leurs hampes florales placées sous tulle (PsT) et 20 696 graines pour les plantes laissées en PL. Le maximum de graines récoltées a été observé pour les deux traitements de pollinisation à la distance de 55 m du champ de colza le plus proche (1689 graines pour les plantes en PsT et 8882 graines pour les plantes en PL) et le minimum a été observé pour le point à 400 m (20 graines pour les plantes en PsT et 394 graines pour les plantes en PL, Figure 44). Le nombre de graines moyen par plante varie de 182 graines (1100 m) à 1322 graines (55 m).

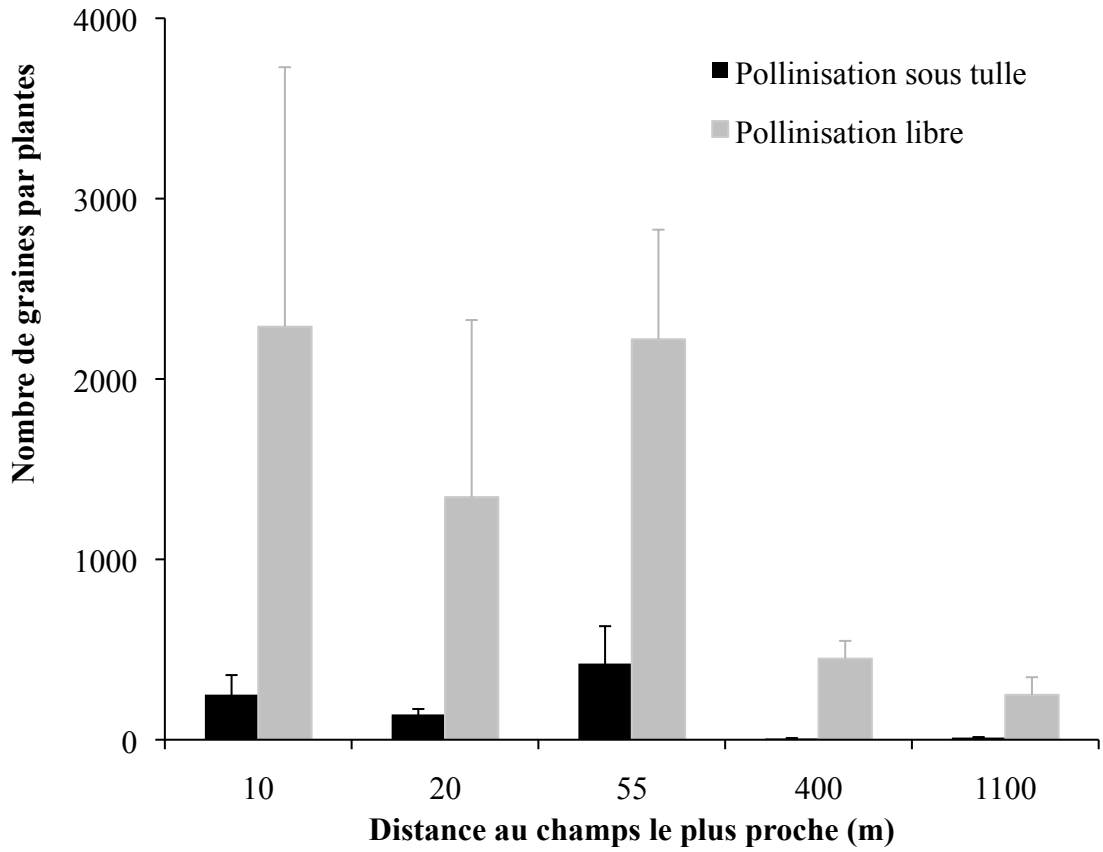


Figure 44. Répartition du nombre de graines par plante (moyenne ± ES) en fonction du traitement de pollinisation (pollinisation sous tulle et pollinisation libre) et de la distance au champ de colza le plus proche.

3.2. L'EFFET DU TRAITEMENT ET DE LA DISTANCE

Le nombre de graines produites par plante diffère significativement entre traitements de pollinisation et entre distances au champ le plus proche ($F_{5, 36}$ = 12,16 ; P < 0,0001). L'interaction entre la distance au champ le plus proche et le traitement de pollinisation n'est pas significative ($F_{4, 36}$ = 1,67 ; P = 0,183, Tableau 15).

Tableau 15. Analyse des facteurs influçant la variation du nombre de graines par plante récolté lors de l'essai sur le rôle des vecteurs de pollen dans le territoire de Selommes en 2008.

Source	DDL	F	Pr > F
Distance au champ	4	9,924	< 0,0001
Traitement de pollinisation	1	12,257	0,002
Distance*Traitement	4	1,686	0,183

La variable «Traitement de pollinisation » influence significativement le nombre de graines produites ($F_{4, 36}$ = 65,00 ; P = 0,002). Le nombre moyen de graines produites en PsT est de 194 ± 59 alors que celui des graines produites en PL est de 1202 ± 305. Le rapport entre le nombre de graines produites entre les deux traitements de pollinisation (PsT et PL) est en moyenne de 0,14 et varie entre 0,01 (400m) et 0,19 (55m). Cependant, le tulle ne permettant de laisser passer uniquement que 70% du nuage pollinique total, le vent serait responsable de la production en moyenne de 11,4% des graines produites.

Le nombre de graines produites varie significativement en fonction de la distance au champs le plus proche ($F_{4, 36}$ = 9,42 ; P <0,0001 ; Figure 45).

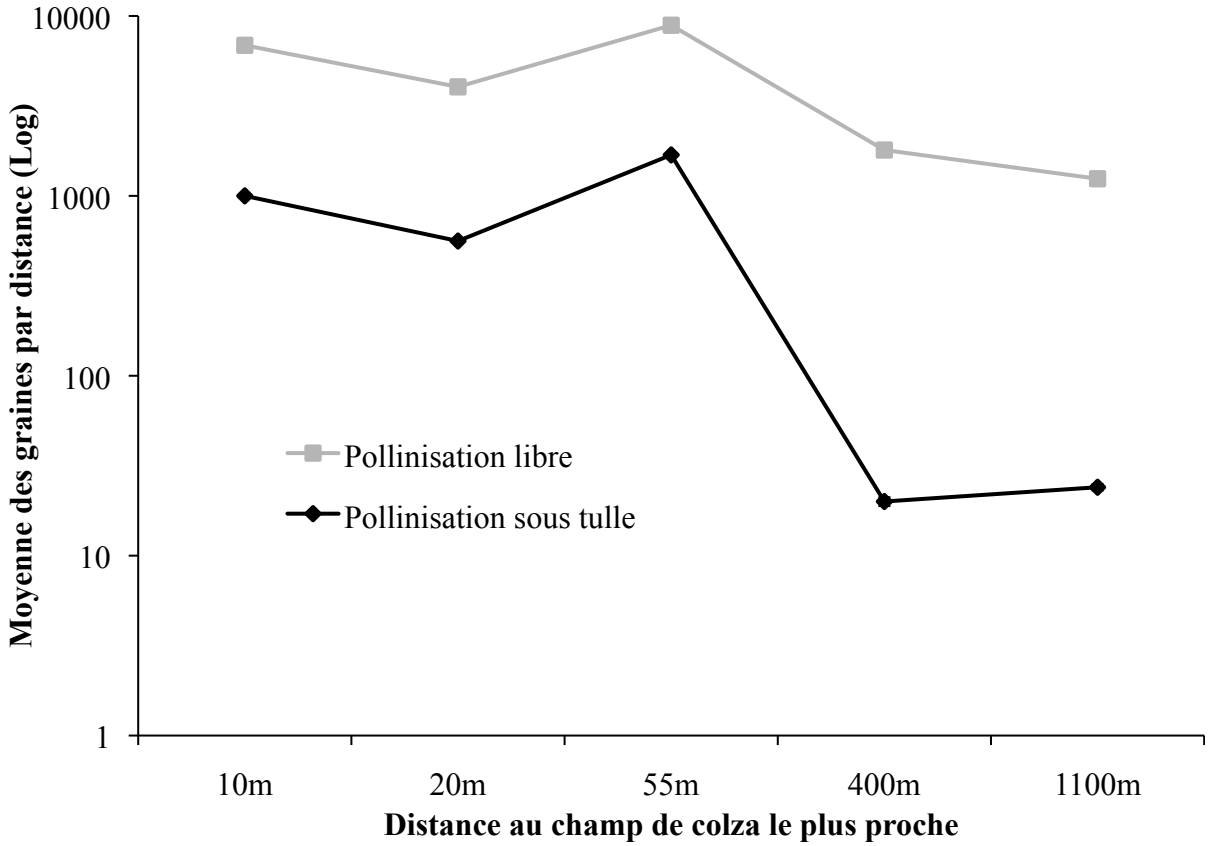


Figure 45. Nombre de graines par plante (moyenne ± ES) en fonction de la distance au champs le proche et du traitement de pollinisation.

Au sein de la variable « distance au champ de colza le plus proche », des différences significatives ont été observées entre les distances 10 m et 55 m *vs* 400 m et 1100 m. Aucune différence significative n'a été observée entre les distances 10 m *vs* 55 m (P = 0,71) et 400 m *vs* 1100 m (P = 1,00). La distance 20 m n'est significativement pas différente des distances 10 et 55 m et que faiblement des distances 400 et 1100 m (Tableau 16).

Tableau 16. Analyse des différences entre les modalités de la variable « Distance au champ de colza le plus proche », selon un test de Tukey (HSD) et avec un intervalle de confiance à 95%.

10m	.			
20m	0,95	.		
55m	0,71	0,30	.	
400m	0,01	0,06	<0,001	.
1100m	0,02	0,07	<0,001	1
	10m	**20m**	**55m**	**400m**

3.3. DISCUSSION

Le nombre de graines par plante diffère en fonction d'une part de la distance au champ de colza le plus proche et d'autre part du traitement. La diminution du nombre de graines avec l'augmentation de la distance avait également été démontré par Devaux (2006) bien que le nombre moyen de graines produites par plante en PL dans le cadre de notre étude est largement supérieur. Cependant le temps d'exposition au nuage pollinique étant différent entre les deux études (maximum 10 jours *in* Devaux 2006), une plus grande quantité de pollen a pu être en contact avec le stigmate des fleurs lors de notre étude et donc avoir un taux de montée en graines (seed-set) plus important. D'autre part, le nombre de graines chute de façon importante après 55 m (pour les deux vecteurs). Cette baisse importante peut être expliquée par la diminution de la quantité de pollen avec l'éloignement à la source (ici les champs) qui réduit de façon significative le nombre de grains de pollen déposés sur le stigmate des plantes aboutissant à une pollinisation efficace (e.g. Cresswell *et al.* 1995, Timmons *et al.* 1995, Ramsay *et al.* 2003).

Il aurait bien entendu été intéressant d'avoir plus d'informations, en terme de nombre de graines, entre les points 55 et 400 m. Le schéma obtenu, dans notre étude, semble différent par rapport aux résultats obtenus par Devaux (2006,

Encadré 5). D'une part, par l'augmentation du nombre moyen de graines par plante à la distance de 55 m qui pourraient être liés à des différences phénologiques des plantes utilisées lors des expérimentations (début et fin de floraison, quantité de fleurs, nombre de ramification) engendrant une différence dans le « piégeage » du pollen et donc dans la montée en graines. D'autre part, par la chute importante du nombre de graine produite par plante entre les distance 55 et 400 dans le cas de ntore étude. Cependant, dans le cadre de sa thèse, C. Devaux (2006) trouve que la présence de population de bordure ou population férale autour de ces plantes a accru la prodcution de fruits et de graines par plante. Les différences observées entre notre étude et celle de Devaux (2006) pourrait résider dans un densité de

plantes férales de colza plus ou moins importante et qui peut varier en fonction (i) des conditions de pollinisation de l'année précédente, (ii) des conditions de conservation dans la banque de graine du sol des graines formées l'année précédente (iii) des traitements plus ou moins tardifs effectués par les personnes en charges de bordures de champs ou de routes (exploitants agricoles, direction département de l'équipement, personnel communal…)

La quantité de grains de pollen pouvant aboutir à une fructification diffère en fonction du traitement de pollinisation et donc du vecteur de pollen. Même si, le traitement « pollinisation libre » est le bilan des composantes des vecteurs « vent » et « insectes » et que la pollinisation sous tulle est légèrement sous-estimée, puisque seulement 70 % du pollen présent dans le nuage pollinique passe à travers les mailles du tulle (com. pers. B. Vaissière), il paraît raisonnable de conclure que le transport du pollen de colza dans le paysage de Selommes est majoritairement réalisé par les insectes pollinisateurs. En effet, d'après nos résultats, les insectes seraient responsables de la formation d'environ 8,6 graines sur 10 dans le paysage de Selommes (soit 11,4 % produite par le vent si l'on considère que seulement 70% du pollen transporté par le vent traverse les mailles du sachet de tulle). Ce résultat n'est pas en accord avec celui de Burger (2004) qui grâce à l'utilisation de plantes de colza dont les hampes florales ensachées à l'aide de gaze, trouvait que seulement 4 à 6 % des graines produites été dues au pollen transporté par le vent. Cependant, cette différence peut être expliquée par la taille de l'ouverture des mailles entre l'étude de Burger (entre 0,5 et 2 mm *in* Burger 2004) et la notre (0,7 mm).

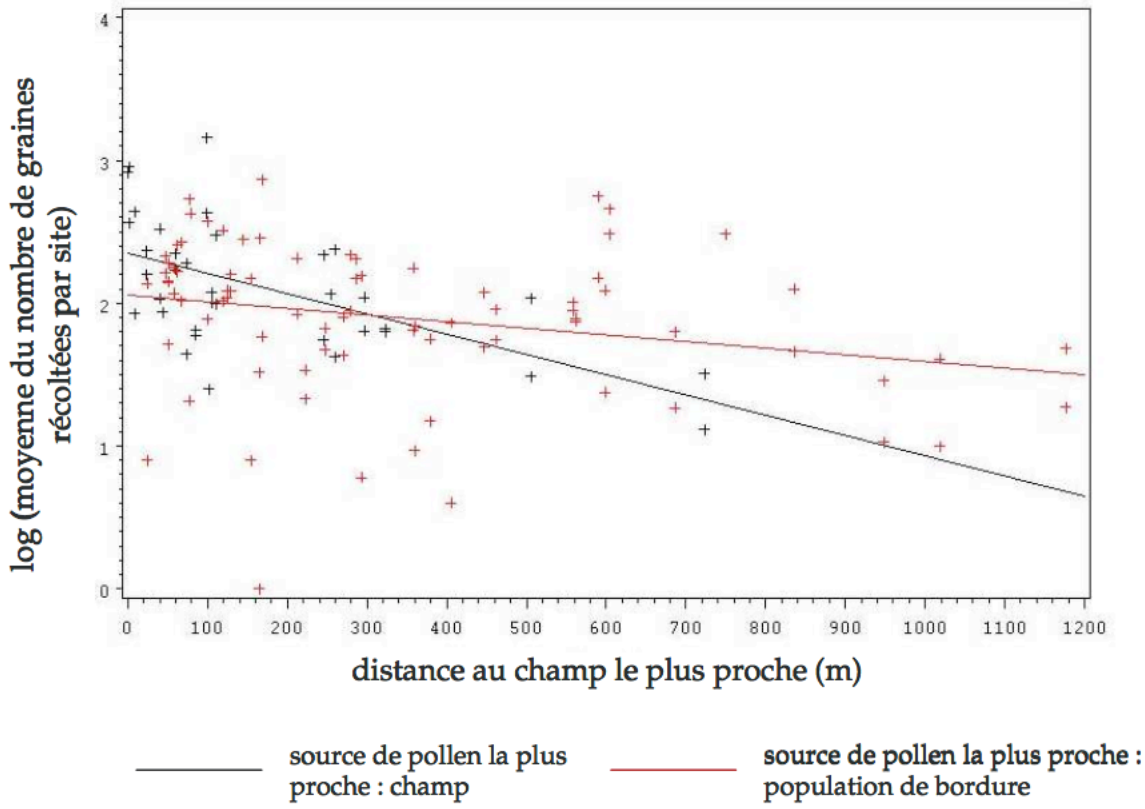
Bien que la proportion d'insecte ne semble pas pouvoir polliniser la majorité des fleurs de champs compte tenu de leur densité (Cresswell 2008). Leur responsabilité dans la pollinisation des plantes des populations férales plus où moins isolées dans le paysage est plus importante. En effet, les insectes sont responsables en moyenne de 88,6 % des graines formées dans ces populations et cette proportion varie entre 81 % (à 55 m) et 99 % (400 m) selon la distance au champ de colza le plus proche. A 1 100 m, les insectes sont responsables de la formation de 98,1 % des graines échantillonnées dans la population férale de plantes MS. Ce résultat est en contradiction avec celui de Timmons *et al.* (1995), qui par l'utilisation de plantes apétales déduisait que le pollen transporté en quantité suffisante pour aboutir à une fructification au-delà de 1 500 m était transporté par le vent. Cependant, l'utilisation de plantes apétales ne garantit pas l'absence d'insectes pollinisateurs sur ces fleurs (Pierre *et al.* 1996).

D'autre part bien que l'utilisation de sachet tulle permettait d'éviter le passage des insectes, nous avons pu observer lors des expérimentations à Selommes des méligethes du colza,

Meligethes aneus, à l'intérieur du sachet qui potentiellement pourraient transporter du pollen (Ramsay *et al.* 2003) et donc augmenter le nombre de graines obtenues en PsT.

Grâce à cette première étape d'analyse, basée sur le nombre de graine produite par plante, nous avons pu estimer que le rôle des deux principaux vecteurs de pollen de colza variait avec la distance à la source. Cependant, la composante insecte apparaît ici comme le vecteur majoritaire participant à la dispersion pollinique et donc à l'augmentation du risque d'échappement des transgènes dans le cas de cultures GM, d'introduction d'impureté dans le cas de cultures semencières, mais également à l'augmentation d'un brassage génétique entre des populations de plantes isolées.

Ainsi, dans un contexte agricole afin de diminuer les risques de contamination par du matériel GM vers des cultures non-GM ou entre semences, il paraît approprié de gérer de façon plus spécifique, voir drastique, les bordures de champs ou de route afin de limiter les populations férales de colza. Cependant, une gestion plus importante des bordures de champs ou de route éliminerai également les adventices des cultures et les autre plantes sauvages présentes, et augmenterai ainsi la fragmentation du paysage induisant une diminution des flux de gènes entre ses populations déjà isolée par les présences des cultures.



Prédictions du logarithme de la moyenne du nombre de graines récoltées par site (dans le cadre de son étude C. Devaux qualifiée de site les plantes placées à chaque point d'échantillonnage du nuage pollinique). La pente de la courbe rouge est significativement différente de celle de la courbe noire.

Le nombre de graines produites par plante décroît avec la distance. Cependant, la diminution du nombre de graines produite par plante est moins rapide si une ou plusieurs populations férales sont présentes entre le champ et la plante considérée.

Encadré 5. Analyse de la production de graines par plante au sein d'un paysage agricole selon Devaux (2006).

4. DIVERSITE ET STRUCTURE GENETIQUE DES NUAGES POLLINIQUES

Dans le cadre de cette thèse, nous avons fait le choix de travailler avec des marqueurs microsatellites, qui sont bien répartis sur le génome de chaque espèce et polymorphes, afin de décrire la composition génétique des nuages polliniques transportée par les vecteurs (vent et insectes) dans le cas du colza.

Il est donc apparu intéressant d'analyser génétiquement les graines issues des différents traitements de pollinisation (PM, PL et PsT) afin de mieux caractériser la contribution de chaque vecteur (vent *vs* insectes) dans la dispersion pollinique et la mise à graines, et de mieux comprendre la composition (structure et diversité génétique) des nuages polliniques dans le bassin de production de Selommes.

Les objectifs, ici, étaient (i) d'estimer la contribution respective de chaque vecteur dans la pollinisation de populations férales isolées à différentes distances des champs cultivés, (ii) de déterminer la composition spécifique des différents nuages polliniques à chacune de ces distances en terme de diversité génétique. L'évaluation de la contribution de chaque vecteur de pollen ainsi qu'une estimation correcte de la composition (stucture et diversité) génétique du nuage pollinique (global et par vecteur) à l'échelle d'un paysage agricole pourrait permettre de mieux comprendre les phénomènes de dispersion et de proposer de nouvelles règles de gestion des cultures GM favorisant la coexistence des différentes filières.

4.1. STRUCTURE GENETIQUE

4.1.1. DIFFERENCIATION INTER-DISTANCE

Les analyses portant sur la différenciation génétique des pools polliniques au sein du site de Selommes permettent de constater dans un premier temps que les nuages polliniques sont significativement différents entre les différentes distances échantillonnées (Tableau 17). Cependant, les différenciations génétiques observées entre les points 1100 m et 10 m, 20 m, et 55 m et les points 20 m et 55 m semblent moins importantes qu'entre les autres distances (plus faible valeur de Φ_{FT}).

Tableau 17. Valeurs de Φ_{FT} par paire de sous-populations échantillonnées aux différentes distances, tous traitements de pollinisation confondus. Toutes les valeurs sont hautement significatives au seuil de 5 %.

10m						
20m	0,118					
55m	0,143	0,042				
150m	0,227	0,214	0,161			
400m	0,274	0,233	0,109	0,259		
1100m	0,085	0,030	0,022	0,136	0,133	
	10m	**20m**	**55m**	**150m**	**400m**	**1100m**

4.1.2. DIFFERENCIATION INTER-INDIVIDU

Les graines issues du traitement de pollinisation manuelle sont fortement différenciées génétiquement entre insectes pour chacune des 5 distances échantillonnées (Tableau 18). Cette différenciation bien que non significative pour la distance 1100 m n'en reste pas moins importante avec une valeur de $\Phi_{FT} = 0,333$.

Les graines issues des plantes (PM, PL ou PsT) présentes sur le site de Selommes pendant la période de floraison des champs ne sont pas autant génétiquement différenciées entre plantes, et plus particulièrement pour les plantes en PsT. Cependant, il existe bien une différenciation entre plantes, plus importante pour les plantes en PsT à 400 m, indiquant que les plantes d'un même traitement à une même distance n'ont pas été pollinisées par les mêmes nuages polliniques. Cette différenciation peut être liée au temps d'exposition des plantes aux nuages polliniques et donc à une plus grande diversité de pollen provenant de différents champs ou encore par des différence d'avancement dans la floraison de ces plantes engendrant un échantillonnage de nuages polliniques différents. La particularité des plantes en PsT du point 400 m peut résider dans la présence de méligethes du colza à l'intérieur des sachets de tulle de certaines plantes apportant une source pollinique supplémentaire. Cependant, le rôle des méligethes dans la pollinisation du colza est sans doute négligeable du fait que l'ensemble des pollinisations manuelles réalisées à partir de ces insectes n'a abouti à aucune fructification.

Tableau 18. Estimation des valeurs de Φ_{FT} entre les graines échantillonnées sur différents individus d'un site donné (en fonction de la distance). Les valeurs en italique sont non significatives au seuil global de 5% en appliquant la correction de Bonferroni).

DISTANCE	PsT	PL	PM
10 m	*0,007*	0,067	0,400
20 m	*0,001*	0,060	0,521
55 m	0,100	0,047	0,363
150 m	.	.	0,438
400 m	0,343	0,008	.
1100 m	*0,074*	0,032	*0,333*

4.1.3. DIFFERENCIATION INTER-TRAITEMENT

Pour la distance 10 m (Tableau 19), les graines issues des PM et PL semblent moins différenciées génétiquement entre elles ($\Phi_{FT} = 0,007$) que les graines PM et PsT ($\Phi_{FT} = 0,011$) et encore moins que les graines PsT et PL ($\Phi_{FT} = 0,023$). A cette distance, le nuage pollinique ayant servis aux pollinisations libres (PL) est donc moins différent de celui transporté par les insectes que celui transporté par le vent.

A 20 m, la différenciation génétique est moins importante entre les graines PL et PsT ($\Phi_{FT} = 0,009$) que les graines PL et PM ($\Phi_{FT} = 0,162$). Les graines PM et PsT sont très génétiquement très différenciées entre elles ($\Phi_{FT} = 0,199$). A 55 m, la différenciation génétique la plus importante est observée entre les graines PsT et PM ($\Phi_{FT} = 0,065$) puis entre PM et PL ($\Phi_{FT} = 0,049$) et enfin entre PsT et PL ($\Phi_{FT} = 0,013$). A ces deux distances, les nuages polliniques transportés par les insectes uniquement (PM) sont donc différents de ceux transportés par le vent, et les nuages ayant contribué à la formation des graines des pollinisations libres ressemblent surtout à celui ayant permis la formation des graines PsT.

À 1100 m, le Φ_{FT} entre les graines PL et PM est 10 fois inférieur à celui entre les graines PsT et PM. Une différenciation significative est observée entre les graines PsT et PL d'environ 4 % (Tableau 19). La pollinisation à cette distance semble ici être assurée par les insectes puisque le nuage pollinique des pollinisations libres est nettement moins différent de celui transporté par les insectes (PM) que de celui transporté par le vent (PsT). Cependant, le faible nombre de graines produites par les insectes à cette distance ne permet pas d'obtenir des valeurs significatives et donc de conclure précisément.

Tableau 19. Estimation des valeurs de Φ_{FT} entre le pollen transporté par différents vecteurs, aux différentes distances. Les valeurs en italique sont non significatives au seuil global de 5% en appliquant la correction de Bonferroni). Des similarités ont pu être déterminées entre les différents groupes d'individus pour chaque distance (valeurs des Φ_{FT} proches de zéro). Aucune graine n'a été produite à partir des pollinisations manuelles réalisées à 400 m.

DISTANCE	PsT *VS* PL	PsT *VS* PM	PM *VS* PL	SIMILARITE
10 m	0,023	0,011	0,007	PL *vs* PM
20 m	0,009	0,199	0,162	PL *vs* PsT
55 m	0,014	0,065	0,049	PL *vs* PsT
400 m	0,328	.	.	.
1100 m	0,036	*0,131*	*0,013*	.

4.2. DIVERSITE GENETIQUE AU SEIN DES SOUS-POPULATIONS

Pour l'ensemble des calculs de diversité génétique selon l'indice de Nei, seuls les individus ayant produit au moins 3 graines ont été pris en compte, soit 19 plantes en pollinisation libre (PL) avec un total de 5430 graines, 22 insectes (PM) avec 1377 graines et 17 plantes en pollinisation sous tulle (PsT) avec 738 graines.

En moyenne la diversité génétique toutes distances confondues est plus importante pour les PL (H_e = 0,46), puis pour les PsT (H_e = 0,44) et enfin pour les insectes (H_e = 0,34). Pour les insectes, la plus forte diversité génétique est observée pour une *Andrena nigroaenea* à 10 m (H_e = 0,63) et la plus faible pour un *Bombus terrestris* à 150 m (H_e = 0,07). A 1100 m un seul insecte (*Andrena strohmella*) a produit plus de trois graines (Tableau 20).

Tableau 20. Diversité génétique *He* transportée par les différents taxons capturés en fonction du nombre de graines analysées. Les individus n'ayant pas permis la production de plus trois graines n'ont pas été pris en compte.

Taxon	Distance au champ le plus proche (m)	Nombre de graines analysées	*He*
Andrena nigroaenea	10	8	0,63
Anthophora plumipes	10	11	0,47
Andrena cineraria	10	12	0,42
Dolerus haematodes	10	61	0,37
Andrena haemorrhoa	10	188	0,34
Andrena flavipes	10	25	0,21
Mesoneura opaca	20	121	0,36
Andrena nigroaenea	55	11	0,53
Episyrphus balteatus	55	8	0,49
Andrena nitida	55	193	0,40
Bombus lapidarius	55	31	0,39
Sphecidae	55	18	0,37
Bombus lapidarius	55	40	0,31
Andrena cineraria	55	7	0,29
Apis mellifera	55	62	0,17
Dolerus haematodes	150	54	0,41
Andrena gravida	150	192	0,29
Lasioglossum malachurum	150	25	0,25
Bombus terrestris	150	124	0,25
Bombus lapidarius	150	128	0,19
Bombus terrestris	150	55	0,07
Andrena strohmella	1100	3	0,19

Pour les plantes en PsT la plus forte diversité génétique est observée pour une plante à 1100 m ($H_e = 0,57$) et la plus faible pour une plante à 400 m ($H_e = 0,27$). La diversité génétique H_e pour les plantes en PL varie entre 0,36 et 0,54 (Tableau 21).

Tableau 21. Diversité génétique *He* par plante en fonction du traitement de pollinisation et de la distance au champ le plus proche.

Distance au champ le plus proche (m)	PL	PsT
10	0,46	0,45
	0,38	0,35
	0,37	0,34
		0,31
20	0,49	0,57
	0,44	0,48
	0,42	0,48
		0,46
55	0,52	0,51
	0,51	0,48
	0,50	0,44
	0,50	0,41
400	0,48	0,46
	0,44	0,27
	0,38	
	0,36	
1100	0,54	0,57
	0,52	0,48
	0,49	
	0,41	

Aucune différence significative n'est observée entre les différentes distances pour la PM (KW = 6,48; ddl = 4 ; P = 0,16). Une différence significative est observée entre les plantes PsT en fonction de la distance (KW = 10,35 ; ddl = 4 ; P = 0,034) mais uniquement pour les distances 10 m et 20 m (P = 0,016) : les graines issues des PsT ont une diversité génétique moins importante à 10 m qu'à 20 m.

Une différence significative est observée entre les plantes PL (KW = 10,82 ; ddl = 4 ; P = 0,028) mais uniquement pour les distances 55 m et 400 m (P = 0,029). En effet, les graines des plantes PL à 55 m ont une diversité génétique plus importante que les graines des plantes PL à 400 m (Tableau 22).

Tableau 22. Moyenne de la diversité génétique des différents traitements de pollinisation par distances échantillonnées selon l'indice de diversité génétique H_e de Nei (Nei 1973).

DISTANCE	PST	PL	PM
10 m	0,37	0,40	0,41
20 m	0,50	0,45	0,37
55 m	0,46	0,51	0,37
150 m	.	.	0,24
400 m	0,36	0,41	.
1100 m	0,52	0,50	0,19

Aucune différence significative entre les traitements n'est observée, exceptée à la distance 55 m entre les insectes (PM) et les plantes en pollinisation libre (PL) ($KW = 6{,}10$; ddl =2 ; $p = 0{,}047$) (Figure 46).

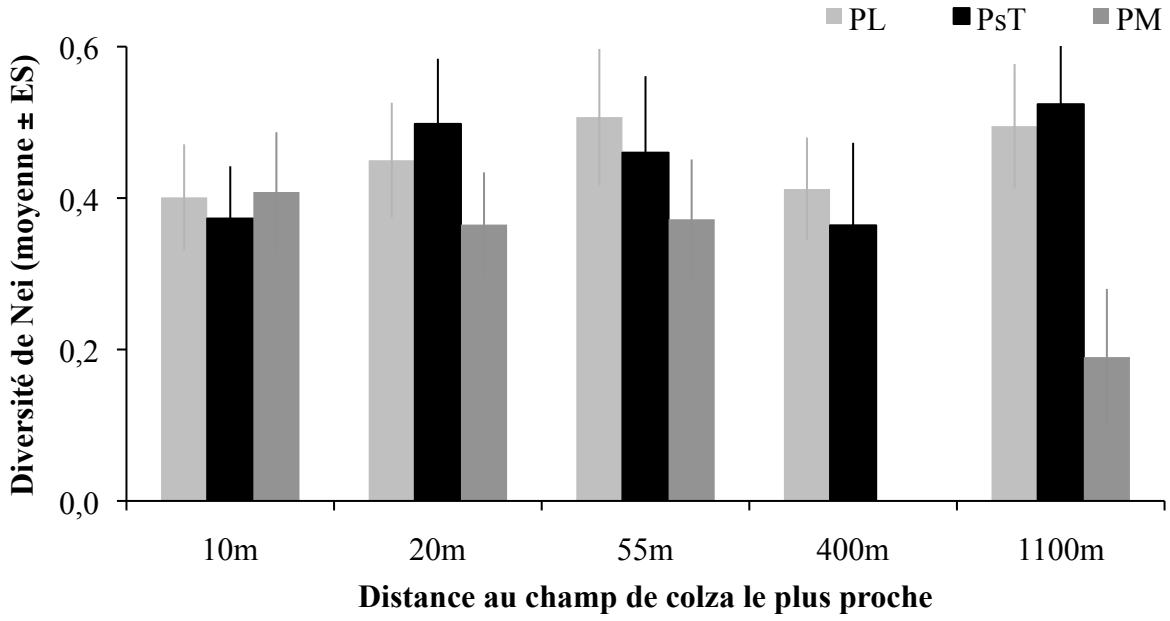


Figure 46. Estimation de la diversité génétique moyenne selon l'indice diversité génétique H_e de Nei (Nei 1973).

4.3. PART DU VENT DANS LA DISPERSION POLLINIQUE

Grâce au taux d'admixture, nous avons pu déterminer la proportion de graines issues des PL dues au vent pour chaque distance échantillonnée. En moyenne, 73,5 % des graines formées en PL sont dues à du pollen transporté par le vent. Cette proportion varie en fonction de la distance au champ de colza le plus proche. A la distance 10 m, la majorité des graines

produites sont due à une pollinisation par les insectes (65 %) contrairement aux autres distances où ce vecteur est responsable de moins de 15 % des graines produites (Figure 47).

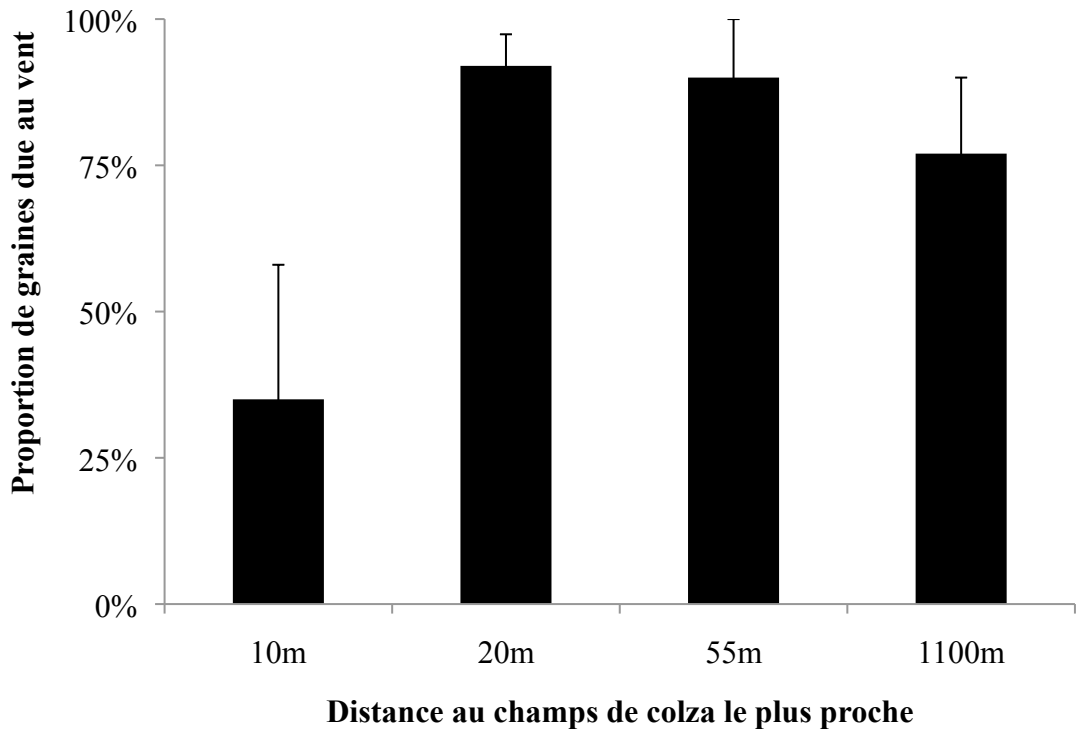


Figure 47. Proportion des graines issues de pollinisation (± ES) par le vent pour chaque distance échantillonnée.

4.4. DISCUSSION

D'après nos résultats, les nuages polliniques dans la zone de Selommes sont différenciés entre eux, selon la distance à la source émettrice du pollen, ici les champs de colza (Tableau 17), et du vecteur de dispersion (Tableau 18).

Les nuages polliniques transportés par les insectes peuvent être génétiquement différenciés entre chaque distance. Le pool pollinique transporté par les insectes peut avoir comme origine différents champs de colza. Cependant, le nombre d'insectes capturés et le nombre de grains de pollen échantillonnés provenant du corps des insectes (i) par les PM et (ii) pour les analyses génétiques ne permet d'observer qu'une partie du nuage pollinique « entomophile », ce qui pourrait expliquer la différenciation entre les différents nuages pollinique pour ce vecteur. A 1100 m, seulement 4 graines provenant des PM ont pu être analysées et elles étaient issues de PM réalisées avec deux insectes seulement (*Xylocopa violacea*, 1 graine, et

Andrena strohmella, 3 graines). Il est donc possible que l'absence de différences significatives à cette distance soit due à (i) un faible nombre de graines analysées, (ii) un faible nombre d'insectes ayant permis d'obtenir des graines, et (iii) un faible nombre de sources en pollen butinées par ces insectes (possibilité d'un seul champ ou population férale). D'autre part, le niveau de diversité génétique des différents insectes est similaire. Les insectes transportent donc des pools de pollen différents les uns des autres, mais provenant probabelement d'un même nombre de champs visités quelque soit la distance à la source. Les insectes peuvent se déplacer sur des distances importantes lors de leur vol pour le butinage (de quelques dizaines de mètres à quelques kilomètres, Greenleaf *et al.* 2007, Pasquet *et al*. 2008) visiter différentes sources polliniques (champs et populations férales, Levin & Kester 1974 ; champs et plantes sauvages, Pasquet *et al.* 2008) et transporter des quantités de pollen plus ou moins importantes en fonction de leurs caractéristiques morphologiques (Primack & Silander 1975).

Les nuages polliniques transportés par le vent sont également génétiquement différenciées entre plantes PsT à chaque distance, bien que cette différenciation génétique soit moins importante que pour les insectes. De plus, les plantes en PsT produisent des graines qui permettent de différencier génétiquement les plantes entre elles à une distance donnée. Ce résultat n'est pas celui que nous attendions. En effet, nous supposions que le nuage pollinique transporté par le vent, à une distance donnée, était constitué d'un pool de pollen commun qui serait échantillonné de façon équivalente par l'ensemble de nos capteurs (plantes Yudal MS). La différenciation observée entre les plantes en PsT pourrait être due à des différences phénologiques entre les plantes, et plus particulièrement des différences de début de floraison, expliquant un échantillonnage des nuages polliniques différents au cours du temps et donc des différenciations génétiques dans les pools de pollen échantillonnés (Galen & Stanton 1991). Cependant, le niveau de diversité génétique des PsT est équivalent entre nos différents points d'échantillonnage excepté à la distance 10 m où la diversité génétique est moins importante. Les plantes en PsT ont pu être pollinisées par le pollen provenant du champ à proximité (>10 m) contrairement aux autres points d'échantillonnage des nuages polliniques « anémophiles » dont les plantes ont pu être pollinisées par un pool de pollen plus complexe. En effet, une étude précédente a montré qu'un nuage pollinique peut être composé de 2 à 8 types de pollen efficace de variétés cultivées dans la zone d'étude, tout type de vecteurs de pollen confondu (Devaux 2006) et les modèles de dispersion pollinique prédisent un maximum de dispersion proche de la source (Manasse 1992, Lavigne *et al.* 1998*,* Devaux *et al.* 2005, Weekes *et al.* 2005, Cai *et al.* 2008).

Les nuages polliniques globaux (vent + insectes) échantillonnés par les plantes en PL sont génétiquement différents à chaque distance. Cette différenciation est également notable entre les différentes plantes en PL. Bien que les nuages polliniques transportés par le vent soient génétiquement différenciables en fonction des distances au champ, les apports de pools de pollen supplémentaire par des insectes peuvent expliquer cette différenciation plus importante entre plante en PL qu'entre les plantes en PsT. La plus faible diversité génétique mesurée pour le point 400 m peut être due à (i) un nombre moins important d'insectes ayant visité ces plantes (moins de site de nidification, moins de ressources alimentaires proches), et/ou (ii) un contexte paysager autour de ce point (relief, haies) limitant les apports par le vent (Angevin 2008). D'autre part, la différence de diversité génétique observée entre les plantes PL et les insectes au point 55 m pourrait être liée au faible nombre de graines analysées pour les insectes (seulement 4 insectes fournissent plus de 20 graines).

Les comparaisons de la différenciation génétique entre les trois traitements de pollinisations mettent en évidence un niveau de similarité plus important entre les graines issues des PL et les graines issues des PM à 10 m, ce qui n'est pas le cas pour les points plus éloignés de la source en pollen. D'après ces résultats, les insectes seraient le vecteur majoritaire lorsqu'on échantillonne les nuages polliniques dans les premiers mètres de la source en pollen (<20 m), ce qui est confirmé par le taux d'admixture qui permet d'estimer que seulement 35 % des graines produites en PL sont dues à du pollen transporté par le vent à cette distance. Cependant, il nous est difficile de conclure sur l'importance des vecteurs vent et insectes pour les distances les plus éloignées (150, 400 et 1100 m) en raison du manque de données. Ainsi, la présence de repousses de colza en bordure pourrait modifier le transport de pollen vers les plantes isolées en les rendant plus visibles pour les pollinisateurs, phénomène déjà observé pour des bourdons visitant des fleurs de *Lychnis viscaria* (Mustajärvi *et al.* 2001) et sur le colza (Devaux 2006). On peut supposer que les plantes situées en bord de champ et sur sa bordure participent de façon plus importante à la pollinisation croisée liée aux insectes (Devaux *et al.* 2005, Devaux 2006, Klein *et al.* 2006).

La proportion de graines formées par du pollen transporté par le vent (73,5%), estimée à partir du taux d'admixture selon l'estimation de Chakraborty est nettement supérieure à celle estimée sur le rapport du nombre de graine PsT/PL (11,4%). Cette différence peut être due (i) au faible nombre d'insectes capturés à chaque point d'échantillonnage qui ne représentent qu'une part du nuage pollinique total transporté par les pollinisateurs, pouvant engendrer une surestimation de quelques génotypes modifiant ainsi les valeurs des Φ_{FT} sur lesquelles sont basés les calculs du taux d'admixture (Chakraborty *et al.* 1992), (ii) au fait que les plantes en

PsT représentent un échantillonnage du nuage pollinique « anémophile » sur une période d'environ 8 semaines (ensemble de la période de floraison des champs de colza en 2008) contre seulement 5 dates pour le nuage pollinique « entomophile » et donc les nuages polliniques échantillonnées peuvent différées en fonction de l'avancement de floraison des champs, (iii) a un effet « tulle » plus important que celui estimé (30 %, B. Vaissière comm. pers.). Bien que les deux estimations de la contribution du vent dans la pollinisation du colza soient très différentes, à notre connaissance, notre expérimentation est la première à proposer des valeurs précises. Il serait intéressant de poursuivre ces essais en capturant des insectes pollinisateurs sur un plus grand nombre de dates afin d'avoir une meilleure estimation du nuage pollinique transporté par les insectes et donc de leur rôle exact dans la pollinisation du colza.

Dans la zone de Selommes, les nuages polliniques possèdent une structure et une diversité génétique complexes qui varient en fonction de la distance à la source émettrice en pollen et du vecteur. Bien que le niveau de diversité génétique ne semble pas varier aux différents points échantillonnés, il serait judicieux de tenter de retrouver l'origine exacte du pollen (champs et populations férales) afin d'estimer des distances de dispersion précises pour chaque vecteur. D'autre part, la contradiction dans les estimations du rôle du vecteur vent par les deux méthodes utilisées ne nous permet pas de conclure clairement sur son importance dans la pollinisation du colza. Il serait intéressant de poursuivre cette étude en augmentant (i) le nombre de points d'échantillonnages des nuages polliniques dans le paysage, (ii) le nombre de dates d'échantillonnage des insectes, et (iii) le nombre d'insectes capturés.

PARTIE 3 : LE MODELE *SSS* APPLIQUE AUX COMMUNAUTES D'INSECTES

1. UNE APPROCHE DE LA DISPERSION BASEE SUR LES COMMUNAUTES D'INSECTES

Le climat, les conditions topographiques, la proportion d'habitats semi-naturels, les changements dans l'utilisation du territoire influencent la composition, l'abondance et la diversité des communautés d'abeilles (Westrich 1996, Michener 2000, Kremen *et al.* 2002, Steffan-Dewenter *et al.* 2002, Carré *et al.* 2009, Le Féon *et al.* 2010).

Les modèles de dispersion pollinique estiment que la majorité des évènements de pollinisation se produisent proche de la source en pollen (Manasse 1992, Lavigne *et al.* 1998, Devaux *et al.* 2005, Cai *et al.* 2008). Cependant, ces différents modèles ne distinguent pas les différentes composantes des flux polliniques qui peuvent être de deux types : anémophile, c'est-à-dire que le transfert du pollen s'effectue par le vent, ou entomophile, avec un transfert du pollen par les insectes. Ces transferts de pollen dépendent donc, selon les espèces, de l'attractivité des fleurs pour les pollinisateurs et de la distance de butinage de ceux-ci et/ou de la capacité du grain de pollen à être déplacé par le vent (adaptations structurelles).

Au cours des expérimentations mises au point pendant cette thèse, il a été possible, d'une part, de caractériser la faune floricole d'une espèce cultivée, le colza, dans deux paysages différents et ainsi de définir des communautés d'insectes différentes sur deux années pour chacun des sites d'étude, et d'autre part, d'établir un modèle de dispersion pollinique basé sur les conditions de température et sur un critère de taille (DIT) des insectes. Dans cette synthèse, je souhaite établir un lien entre la dispersion pollinique par l'utilisation du modèle *SSS* (Partie II) et les communautés d'insectes décrites pour chaque site d'étude (Partie I), en fonction des conditions de température de chaque site. Cela pourrait permettre de connaître la variabilité possible de l'échelle de la dispersion pollinique au sein de paysages qui différents à la fois par leurs communautés et par leurs conditions météorologiques.

1.1. MATERIELS ET METHODES

D'après notre modèle *SSS*, la probabilité de succès de grenaison dépend de la distance au champ le plus proche, de la taille (DIT) des insectes et de la température journalière. Ainsi nous avons caractérisé chacun de ces paramétres pour nos communautés d'insectes au sein des deux sites d'études. L'estimation de la distance à la source en pollen a été basée sur les

distances d'échantillonnage utilisées lors des expérimentations sur les flux de gènes via le pollen (Partie II).

1.1.1. CARACTERISATION DE LA DIVERSITE ET DE L'ABONDANCE DES TAILLES D'INSECTES

Parmi les 63 espèces d'insectes capturés sur les sites de PF et de SEL en 2007 et 2008 (Partie I), seules 52 espèces ont pu faire l'objet d'observations sous loupe binoculaire afin de caractériser leur taille par la mesure de la DIT à l'aide d'un micromètre. Les 7 autres espèces n'ont pas pu être observées car elles n'étaient pas disponible au sein du Laboratoire de Pollinisation et Ecologie des Abeilles. Pour chaque espèce, l'abondance relative calculée pour chaque site et chaque année pour une espèce donnée a été associée au DIT de cette espèce, afin d'estimer la proportion de chaque taille dans les communautés d'insectes.

1.1.2. CARACTERISATION DE LA TEMPERATURE POUR CHAQUE SITE

Les données températures pour chaque site d'étude et pour chaque année ont été récupérées grâce à la base de données climatiques Climatik de l'Unité de Service Agroclim de l'INRA d'Avignon. Ainsi, nous avions à notre disposition les données de températures horaires journalières relevées entre 09h00 et 20h00, du 01 avril au 15 mai pour les deux années d'expérimentations, pour le site de PF (sans distinction de sa partie nord et sud) et pour le site de Selommes. Les relevés de température ayant eu lieu lors d'événements pluvieux ont été supprimés.

1.1.3. APPLICATION AU MODELE SSS

En considérant que la composante DIT de notre modèle *SSS* est la somme des DIT observées pondérées par l'abondance relative de chaque espèce à une distance donnée, que la composante température est la somme des températures pondérées par l'abondance relative de chaque température, et en connaissant les distances à la source en pollen, la probabilité de succès de grenaison (*SSS*) a pu être estimée pour chaque site pour les deux années en fonction des conditions de température et de la composition des communautés d'insectes.

1.2. RESULTATS

1.2.1. CARACTERISATION DE LA DIVERSITE ET DE L'ABONDANCE DES TAILLES D'INSECTES

La DIT, tous sites confondus sur les deux années, varie entre 1,33 mm (*Lasioglossum pauperatum*) et 7,12 mm (*Xylocopa violacea*) (Tableau 23, Tableau 24). En 2007, la moyenne des DIT des commautés d'insectes observées sur le site de PF, sur sa partie Sud était de 3,80 mm contre 4,04 mm dans sa partie Nord, et de 2,82 mm sur le site de Selommes (Tableau 23). En 2008, la moyenne des DIT sur le site de PF était de 3,54 mm et de 3,11 mm sur le site de Selommes (Tableau 24).

Pour les deux années, et pour l'ensemble des sites échantillonnés, les DIT les plus représentées dans les communautés étaient comprises entre 3 et 4 mm. Elles représentaient entre 39 et 75% des tailles échantillonnées, soit en moyenne 53% de l'ensemble des captures, Alors que les DIT comprises entre 5 et 6 mm ne représentaient que 1% de l'ensemble des captures (Tableau 25, Figure 48).

Tableau 23. Liste des espèces capturées en 2007 sur le site de Pleine-Fougère (Sud et Nord) et sur le site de Selommes et leurs mesures associées permettant de caractériser chaque espèce : Effectif (N), Distance intertégulaire (DIT) et abondance relative au sein de la communauté. La taille d'une seule espèce n'a pas pu être mesurée pour le site de Pleine-Fougère Nord.

PLEINE-FOUGERES SUD

Taxon	N	DIT (mm)	Abondance relative (%)
Rhingia campestris	46	3,24	40,0
Apis mellifera	10	3,67	8,7
Eristalis pertinax	7	4,55	6,1
Andrena haemorrhoa	6	2,88	5,2
Andrena cineraria	6	3,55	5,2
Andrena dorsata	5	2,46	4,3
Bombus pratorum	5	7	4,3
Eristalis interrupta	5	4,22	4,3
Bombus terrestris	3	7,1	2,6
Eristalis tenax	3	4,16	2,6
Bombus pascuorum	3	5,5	2,6
Andrena flavipes	2	2,29	1,7
Andrena nitida	2	3,46	1,7
Bombus lapidarius	2	6,57	1,7
Andrena lagopus	2	3,07	1,7
Eristalis similis	2	4,96	1,7
Andrena carantonica	1	3,83	0,9
Heliophilus pendulus	1	3,3	0,9
Syrphus ribesii	1	3,6	0,9
Syrphus vitripennis	1	3,58	0,9
Myathropa florea	1	4,28	0,9
Osmia rufa	1	3,3	0,9

PLEINE-FOUGERES NORD

Taxon	N	DIT (mm)	Abondance relative (%)
Apis mellifera	10	3,67	13,5
Andrena dorsata	8	2,46	10,8
Bombus terrestris	6	7,1	8,1
Eristalis arbustorum	6	3,57	8,1
Rhingia campestris	5	3,24	6,8
Andrena cineraria	5	3,55	6,8
Bombus pratorum	5	7	6,8
Bombus lapidarius	5	6,57	6,8
Eristalis interrupta	4	4,22	5,4
Andrena haemorrhoa	3	2,88	4,1
Andrena flavipes	3	2,29	4,1
Melanostoma mellinum	2	1,67	2,7
Eristalis pertinax	2	4,55	2,7
Heliophilus pendulus	2	3,3	2,7
Andrena nitida	1	3,46	1,4
Eristalis tenax	1	4,16	1,4
Andrena carantonica	1	3,83	1,4
Bombus pascuorum	1	5,5	1,4
Syrphus ribesii	1	3,6	1,4
Andrena fulva	1	3,4	1,4
Nomada fucata	1	1,85	1,4
Eristalis trivittatus	1	.	1,4

SELOMMES

Taxon	N	DIT (mm)	Abondance relative (%)
Melanostoma mellinum	28	1,67	16,3
Andrena haemorrhoa	26	2,88	15,1
Apis mellifera	22	3,67	12,8
Andrena flavipes	21	2,29	12,2
Andrena nigroaenea	15	3,18	8,7
Andrena cineraria	13	3,55	7,6
Andrena nitida	7	3,46	4,1
Episyrphus balteatus	6	2,43	3,5
Sphaerophoria scripta	6	1,78	3,5
Andrena lagopus	4	3,07	2,3
Andrena distinguenda	4	1,65	2,3
Bombus terrestris	3	7,1	1,7
Andrena carantonica	2	3,83	1,2
Lasioglossum pauperatum	2	1,33	1,2
Sphecodes rufricrus	2	2,3	1,2
Andrena dorsata	1	2,46	0,6
Bombus lapidarius	1	6,57	0,6
Eristalis tenax	1	4,16	0,6
Syrphus vitripennis	1	3,58	0,6
Andrena gravida	1	3,07	0,6
Andrena pilipes	1	3,56	0,6
Andrena similis	1	2,42	0,6
Anthophora plagiata	1	4,95	0,6
Melanostoma scalare	1	1,82	0,6
Osmia brevicornis	1	3,13	0,6
Sphaerophoria pipiens	1	1,73	0,6

Tableau 24. Liste des espèces capturées en 2008 sur le site de Pleine-Fougère et sur le site de Selommes et leurs mesures associées permettant de caractériser chaque espèce : Effectif (N), Distance intertégulaire (DIT) et abondance relative au sein de la communauté. Les tailles de six espèces n'ont pas pu être mesurées pour le site de Pleine-Fougère Nord.

PLEINE FOUGERES - 2008			
Taxon	**N**	**DIT (mm)**	**Abondance relative (%)**
Apis mellifera	135	3,67	36,6
Rhingia campestris	70	3,24	19,0
Bombus pratorum	20	7	5,4
Andrena haemorrhoa	18	2,88	4,9
Andrena cineraria	17	3,55	4,6
Andrena nitida	12	3,46	3,3
Eristalis pertinax	12	4,55	3,3
Andrena dorsata	11	2,46	3,0
Andrena carantonica	10	3,83	2,7
Eristalis tenax	6	4,16	1,6
Bombus terrestris	6	7,1	1,6
Syrphus ribesii	5	3,6	1,4
Andrena lagopus	3	3,07	0,8
Andrena nigroaenea	3	3,18	0,8
Episyrphus balteatus	2	2,43	0,5
Bombus pascuorum	2	5,5	0,5
Melanostoma mellinum	1	1,67	0,3
Syritta pipiens	1	1,85	0,3
Nomada bifasciata	1	2,1	0,3
Nomada goodeniana	1	2,1	0,3
Andrena flavipes	1	2,29	0,3
Nomada flava	1	2,35	0,3
Andrena similis	1	2,42	0,3
Andrena gravida	1	3,07	0,3
Helophilus pendulus	1	3,3	0,3
Osmia rufa	1	3,3	0,3
Syrphus vitripennis	1	3,58	0,3
Bombus hypnorum	1	4	0,3
Colletes cunicularius	1	4,32	0,3
Bombus lapidarius	1	6,57	0,3
Xylocopa violacea	1	7,12	0,3
Eristalis nemorum	10	.	2,7
Eristalis abusivus	5	.	1,4
Platycheirus albimanus	4	.	1,1
Andrena synadelpha	1	.	0,3
Eristalis fratercula	1	.	0,3
Platycheirus clypeatus	1	.	0,3

SELOMMES - 2008			
Taxon	**N**	**DIT (mm)**	**Abondance relative (%)**
Apis mellifera	21	3,67	15,3
Andrena haemorrhoa	18	2,88	13,1
Andrena cineraria	16	3,55	11,7
Melanostoma mellinum	12	1,67	8,8
Andrena distinguenda	11	1,65	8,0
Andrena flavipes	11	2,29	8,0
Andrena lagopus	7	3,07	5,1
Bombus lapidarius	7	6,57	5,1
Nomada lathburiana	6	2,79	4,4
Andrena gravida	5	3,07	3,6
Andrena nigroaenea	4	3,18	2,9
Andrena chrysoceles	3	2,36	2,2
Andrena nitida	3	3,46	2,2
Dolerus haematodes	2	2,46	1,5
Bombus terrestris	2	7,1	1,5
Andrena strohmella	1	1,65	0,7
Andrena fulvata	1	1,83	0,7
Nomada fucata	1	1,85	0,7
Andrena angustior	1	2,4	0,7
Osmia rufa	1	3,3	0,7
Syrphus vitripennis	1	3,58	0,7
Chrysotoxum cautum	1	4,4	0,7
Eucera nigrescens	1	4,44	0,7
Anthophora plumipes	1	4,72	0,7

Tableau 25. Nombre d'insectes capturés pour chaque site (Pleine-Fougère ; PF dans sa partie Nord ; PFN et Sud ; PFS en 2007, et Selommes ; SEL) en fonction de la distance intertégulaire (DIT) pour les deux années d'expérimentation

	PFN - 2007	PFS - 2007	SEL - 2007	PF - 2008	SEL - 2008
1 ≤ DIT < 2 mm	3	0	42	2	26
2 ≤ DIT < 3 mm	14	13	57	36	41
3 ≤ DIT < 4 mm	32	71	67	259	58
4 ≤ DIT < 5 mm	7	18	2	20	3
5 ≤ DIT < 6 mm	1	3	0	2	0
6 ≤ DIT < 7 mm	1	2	1	1	7
DIT ≥ 7 mm	11	8	3	27	2
N	69	115	172	347	137

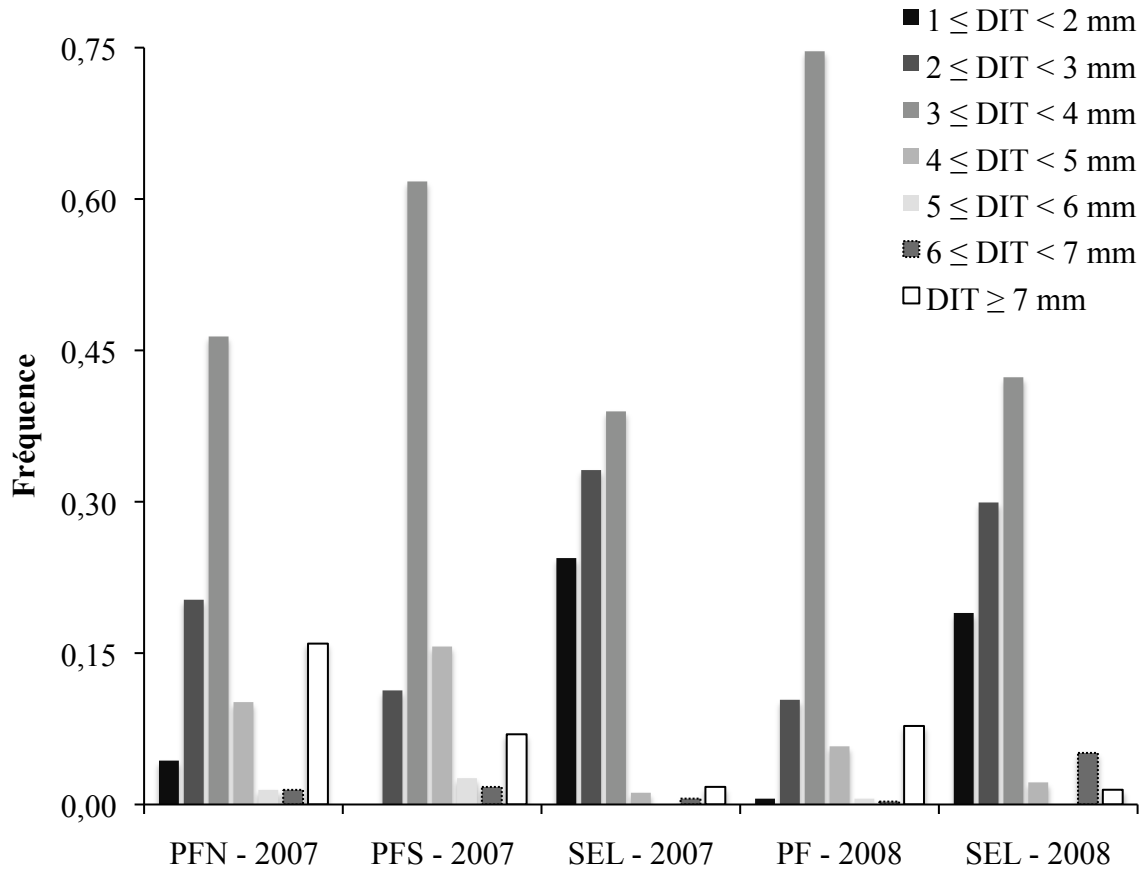


Figure 48 : Fréquence des catégories de taille pour le site de Pleine-Fougères (PF) Nord (PFN) et Sud (PFS) et le site de Selommes (SEL) pour les deux années de relevés de la diversité des insectes floricoles du colza.

1.2.2. CARACTERISATION DE LA TEMPERATURE POUR CHAQUE SITE

En 2007, la température a varié entre 8 et 25,6°C. En moyenne, pour cette période la température sur le site de PF était de 17,6°C et de 18,3°C à SEL. En 2008, la température était comprise entre 2,2 et 25,7°C, et en moyenne la température était de 15,8°C à PF et de 15,5°C à SEL (Figure 49).

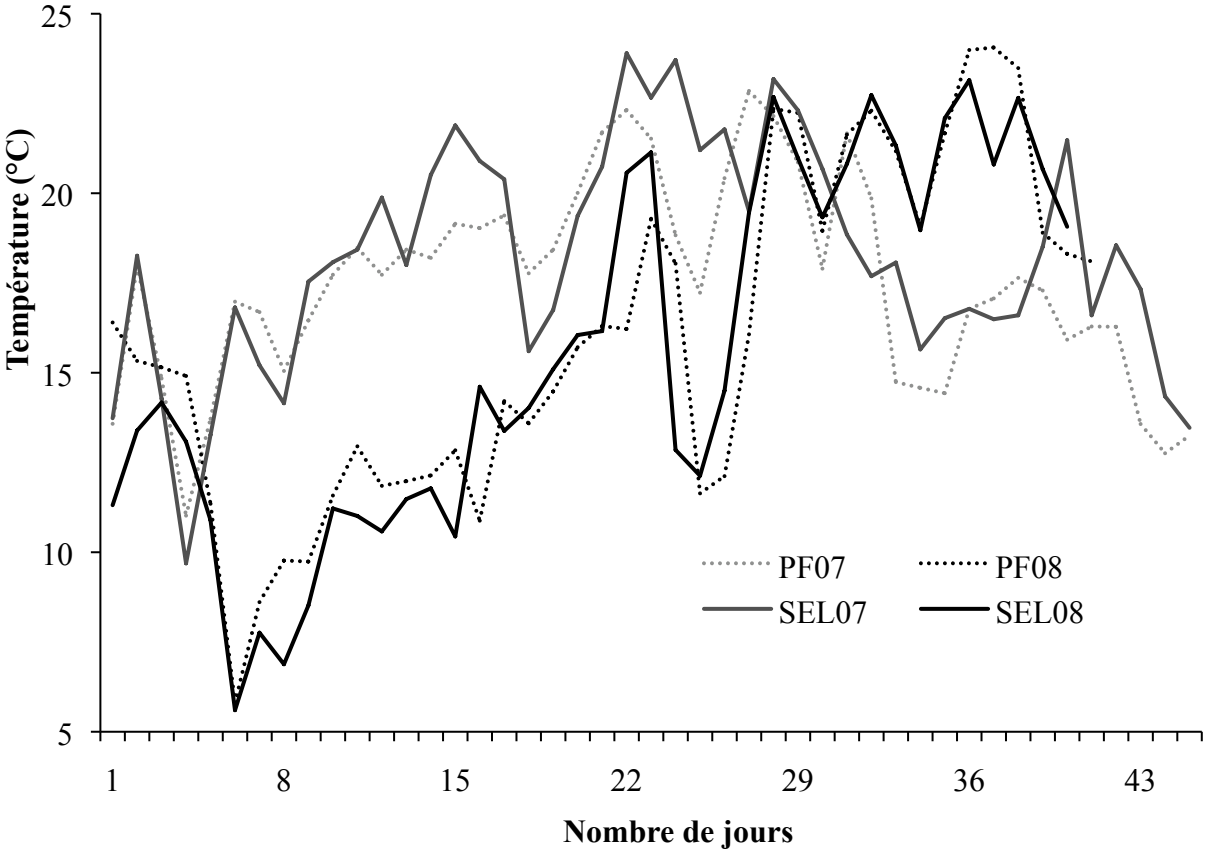


Figure 49. Variation de la température journalière moyenne (°C) sur le site de Selommes (SEL) et de Pleine-Fougères en 2007 et 2008.

1.2.3. APPLICATION DU MODELE SSS

D'après le modèle *SSS* appliqué aux données sur la taille (DIT) des communautés, les insectes des sites de PF (PFS, PFN en 2007 et PF en 2008) peuvent disperser le pollen de façon plus efficace (plus haute probabilité de succès de grenaison) et sur des distances plus importantes que les communautés d'insectes capturés à SEL (2007 et 2008) pour une température moyenne de 16°C (moyenne des température jounalière des sites pour les deux années de relevés) (Figure 50). En effet, la probabilité de succès de grenaison sur le site de PF est en moyenne de 0,91 à 10 m et de 0,26 à 1100 m, tandis que sur le site de SEL, la probabilité de grenasion est de 0,87 à 10 m, soit 1,01 fois moins importante qu'à PF, et de 0,14 à 1100 m soit environ 1,8 fois inférieure à celle de PF. Au delà de 1700 m, les prédictions du modèle permettent d'estimer que la probabilité de grenaison à SEL est environ 2,5 fois inférieur à celle de PF (Figure 50).

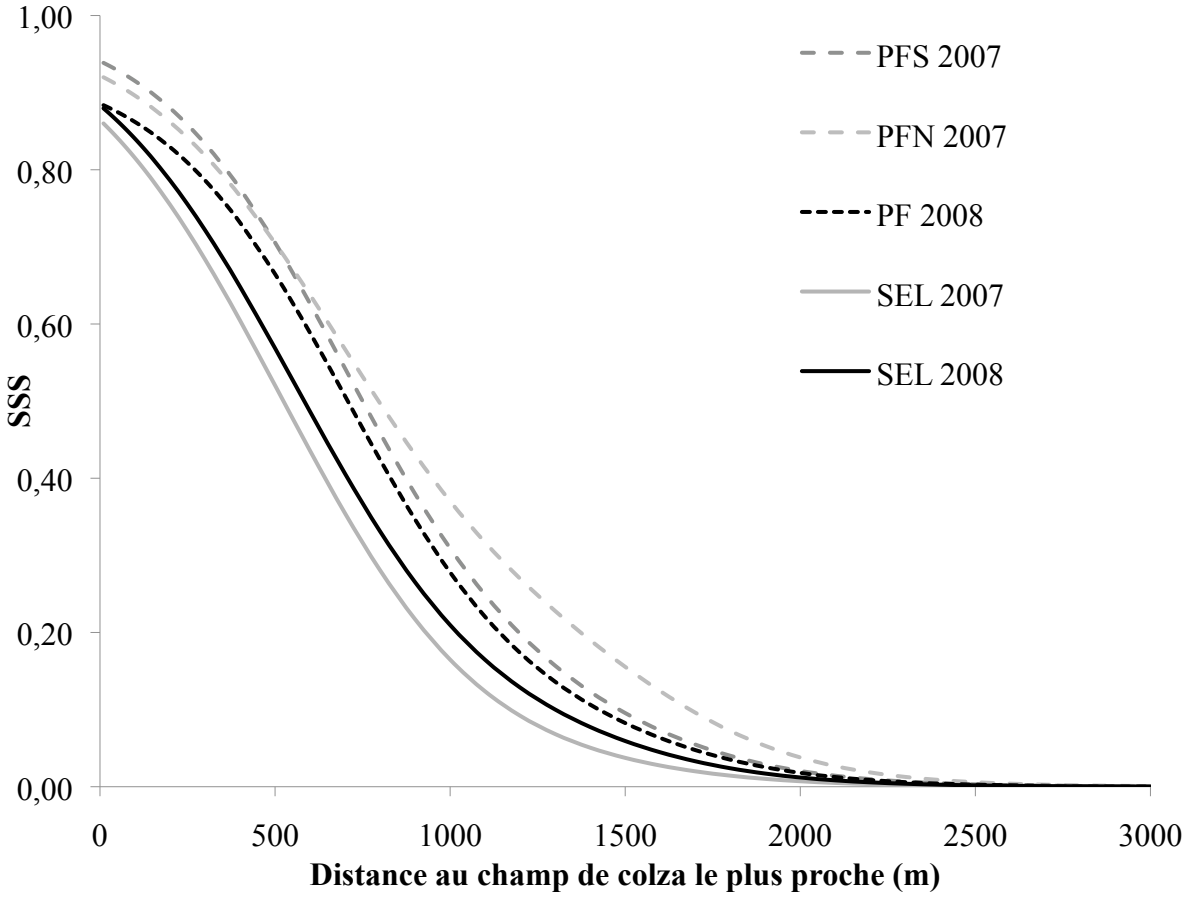


Figure 50.Probabilité de succès de grenaison (*SSS*) en relation avec la distance au champ de colza le plus proche et en fonction de la taille des communautés d'insectes floricoles capturées sur les champs de colza pour les sites de Pleine-Fougère (PF) Nord (PFN) et Sud (PFS) et le site de Selommes (SEL) en 2007 et 2008, pour une température moyenne de 16°C.

D'après le modèle *SSS* appliqué aux données sur la température des sites, pour une DIT moyenne de 3,35 mm (moyenne des DIT des insectes échantillonnés sur les sites pour les deux années de relevés), nous pouvons tout d'abord constater qu'en 2007, où la température moyenne par site était supérieure à celle de 2008, la probabilité de grenaison reste supérieure à celle estimer pour la deuxième année. Cependant, les probabilités de grenaison estimées par le modèle *SSS* entre les deux sites ne différent pas en 2007, et sont légèrement supérieures en 2008 pour le site de PF (1,12 fois plus importante qu'à SEL ; Figure 51).

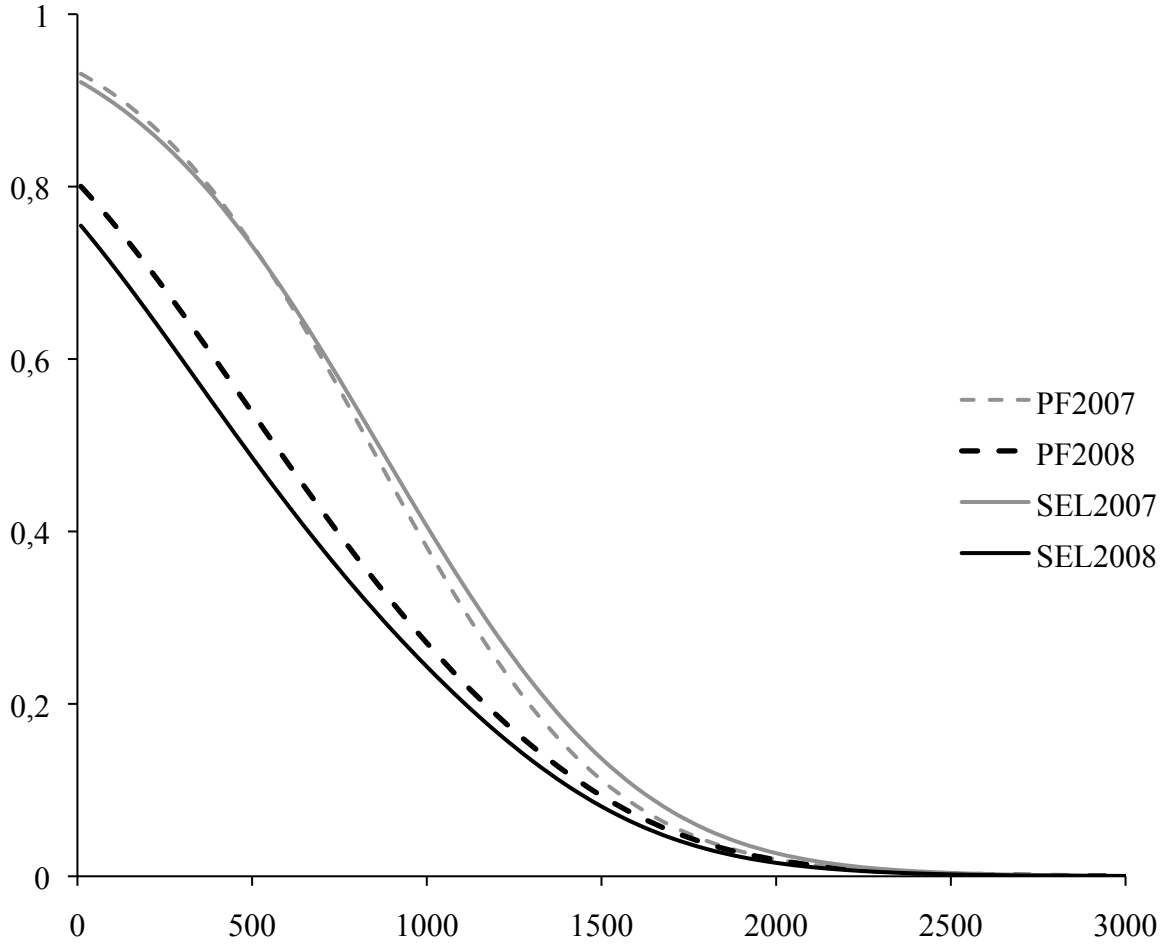


Figure 51. Probabilité de succès de grenaison (*SSS*) en relation avec la distance au champ de colza le plus proche pour les sites de Pleine-Fougère (PF) et de Selommes (SEL) en 2007 et 2008 et en fonction des variations de températures journalières, pour une DIT moyenne de la communauté de 3,35 mm

Lors qu'on applique le modèle *SSS* en prenant en compte la DIT moyenne des communautés par site ainsi que la température moyenne par site pour l'ensemble de la période, les probabilités de grenaison pour les sites de PFS et PFN sont entre 1,1 et 2,5 fois supérieures à

celles de SEL en 2007. En 2008, les probabilités de grenaison sont également supérieures sur le site de PF, en moyenne 1,4 fois, à celles estimées à SEL (Figure 52).

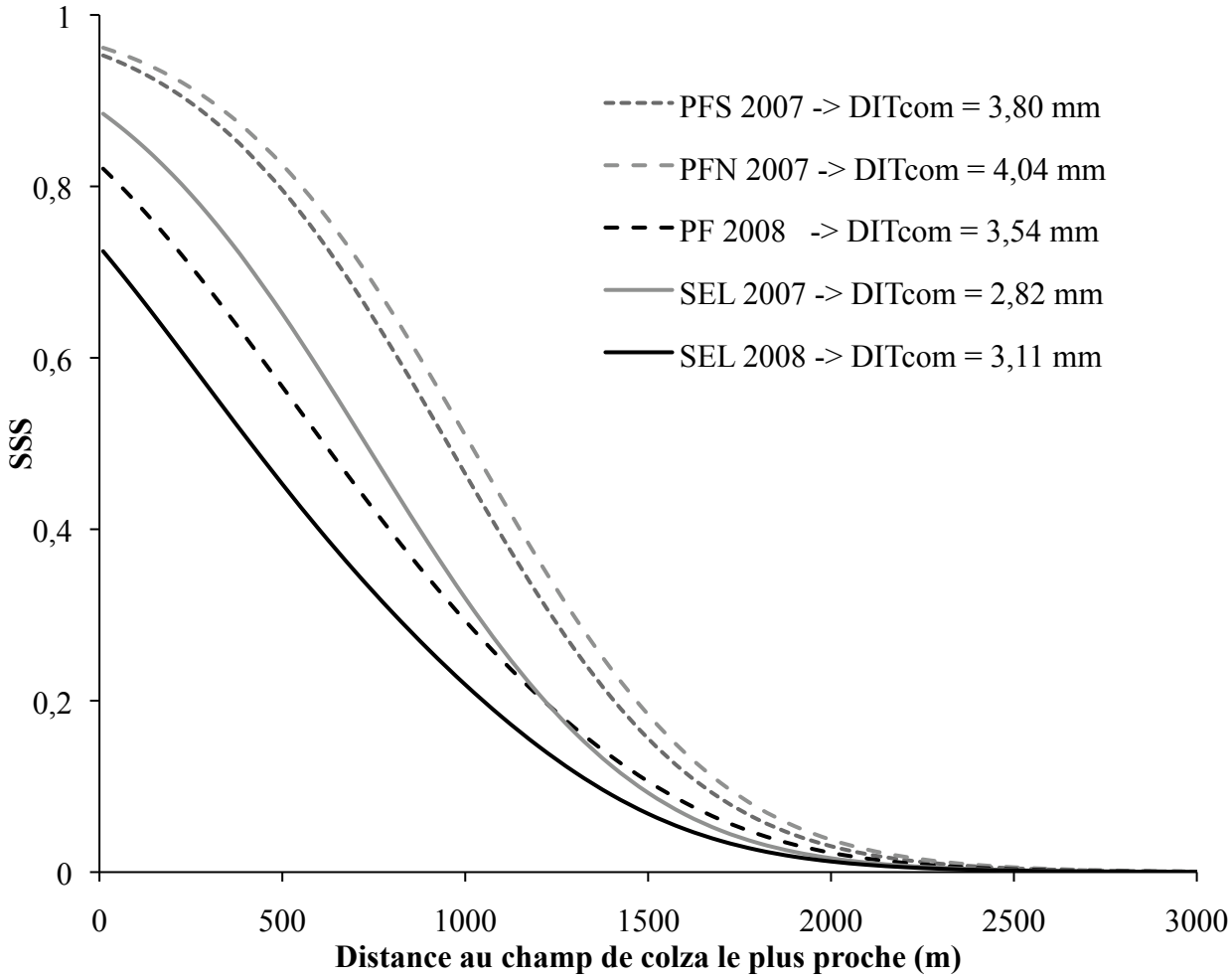


Figure 52. Probabilité de succès de grenaison (*SSS*) en relation avec la distance au champ de colza le plus proche pour les sites de Pleine-Fougère (PF) et de Selommes (SEL) en 2007 et 2008 et en fonction des variations de températures journalières, pour une DIT moyenne de la communauté par site.

1.3. DISCUSSION

Nous avons observé d'une part une diversité d'insectes sur les fleurs de colza des champs de PF et de SEL et d'autre part nous avons établi un modèle de dispersion pollinique qui prédit la probabilité de grenaison en fonction (i) de la distance à la source, (ii) de la température et (iii) de la taille des insectes. En croisant les données sur les communautés d'insectes sur nos sites d'étude avec le modèle, nous avons pu mettre en évidence qu'il existait des variations entre le succès de pollinisation des communautés d'insectes et donc dans les échanges de gènes entre des communautés végétales. Cependant, ces variations sont dues à la fois à la diversité des

insectes et à la température des sites, bien que la taille des insectes qui composent la communauté des pollinisateurs semble être la composante la plus importante dans l'augmentation de la probabilité de grenaison et de l'échelle de dispersion pollinique. En effet, le modèle prédit une dispersion jusqu'à 1900 m lorsque seule la DIT varie (Figure 50) et jusqu'à 1800 m lorsque seule la température varie (Figure 51). Cependant, les probabilités estimées à ces distances sont faibles pour les deux paramètres. Il paraît donc difficile de conclure sur le rôle prépondérant dans la dispersion pollinique d'un de ces paramètres. La taille des insectes peut être directement corrélée avec la distance de vol (Greenleaf *et al.* 2007) mais également avec la quantité de pollen que l'insecte peut transporter (Abrol 2007). La température, quant à elle, peut influencer l'activité des insectes et donc l'activité pollinisatrice (Szabo & Smith 1972, Hirao *et al.* 2006).

D'autre part, les sites qui ont permis d'échantillonner les communautés d'insectes ne se différencient pas uniquement par leur température journalière au printemps, mais par :

- leurs structures paysagères : le linéaire de haies beaucoup plus important à PF qu'à SEL peut offrir (i) des sites de nidifications à certaines espèces d'abeilles (*Bombus* sp. ; Osborne *et al.* 2007), (ii) des ressources alimentaires (nectar et pollen) qui peuvent limiter l'activité pollinisatrice au sein des champs (Le Féon 2010), et par conséquent limiter indirectement la dispersion pollinique entre les parcelles de colza ou vers des populations férales isolées ;
- le nombre de parcelles cultivées en colza : une vingtaine à PF contre une centaine à SEL, pouvant engendrer des déplacements plus ou moins importants par les insectes pollinisateurs lors de leurs recherches de nourriture.

Ainsi, bien que le modèle *SSS* ait été appliqué d'une façon identique au sein de nos deux paysages, les résultats obtenus sont largement discutables et des études complémentaires sur les flux de pollen devraient être menées dans des contextes paysagers différents afin de les valider ou non. De plus, les communautés d'insectes varient à la fois dans leur abondance et dans leur diversité au sein des paysages agricoles européens (Michener 2000), et il se pourrait que certaines caractéristiques régionales doivent être prises en compte afin d'établir des régles de décisions précises concernant la gestion des cultures GM, mais également les transferts de gènes entre des populations de plantes dans un but de conservation. En effet, Carré *et al.* (2009) avait mis en évidence que les commuautés de pollinisateurs au sein des champs de colza en Suède se limitaient quasiment qu'à l'abeille domestique. Ainsi, le retrait des colonies pourrait diminuer fortement les risques de transfert de gènes à longue distance mais pourrait

également engendrer des problèmes de maintien des populations végétales sauvages naturellement présentes dans ces zones.

DISCUSSION GENERALE & PERSPECTIVES

La dispersion des gènes chez le colza intervient par le pollen ou par les graines. Au sein d'un paysage agricole, ces flux de gènes ont lieu dans l'espace (dispersion des graines le long des routes et des chemins, dispersion du pollen dans le paysage sur des plantes de la même espèce et des plantes apparentées), et dans le temps (persistance des graines dans la banque de graines du sol, repousses de colza dans les champs ou en bordures de champs). Ce travail de thèse a porté uniquement sur les flux de pollen, composante majeure des flux de gènes (Levin & Kerstar 1974, Vekemans & Hardy 2004**)**.

UNE DIVERSITE DES POLLINISATEURS DU COLZA A PRENDRE EN COMPTE?

L'évaluation de la diversité spécifique des insectes pollinisateurs du colza sur nos sites d'étude a permis d'identifier 87 espèces différentes. Parmi celles-ci, 62 étaient des abeilles (Hymenoptera : Apiformes) et 25 des syrphes (Diptera : Syrphidae). Ces résultats sont cohérents avec les études antérieures (Taséi 1977, Delbrassine & Rasmont 1988, Brunel *et al*. 1992 & 1994 ; Tableau 26 et Tableau 27). Dans l'ensemble de ces études, l'abeille domestique apparaît comme le pollinisateur principal du colza, mais d'autres espèces sont également présentes. Parmi les apoïdes, les espèces les plus fréquemment observées appartiennent soit à la famille des Andrenidae (en nombre très variable), soit à celle des Apidae et plus spécifiquement au genre *Bombus* spp. (87,5 % des captures chez Delbrassine & Rasmont 1988, les abeilles domestiques n'ayant pas été capturées dans cette étude), et 12 % des observations chez Brunel *et al*. 1992). Les diptères représentent environ 30 % des spécimens de Brunel *et al.* (1992), mais seulement 14 % appartiennent à la famille des Syrphidae et plus spécifiquement au genre *Eristalis,* genre minoritaire dans notre étude (< 10 % des spécimens sur les deux sites pour les deux années de captures avec 9 espèces). En effet, dans nos relevés *Rhingia campestris* représentait à elle seule plus de 18 % des spécimens et *Melanostoma millenum* plus de 6 %. Seulement 1 % des captures chez Delbrassine & Rasmont (1988) étaient des Syrphidae. Les relevés de Brunel *et al.* (1992 et 1994) se sont concentrés sur les syrphes, mais les diptères n'ont pas été identifiés chez Delbrassine & Rasmont (1988) tandis que Taséi (1977) n'en a pas observé.

Nous avons également observé que deux espèces de symphytes jouaient un rôle dans la pollinisation du colza (Tableau 13, *Dolerus haematodes* et *Mesoneura opaca*, Tenthredinidae). C'est la première fois à notre connaissance que l'activité pollinisatrice des mouches à scie (*sawflies*) est notée chez cette culture. Cependant, le rôle des symphytes dans la pollinisation d'autres espèces de plantes est déjà connu. Ces hyménoptères du sous-ordre des Symphyta possèdent des pièces buccales courtes et ne présentent pas d'adaptation particulière au butinage des fleurs, mais ils sont fréquemment observés sur des fleurs où le nectar est facilement accessible et plus particulièrement de couleur jaune comme chez les Asteraceae ou certaines Ranunculaceae (*Ranunculus* spp.) (Kevan & Baker 1983). Bien que la plupart soient généralistes, certains ont même des relations de pollinisation spécialisées avec des orchidées (Gaskett *et al.* 2008). En milieu méditerranéen, des observations ont déjà recensé des symphytes de la famille des Tenthredinidae comme des pollinisateurs potentiels de la flore sauvage (Petanidou & Ellis 1993). La plupart visitent les fleurs des plantes sur lesquelles ils déposeront leurs œufs pour que les larves s'y développent : *Salix* spp., *Symphoricarpos* spp., *Rubus* spp. et *Scabiosa* spp. Les symphytes adultes se nourrissent de nectar et de pollen, mais ils consomment également des parties florales (Kevan & Baker 1983).

Parmi nos espèces majoritaires d'abeilles, trois espèces étaient univoltines (*A. cineraria, A. haemorrhoa* et *A. nigroaenea ;* Tableau 8) et deux espèces étaient oligolectiques sur les Brassicaceae et émergeaient entre mars et avril (*A. distinguenda* et *A. lagopus* ; Michener 2000). Pour ces espèces, les Brassicaceae sont probablement une ressource alimentaire importante à cette période (Steffan-Deweter & Tscharntke 2001), et la présence de colza est sans doute essentielle pour qu'elles puissent accomplir leur cycle de vie au moins en zone de grandes cultures. Il est aussi probable que ces abeilles solitaires jouent un rôle important dans la pollinisation du colza et participent activement aux flux de gènes dès le début de la floraison des champs dans les zones avec peu ou pas d'abeilles domestiques, comme c'était le cas à Selommes en 2008.

Enfin, une seule abeille domestique a été capturée lors des estimations de la dispersion du pollen par les insectes et aucune ruche n'a été observée dans le périmètre de la zone d'étude en 2008 malgré nos recherches. Cependant, *Apis mellifera* représentait environ 13 % des relevés de diversité des insectes pollinisateurs du colza en 2008 sur le site de Selommes et

20,5 % de la faune pollinisatrice capturée pour les deux années sur les deux sites d'étude. C'est également la seule espèce commune aux 5 études (Tableau 26).

Grâce à notre étude la liste des espèces d'insectes pollinisateurs du colza a pu être largement complétée. Il en découle que la faune pollinisatrice de cette culture est plus diversifiée que ce que les études précédentes avaient pu conclure. En effet, nous avons pu montrer que le colza est pollinisé par une communauté d'hyménoptères qui ne se réduit pas uniquement aux Apoïdes, bien que ceux-ci restent majoritaires pour cette culture, et que les abeilles domestiques ne sont pas les seules responsables de la pollinisation du colza. D'autre part, même si Brunel *et al.* (1992 et 1994) avaient concentré leurs observations sur les diptères, nous avons pu mettre en évidence que les communautés de syrphes qui pollinisaient le colza aujourd'hui ne se limitaient plus aux seules éristales (*Eristalis* spp.). En effet, dans la même région géographique (Ille-et-Vilaine), en 2007 et 2008 *Rhingia campestris* représentait l'espèce la plus abondante de syrphes alors qu'elle n'avait pas été observée ni en 1992 et ni en 1994.

Tableau 26. Comparaison des différentes espèces d'hyménoptères capturés sur les fleurs de colza. Les espèces capturées ou observées ont été notées par un (.) et les espèces majoritaires par un (+).

FAMILLE	ESPECE	TASEI 1977 (POITOU-CHARENTES)	DELBRASSINE & RASMONT 1988 (BELGIQUE)	BRUNE *ET AL.* 1992 & 1994 (ILLE-ET-VILAINE)	CHIFFLET 2007 & 2008 (ILLE-ET-VILAINE & LOIR-ET-CHER)
Andrenidae	*Andrena angustior*				.
	Andrena bicolor		.		
	Andrena carantonica				.
	Andrena chrysoceles		.		.
	Andrena cineraria	.	.		+
	Andrena distinguenda				.
	Andrena dorsata				.
	Andrena flavipes		.		.
	Andrena fulva		.		.
	Andrena fulvata				.
	Andrena gravida	.			.
	Andrena haemorrhoa		.		+
	Andrena helvola		.		
	Andrena lagopus				.
	Andrena nigroaenea				.
	Andrena nitida	.	.		.
	Andrena ovatula		.		
	Andrena pilipes				.
	Andrena similis				.
	Andrena sabulosa		.		
	Andrena strohmella				.
	Andrena synadelpha				.
Apidae	*Anthophora plagiata*				.
	Anthophora plumipes				.
	Apis mellifera	+	.	+	+
	Bombus spp.			.	
	Bombus agrorum	.			
	Bombus cryptarum		+		
	Bombus hortorum	.	.		
	Bombus hypnorum		.		.
	Bombus lapidarius	.	+		.
	Bombus lucorum		+		
	Bombus pascuorum		.		.
	Bombus pratorum	.	.		.
	Bombus terrestris	.	+		.
	Eucera nigrescens				.
	Nomada bifasciata				.
	Nomada flava				.
	Nomada flavoguttata				.
	Nomada fucata				.
	Nomada goodeniana				.
	Nomada lathburiana				.
	Xylocopa violacea				.
Colletidae	*Colletes cunicularius*				.
Halictidae	*Lasioglossum calceatum*				.
	Lasioglossum malachurum				.
	Lasioglossum pauperatum		.		.
	Lasioglossum xanthopus				.
	Sphecodes rufricrus				.
Megachilidae	*Osmia brevicornis*				.
	Osmis cornuta				.
	Osmia rufa		.		.
Tinthredinidae	*Dolerus haematodes*				.
	Mesoneura opaca				.

Tableau 27. Comparaison des différentes espèces de Syrphidae capturés sur les fleurs de colza. Les espèces capturées ou observées ont été notées par un (.) et les espèces majoritaires par un (+).

FAMILLE	ESPECE	TASEI 1977 (POITOU-CHARENTES)	DELBRASSINE & RASMONT 1988 (BELGIQUE)	BRUNE *ET AL.* 1992 & 1994 (ILLE-ET-VILAINE)	CHIFFLET 2007 & 2008 (ILLE-ET-VILAINE & LOIR-ET-CHER)
Syphidae	*Chrysotoxum cautum*				.
	Episyrphus balteatus				.
	Eristalis abusivus				.
	Eristalis arbustorum			.	.
	Eristalis fratercula				.
	Eristalis interrupta				.
	Eristalis nemorum				.
	Eristalis pertinax				.
	Eristalis similis				.
	Eristalis sepulchralis			.	
	Eristalis tenax			.	.
	Eristalis trivittatus				.
	Heliophilus pendulus				.
	Melanostoma mellinum				+
	Melanostoma scalare				.
	Metasyrphus corollae			.	
	Myathropa florea				.
	Platycheirus albimanus				.
	Platycheirus clypeatus				.
	Rhingia campestris				+
	Sphaerophoria pipiens				.
	Sphaerophoria scripta				.
	Syritta pipiens				.
	Syrphus ribesii				.
	Syrphus vitripennis				.

UNE DISPERSION DU POLLEN DE COLZA A LONGUE DISTANCE PAR LES INSECTES POLLINISATEURS ?

Notre étude sur le taux de grenaison (*seed set success*) consécutif à des pollinisations manuelles avec le corps d'insectes capturés à différentes distances des parcelles de colza a démontré le rôle des insectes dans la dispersion du pollen de cette culture à l'échelle du paysage. En effet, ces pollinisations manuelles réalisées avec le pollen transporté par les insectes capturés sur des fleurs MS de colza ont abouti à la formation de graines, même pour des insectes capturés à 1,1 km du champ de colza le plus proche. Ce succès de grenaison dépend de :

(i) la distance à la source en pollen, comme l'avait déjà démontré des études antérieures sans différencier les flux dus au vent et aux insectes (Timmons *et al.*1995, Cresswell *et al.* 1995, Ramsay *et al.* 2003, Cai *et al.* 2008, Hoyle & Cresswell 2009). La dispersion pollinique diminue avec la distance à la source de pollen et la majorité des évènements de pollinisation se produisent à proximité de la source (Lavigne *et al*. 1998, Devaux *et al.* 2005, Cai *et al.* 2008).

(ii) des conditions météorologiques et plus particulièrement de la température, qui peuvent influencer l'activité pollinisatrice (Hirao *et al.* 2006, Szabo & Smith 1972). D'après des simulations réalisées à partir de notre modèle de succès de grenaison (*SSS*), l'augmentation de la température entraîne une amélioration du succès de grenaison indépendamment de la taille des insectes présents. Cependant, l'augmentation du *SSS* était beaucoup plus importante pour les insectes de petite taille : une augmentation de la température de 5°C induit en moyenne une multiplication par 6 du succès de grenaison pour les insectes pollinisateurs de petite taille (DIT = 0,8 mm), au lieu de par 4,5 pour les insectes de taille moyenne (DIT = 2,7 mm) et par 2,6 pour les abeilles de grande taille (DIT = 7,35 mm).

(iii) la taille des insectes évaluée par la DIT (Cane 1987, Greenleaf *et al.* 2007). Nos résultats ont mis en évidence que la taille était la seule caractéristique des insectes qui influençait la dispersion du pollen dans notre étude. Les abeilles de plus grande taille ont pu transporter du pollen viable sur de longues distances (>1,1 km), ce qui est cohérent avec leur plus grande distance de butinage puisque chez les abeilles, les individus (d'une même espèces ou non) de plus grande taille volent en moyenne sur des distances plus importantes que ceux

de petite taille (e.g. Cane 1987, Greenleaf *et al.* 2007, Beil *et al.* 2008, et pour *Xylocopa flavorufa* Pasquet *et al.* 2008). Mais il est probable aussi que le faible nombre d'individus capturés lors de notre expérimentation explique l'effet non significatif du taxon, que ce soit au niveau de l'espèce, du genre, de la famille ou même de l'ordre. En effet, la diversité des insectes pollinisateurs semble un facteur important à prendre en compte car (i) la constance florale des butineuses lors d'un voyage associée à un apprentissage du butinage d'un type de fleurs chez la plupart des Apiformes pourrait engendrer un plus fort taux de pollinisation croisée (Michener 2000) et car (ii) certaines espèces présentent des caractères morphologiques spécifiques leur permettant de transporter de très grandes quantités de pollen malgré leur faible taille (Thorp 1979). Par exemple, à 150 m *A. gravida* avec une distance inter-tégulaire (DIT) de 3,64 mm a produit 759 graines alors qu'un *Bombus terrestris* avec une DIT de 6,9 mm n'en a produit que 66. A 55 m, *Andrena nitida* avec une DIT de 3,61 mm a produit 1898 graines tandis que *Bombus lapidarius* avec une DIT de 7,35 mm n'en a produit que 31. Ces résultats suggèrent aussi que globalement les Apidae sociaux, qui agrègent leur pollen en pelotes, ont transportaient peut-être moins de pollen efficace pour la fécondation que les abeilles solitaires.

Bien qu'une seule abeille domestique ait été capturée lors des expérimentations sur les mesures de dispersion du pollen et qu'aucune ruche n'ait été recensée dans le site d'étude, la présence de colonies d'abeilles domestiques pourrait avoir des conséquences importantes sur les distances de dispersion du pollen. En effet, des échanges de pollen peuvent avoir lieu entre les butineuses au sein même de la colonie (e.g. sur kiwi, *Actinidia deliciosa*, (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson, Vaissière *et al.* 1994 ; sur manguier, *Mangifera indica* L., Dag *et al.* 2000). Lors des contacts entre ouvrières dans la colonie, le pollen présent sur leur toison peut être échangé. Ainsi, une ouvrière qui butine un champ *x* rapporte du pollen de ce champ sur son corps à la ruche. Par contact, elle peut transférer une partie de ce pollen du champ *x* à une deuxième butineuse qui ira butiner dans une toute autre direction (Vaissière *et al.* 1994, Dag *et al.* 2000). Ces transferts intra-colonies pourraient donc augmenter les distances de dispersion, comme l'ont suggéré Ramsay *et al.* (1999, 2003).

En ce qui concerne les syrphes, les individus de grande taille se déplacent moins mais leur temps de recherche alimentaire est plus important (Gilbert 1985). D'autre part, les syrphes visitent souvent un grand nombre de fleurs en peu de temps, ce qui pourrait correspondre à une activité pollinisatrice importante (Vockeroth *in* Sarthou 1996), et augmenter la

pollinisation des cultures (Jauker & Wolters 2008) et les risques d'échappement de (trans-)gènes.

Selon Kevan & Baker (1983), la charge pollinique des symphytes est souvent très importante et nos résultats sont en accord avec ce constat. En effet, 3 des 4 symphytes capturés lors de l'expérimentation sur l'estimation de la dispersion du pollen de colza par les insectes ont donné : 54 et 64 graines pour *Dolerus haematodes* et 138 graines pour *Mesoneura opaca* (moyenne de 64 graines par symphytes) à la suite de pollinisations manuelles. Bien que, les symphytes jouent un rôle dans la pollinisation efficace du colza, il semblerait que leur rôle dans la dispersion soit plus important pour les courtes distances (3 spécimens capturés à moins de 20 m de la source et un à 150 m). Cependant, compte tenu du faible nombre d'individus et de l'absence d'informations bibliographiques sur les distances de vol des symphytes, nous ne pouvons pas conclure clairement sur ce point.

La diversité importante d'espèces d'insectes pollinisateurs recensés sur les deux sites d'études laisse envisager des distances de vol et des comportements de butinage différents avec pour conséquence une échelle spatiale de dispersion du pollen variable en fonction du cortège de pollinisateurs présents (Gilbert 1985, Sarthou 1996, Greenleaf *et al.* 2007, Beil *et al.* 2008, Osborne *et al.* 2008). Or, les communautés d'insectes varient en abondance et en composition au cours d'une saison (Hirao *et al.* 2006), et il existe aussi des variations au sein d'une même journée avec des espèces aux comportements différents (Gilbert 1985). Dans le cas du colza, de faibles diversités spécifiques d'abeilles sont observées dans les zones némorales et continentales d'Europe (Michener 2000, Carré *et al.* 2009). Ainsi en Suède, les abeilles domestiques dominent vraiment la faune pollinisatrice des cultures de colza avec 94,5% des captures (Carré *et al.* 2009) au lieu de 20,5% dans notre étude pour les deux années sur les deux sites d'étude. De telles fluctuations peuvent certainement engendrer des variations importantes dans la dispersion du pollen de colza à l'échelle d'un paysage agricole.

Nos points d'échantillonnage constitués de plantes MS peuvent être comparés à des populations férales de petite taille. Nos résultats et le modèle qu'ils sous-tendent indiquent que ces plantes peuvent être pollinisées par les plantes des champs dans leur voisinage, mais aussi, par des champs distants de plus de 1,1 km. Les graines qui sont issues de ces pollinisations peuvent ensuite entrer en dormance dans la banque de graines du sol durant plusieurs années (D'Hertefeldt *et al.* 2008), et produire ensuite des populations férales de

colza qui contribueront elles-mêmes aux flux de gènes à l'échelle du paysage. Nos résultats ont montré aussi que, dans un paysage agricole de type openfield avec une large proportion de surface cultivée en colza, seulement 39,4% des insectes transportaient du pollen de colza efficace pour la fécondation. Cette valeur estime le paramètre *E* (fraction de pollinisateurs délivrant du pollen extrinsèque dans la population réceptrice) du modèle de flux de gènes rentrant dans un champ de colza conventionnel développé par Cresswell *et al.* (2002). Cette proportion était jusqu'à présent fixé à 1 par manque de données. De plus, les insectes ayant produit des graines ont donné en moyenne de 7,3 siliques à raison de 20 graines/silique en moyenne, ce qui nettement plus que les 1,2 siliques/insecte estimés par Cresswell *et al.* (2002). Cette différence peut s'expliquer par l'absence d'auto-pollinisation dans nos plantes cibles puisque celles-ci étaient MS et, de ce fait, une absence de compétition pollinique avec de l'auto-pollen. Nos résultats fournissent des données quantitatives afin d'améliorer la modélisation des flux de gènes dus à la dispersion du pollen dans les cultures entomophiles à l'échelle d'un paysage, ce qui constitue un étape essentielle dans la gestion de la coexistence des filières agricoles GM et non-GM.

UN VECTEUR DE POLLEN MAJORITAIRE ?

Le pollen de colza peut être transporté par le vent et par les insectes dans des proportions qui sont encore largement débattues dans les études antérieures et plus particulièrement dans les relevés à longues distances (Mesquida & Renard 1982, Timmons *et al.* 1995, Pierre *et al.* 2002, Ramsay *et al.* 2003, Cresswell 2008). Nous avons pu démontrer ici que la quantité de graines formées variait en fonction de la distance au champ de colza le plus proche des plantes pièges, et également en fonction du vecteur de pollen. Mais malgré deux approches différentes - la première basée sur les effectifs de graines produites à chaque point d'échantillonnage par les plants en pollinisation libre et sous tulle au Chapitre 5, et la deuxième basée sur l'analyse génétique de ces graines au Chapitre 6 - nous n'avons pas pu conclure quant à l'importance relative de ces deux vecteurs pour les distances supérieures à 10 m de la source. En effet, la part relative du vent dans la production de graines de colza a été estimée en moyenne à environ 12 % avec la première méthode, au lieu de 74 % avec la deuxième. Cette différence peut être due (i) au faible nombre d'insectes capturés à chaque point d'échantillonnage et qui ne représentaient de ce fait qu'une petite fraction du nuage

pollinique total transporté par les insectes pollinisateurs, (ii) au fait que les plantes sous tulle (PsT) représentaient un échantillonnage du nuage pollinique atmosphérique sur l'ensemble d'environ 8 semaines de floraison des plantes MS contre seulement 5 jours de capture pour le nuage pollinique transporté par les insectes pollinisateurs, (iii) à un taux de rétention du flux pollinique atmosphérique du tulle plus important que celui estimé (30 % selon B. Vaissière, com. pers.), (iv) à la présence de meligèthes à l'intérieur des sachets de tulle même si nos résultats suggèrent que leur activité pollinisatrice est très faible, voire nulle (Tableau 13). Pour les distances ≤ 10 m de la source, c'est-à-dire pour pour les populations de colza présentes en bordure de champs, les deux méthodes concordent pour indiquer que les insectes constituent le vecteur de pollen dominant. Ce dernier résultat suggère que les plantes à la périphérie des champs et les populations férales en bordures de champs participent de façon plus importante à la pollinisation croisée par les insectes.

Il serait intéressant de poursuivre cette étude en augmentant :

(i) le nombre de points d'échantillonnage dans le paysage afin de mieux caractériser les nuages polliniques à cette échelle. Nos résultats mettent en évidence une baisse importante du succès de pollinisation entre 150 et 400 m. Une augmentation du nombre de point permettrait d'apporter des éléments pour préciser et expliquer les raison de cette baisse importante ;

(ii) le nombre de dates d'échantillonnage des insectes. Les nuages polliniques transportés par les insectes ne peuvent être décrits ici que pour 5 dates, ce qui ne rend pas compte de la composition et de la diversité génétique totale du pool de pollen transporté par les insectes ;

(iii) le nombre d'insectes capturés. La faible proportion d'insectes ayant donné des graines ne reflète sans doute qu'une partie du pool pollinique totale.

D'autre part, les conditions météorologiques sur le site de Selommes en 2008 ont été très peu favorables au butinage des insectes anthophiles (24 jours de pluie sur l'ensemble de la période de relevés, température moyenne 10,6 °C). Il serait intéressant de renouveler cette expérience dans de meilleures conditions climatiques car la quantité de pollen atmosphérique trouvée lors de relevés complémentaire en 2010 dans le cadre du programme GMBioImpact a été beaucoup plus importante dans des conditions climatiques plus favorables (com. perso. Y.Brunet, INRA Bordeaux).

QUELQUES PISTES POUR LA CO-EXISTENCE DES FILIERES AGRICOLES GM ET NON-GM

Une distance d'isolement de 1,1 km des champs GM et non-GM de colza n'est pas suffisante pour éviter totalement l'échappement de transgènes dans les productions conventionnelles. Les repousses de colza constituées dans le paysage agricole par les populations férales devraient faire l'objet d'une gestion rigoureuse afin d'éliminer d'éventuels points de relais à la dispersion pollinique engendrant ainsi une échelle de dispersion encore plus importante. En effet, des études ont montrés que certains insectes pollinisateurs comme les bourdons pouvaient avoir un vol de butinage beaucoup plus important si deux zones fleuries étaient reliées entre elles par la présence de plantes en fleurs même isolées. Les bourdons se déplacent alors le long de ce parcours fleuri et rejoignent ainsi la deuxième zone qu'ils n'auraient pas visité en l'absence de ces plantes isolées (Thomson *et al.*1987, Thomson 1996, Saleh & Chittka 2006). Ce phénomène de *trapline* par les insectes pollinisateurs a pour conséquence d'augmenter les brassages génétiques entre les populations de plantes (Ohashi & Tomson 2009) et donc dans notre cas les risques d'échappement des (trans-)gènes des cultures vers le milieu environnant.

Le système de gestion des populations férales devrait cibler, d'une façon plus importante, les populations férales de bordures de champs qui semblent plus visibles pour les pollinisateurs (Mustajärvi *et al.* 2001, Devaux 2006, Chapitre 6) et donc avoir un rôle plus important dans la pollinisation croisée. Il en est de même à l'inverse pour les plantes cultivées situées à la périphérie des champs. De ce fait, une solution à envisager pour limiter les transferts de pollen d'un champ vers le milieu environnant serait de cultiver dans les premiers mètres d'un champ GM une bande de colza non-GM et/ou de maintenir une diversité florale attractive pour les insectes en bordures de champs.

Dans les zones agricoles intensives avec une forte production de colza, la majorité des insectes pollinisateurs semblent transporter du pollen de Brassicaceae dans leur toison (Chapitre 3). Ainsi afin de permettre une éventuelle coexistence des filières agricoles, une des solutions à envisager serait de concentrer l'ensemble des cultures GM dans une zone donnée (îlots) afin de limiter les transferts entre GM et non-GM par le biais de l'activité pollinisatrice

des insectes et du vent. Cependant, la formation de zones réservées aux cultures GM peut conduire au non respect de la législation sur la co-existence elle-même en limitant le choix de cultures des exploitants agricoles. Une autre solution envisageable serait d'implanter une autre espèce de plante visitée par la même communauté de pollinisateurs que le colza car cela pourrait réduire la dispersion pollinique et le taux de croisement (Campbell 1985). Parmi les autres solutions envisagées, la mise au point de variétés de colza à floraison plus précoce est aussi envisageable. Cependant, comme nous avons pu le voir ici, le colza représente une ressource alimentaire (nectar et pollen) importante pour les espèces d'insectes dont l'émergence a lieu entre mars et avril. Un décalage dans la floraison de cette ressource majeure, à cette période de l'année, pourrait avoir des conséquences importantes sur le maintien des communautés de ces insectes.

L'ETUDE DE LA DISPERSION DU POLLEN PAR LES INSECTES SE POURSUIT

Des travaux complémentaires sont en cours pour génotyper les graines issues des pollinisations manuelles avec les insectes capturés, des plantes exposées aux différents modes de pollinisation, et de la majorité des champs et des populations férales dans la zone de production de Selommes ainsi que ceux d'une cinquantaine de variétés. Lorsque ces travaux seront achevés, les résultats permettront (i) de réaliser les assignations des champs à une variété, (ii) de déterminer le niveau d'hybridation des populations férales, et (iii) d'estimer l'origine des pollens ayant permis l'obtention de graines par des tests de paternité (Devaux 2006, Jha & Dick 2010). Ces génotypes, plutôt que les variétés, pourraient caractériser les champs et les populations de bordure et être directement intégrés au modèle de dispersion. Une fois les estimations obtenues dans le bassin de production de Selommes pour l'expérience de 2008, ces estimations pourront être testées dans d'autres contextes paysagers. Il serait ainsi intéressant de réaliser une étude similaire à celle effectuée sur le site de Selommes sur la dispersion du pollen par les insectes pollinisateurs (Chapitre 7) sur le site bocager de Pleine-Fougère car (i) la densité de champs de colza y est nettement moins importante (20 champs de colza cultivés en 2008 contre 98 à Selommes), ce qui pourrait induire des distances de vol plus importantes de la part des insectes pollinisateurs et donc probablement de plus fortes amplitudes dans les flux de gènes, (ii) la conduite des cultures y

est plus extensive, ce qui pourrait favoriser des échanges plus importants avec les populations d'adventices du fait d'une attractivité réduite des champs de colza pour les insectes pollinisateurs au profit de la flore sauvage (Le Féon 2010). En effet, l'intensification du milieu agricole peut avoir des conséquences négatives sur la faune pollinisatrice (Kremen *et al.* 2002, 2004 ; Larsen *et al.* 2005). Dans des paysages d'Europe centrale où les systèmes de culture biologique ont augmenté de 5 à 20 %, cela s'est traduit par une augmentation dans les bandes enherbées et les jachères, de la richesse spécifique en abeilles de 50 %, de la densité en abeilles solitaires de 60 %, et de la densité des bourdons de 150 % (Holzschuh *et al.* 2008). D'autre part, une étude récente indique que la proportion de certaines espèces de bourdons diminue avec l'augmentation de la surface en colza dans le paysage (*Bombus sylvarum*, *B. pascuorum*, *B. pratorum* et *B. hortorum ;* Dieköttet *et al.* 2010). Ainsi, une baisse de la pression anthropique sur les milieux agricoles (diminution du travail du sol, baisses des intrants, fauches moins fréquentes) peut augmenter l'abondance et la biodiversité globale en insectes pollinisateurs avec des effets qui restent à déterminer sur le niveau de pollinisation croisée et les échanges entre les champs et l'environnement.

BIBLIOGRAPHIE

Abrol, D. (2007) Honeybees and rapeseed: a pollinator-plant interaction. *Advances in botanical research*, **45**, 337-367.

Alleaume-Benharira, M., Pen, I.R. & Ronce, O. (2006) Geographical patterns of adaptation within a species' range: interactions between drift and gene flow. *Journal of Evolutionary Biology*, **19**, 203-215.

Allen-Wardell, G., Bernhardt, P., Bitner, R., Burquez, A., Buchmann, S., Cane, J., Cox, P.A., Dalton, V., Feinsinger, P., Ingram, M., Inouye, D., Jones, C.E., Kennedy, K., Kevan, P., Koopowitz, H., Medellin, R., Medellin-Morales, S., Nabhan, G.P., Pavlik, B., Tepedino, V., Torchio, P. & Walker, S. (1998) The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conservation Biology,* **12**, 8-17.

Angevin, F. (2008) Apports de la modélisation dans une approche pluridisciplinaire pour gérer la coexistence de filières OGM et non-GM chez le maïs. *Programme national de recherches sur les organismes génétiquement modifiés, second séminaire général de restitution du Programme ANR-OGM, Session 2 : Evaluation et gestion des risques agro-environnementaux. Expérimentation et modélisation.* Paris, Novembre 2008.

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.

Ashman TL, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mazer SJ, Mitchell RJ, Morgan MT, Wilson WG (2004) Pollen limitation of plant reproduction: Ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology,* **85**, 2408-2421

Ball, S.G. *&* Morris, R.K.A. (2000) Provisional Atlas of British hoverflies (Diptera, Syrphidae). *Biological Records Centre, Huntingdon.*

Balvanera P, Daily G, Ehrlich P, Ricketts T, Bailey S, Kark S, Kremen C, Pereira H (2001) Conserving biodiversity and ecosystem services. *Science* **291,** 2047

Barton, K.A., Whiteley, H.R. & Yang, N. (1987) *Bacillus thuringiensis* {section}-Endotoxin Expressed in Transgenic Nicotiana tabacum Provides Resistance to Lepidopteran Insects. *Plant physiology*, **85**, 1103-1109.

Bateman, A.J. (1947) Contamination of seed crops. *Journal of Genetics*, **48**, 257-275.

Beardmore, J. A. (1983) Extinction, survival, and genetic variation. *Biol. Conserv. Ser.*, 125–151.

Beaumont, M.A. (2007) *in* Balding D.J., Bishop M., Cannings C. Handbook of Statistical Genetics, 3rd Edition, *Conservation genetics*, 1021-1066.

Becker, H.C., Damgaard, C. & Karlsson, B. (1992) Environmental variation for outcrossing rate in rapeseed (*Brassica napus*). *TAG Theoretical and Applied Genetics*, **84**, 303-306.

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

Beil, M., Horn, H. & Schwabe, A. (2008) Analysis of pollen loads in a wild bee community (Hymenoptera: Apidae) – a method for elucidating habitat use and foraging distances. *Apidologie*, **39**, 456.

Benett, P.M., Livesey, C.T., Nathwani, D., Reeves, D.S., Saunders, J.R. & Wise, R. (2004) An assessment of the risks associated with the use of antibiotic resistance genes in genetically modified plants: report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **53**, 418-431.

Bohan, D.A., Boffey, C.W., Brooks, D.R., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Haughton, A.J., Hawes, C., Heard, M.S., May, M.J., Osborne, J.L., Perry, J.N., Rothery, P., Roy, D.B., Scott, R.J., Squire, G.R., Woiwod, I.P. & Champion, G.T. (2005) Effects on weed and invertebrate abundance and diversity of herbicide management in genetically modified herbicide-tolerant winter-sown oilseed rape. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **272**, 463-474.

Bommarco, R., Biesmeijer, J.C., Meyer, B., Potts, S.G., Pöyry, J., Roberts, S.P.M., Steffan-Dewenter, I. & Öckinger, E. (2010) Dispersal capacity and diet breadth modify the response of wild bees to habitat loss. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **277**, 2075 -2082.

Bonny, S. (2003) Why are most Europeans opposed to GMOs ? Factors explaining rejections in France and Europe. *Electonic Journal of Biotechnology*, **6**, 20-41.

Bougier, R., Green, R., Le Bail, M., Soler, L-G. & Trouillier, A. (2006) Filières soja OGM et non OGM : à quelles conditions la coexistence est-elle possible ? *INRA Sciences sociale,* **5**.

Bretagnolle, F. & Thompson, J.D. (1995) Gametes with the somatic chromosome number : mechnainsms of their formation and rôle in the évolution of autoploid plants. *New Phytologist,* **129**, 1-22.

Brosi, B.J., Daily, G.C., Shih, T.M., Oviedo, F. & Durán, G. (2007) The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *Journal of Applied Ecology*, **45**, 773-783.

Brunel, E., Cadou, C., Mesquida, J. (1992) Entomofaune associée à la floraison du colza de printemps (*Brassica napus* L.). *Apidologie*, **23**, 490-493.

Brunel, E., Mesquida, J., Renard, M. & Tanguy, X. (1994) Répartition de l'entomofaune pollinisatrice sur des fleurs de colza (*Brassica napus* L.) et de navette (*Brassica campestris* L.) : incidence du caractère apétale de la navette. *Apidologie,* **25**, 12-20.

Buchmann SL, Nabhan GP (1996) The forgotten pollinators. Island Press, Washington USA

Cai, L., Zhou, B., Guo, X., Dong, C., Hu, X., Hou, M. & Liu, S. (2008) Pollen-mediated gene flow in Chinese commercial fields of glufosinate-resistant canola (*Brassica napus*). *Chinese Science Bulletin*, **53**, 2333-2341.

Campbell, D.R. (1985) Pollen and gene dispersal: the influences of competition for pollination. *Evolution*, **39**, 418-431.

Cane, J.H. (1987) Estimation of bee size using intertegular span (Apoidea). *Journal of the Kansas Entomological Society*, **60**, 145-147.

Cane, J.H. & Sipes, S. (2006) Characterizing floral specialization by bees : analytical methods and a revised lexico for oligolecty, *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization,* Waser, N.M. & Ollerton, J. University of Chicago Press.

Carré, G., Roche, P., Chifflet, R., Morison, N., Bommarco, R., Harrison-Cripps, J., Krewenka, K., Potts, S.G., Roberts, S.P., Rodet, G., Settele, J., Steffan-Dewenter, I., Szentgyörgyi, H., Tscheulin, T., Westphal, C., Woyciechowski, M. & Vaissière, B.E. (2009) Landscape context and habitat type as drivers of bee diversity in European annual crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **133**, 40-47.

Carreck NL, Williams IH, Little DJ (1997) The movement of honey bee colonies for crop pollination and honey production by beekeepers in Great Britain. *Bee World* **78**(2):67-77

Carvell, C., Roy, D.B., Smart, S.M., Pywell, R.F., Preston, C.D., Goulson, D. (2006) Declines in forage availability for bumblebees at a national scale. *Biological Conservation*, **132**, 481–489.

Chakraborty, R., Kamboh, M.I., Nwankwo, M. & Ferrell, R.E. (1992) Caucasian genes in American blacks: new data. *American Journal of Human Genetics*, **50**, 145-155.

Chapin, F.S., Zavaleta, E.S., Eviner, V.T., Naylor, R.L., Vitousek, P.M., Reynolds, H.L., Hooper, D.U., Lavorel, S., Sala, O.E., Hobbie, S.E., Mack, M.C. & Díaz, S. (2000) Consequences of changing biodiversity. *Nature*, **405**, 234-242.

Chassy, B.M. (2002) Food Safety Evaluation of Crops Produced through Biotechnology. *Journal of the American College of Nutrition*, **21**, 166S-173.

Chèvre, A., Eber, F., Baranger, A. & Renard, M. (1997) Gene flow from transgenic crops. *Nature*, **389**, 924.

Chèvre, A., Adamczyk, K., Eber, F., Huteau, V., Coriton, O., Letanneur, J., Laredo, C., Jenczewski, E. & Monod, H. (2007) Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. I. Evolution of chromosome structure. *Theoretical and Applied Genetics*, **114**, 209-221.

Chittka, L. & Thomson, J.D. (2001) Cognitive Ecology of Pollination, Cambridge University Press, Cambridge.

Cheung, W.Y., Hubert, N., Landry, B.S. (1993) A simple and rapid DNA microextraction method for plant, animal and insects suitable for RAPD and other PCR analyses. *PCR Methods Applications*, **3**, 69–70.

Chung, K., Elisens, W.J. & Skvarla, J.J. (2010) Pollen morphology and its phylogenetic significance in tribe Sanguisorbeae (Rosaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **285**, 139-148.

Corbet, SA (1997) Role of pollinators in species preservation, conservation, ecosystem stability and genetic diversity. *Acta Horticultuae* **437**:219-230.

Coste, H. (1937) Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et contrées limitrophes, Tome 1, Second Tirage, Paris, Librairie des Sciences et des Arts, p76 –taxon 160.

Cramer, C.L., Weissenborn D.L., Oishi K.K., Grabau E.A., Bennett S., Ponce E. (1996) Bioproduction of human enzymes in transgenic tobacco. *Ann. N Y Acad.,* **79***,* 62-71.

Crawley, M.J. & Brown, S.L. (1995) Seed limitation and the dynamics of feral oilseed rape on the M25 Motorway. *Proceedings: Biological Sciences*, **259**, 49-54.

Cresswell, J.E., Bassom, A.P., Bell, S.A., Collins, S.J. & Kelly, T.B. (1995) Predicted pollen dispersal by honey-Bees and three species of bumble-bees foraging on oil-seed rape: a comparison of three models. *Functional Ecology*, **9**, 829-841.

Cresswell, J.E., Osborne, J.L. & Bell, S.A. (2002) A model of pollinator-mediated gene flow between plant populations with numerical solutions for bumblebees pollinating oilseed rape. *Oikos*, **98**, 375-384.

Cresswell, J.E. (2008) Reply by Dr James Cresswell, School of Biosciences, University of Exeter. *Weather*, **63**, 369-370.

Cresswell, J. (2010) A mechanistic model of pollinator-mediated gene flow in agricultural safflower. *Basic and Applied Ecology*, In Press, Corrected Proof.

Crooks, J. (2002) Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos*, **97**, 153-166.

Colbach, N., Meynard J. M., Clermont-Dauphin, C. & Messéan, A. (1999) GeneSys: A model of the effects of cropping system on gene flow from transgenic rapeseed. *In:* P. J. W.Lutman *(ed.),* Proc. No. 72 — Gene Flow and Agriculture — Relevance for Transgenic Crops, 89 – 94. Br. Crop Protect. Council, Farnham.

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: I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **83**, 235-253

Dag. A., Degani, C. & Gazit, S. (2000) In-hive pollen transfer in mango, *VIII International Symposium on Pollination ISHS Acta Horticulturae- Pollination : integrator of crops and native plant systems*, **561**.

Dale, P.J., Clarke, B. & Fontes, E.M. (2002) Potential for the environmental impact of transgenic crops. *Nature Biotechonoly*, **20**, 567-574.

Darmency, H., Klein, E.K., Gestat De Garanbé, T., Gouyon, P.H, Richard-Molard, M. & Muchembled, C. (2009) Pollen dispersal in sugar beet production fields. *Theoretical and Applied Genetics*, **118**, 1083–1092

Degrandi-Hoffman G, Watkins JC (2000) The foraging activity of honey bees *Apis mellifera* and non-*Apis* bees on hybrid sunflowers (*Helianthus annuus*) and its influence on crosspollination and seed set. *Journal of Apicultural Research* **39**, 37-45

Delaplane KS, Mayer DF (2000) Crop pollination by bees. CABI Publishing, New York USA

Delbrassine, S. & Rasmont, P. (1988) La pollinisation du colza *Brassica napus* L. var/ *Oleifera* (MOENCH) DELILE, en Belgique. *Bulletin de Recherche Agronomique de Gembloux,* **23**,123-152.

Demanèche, S., Sanguin, H., Poté, J., Navarro, E., Bernillon, D., Mavingui, P., Wildi, W., Vogel, T.M. & Simonet, P. (2008) Antibiotic-resistant soil bacteria in transgenic plant fields. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 3957-3962.

Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.-M. (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, **52**, 81–106

De Snoo, G.R. (1999) Unsprayed field margins: effects on environment, biodiversity and agricultural practice. *Landscape and Urban Planning*, **46**, 151-160.

Devaux, C., Lavigne, C., Falentin-Guyomarc'h, H., Vautrin, S., Lecomte, J. & Klein, E. (2005) High diversity of oilseed rape pollen clouds over an agro-ecosystem indicates long-distance dispersal, *Molecular Ecology*, **14**, 2269-2280.

Devaux, C. (2006) Modélisation et estimation de la dispersion efficace du pollen de colza à longue distance dans un paysage agricole et dans un champ. Thèse de Doctorat, Université Paris-Sud 11, Orsay. 276 pp.

Diekötter, T., Kadoya, T., Peter, F., Wolters, V. & Jauker, F. (2010) Oilseed rape crops distort plant-pollinator interactions. *Journal of Applied Ecology*, **47**, 209-214.

Dieryck W., Gruber V., Baudino S., Lenee P., Pagnier J., Merot B. (1995) Expression of recombinant human hemoglobin in plants. *Transfus. Clin. Biol.*, **2**, 441-447.

Dieryck W., Pagnier J., Poyart G., Marden M.C., Gruber V., Bournat P. (1997) Human haemoglobin from transgenic tobacco, *Nature,* **386**, 29-30.

D'Hertefeldt, T., Jørgensen, R.B. & Pettersson, L.B. (2008) Long-term persistence of GM oilseed rape in the seedbank. *Biology Letters*, **4**, 314-317.

Don, R.H., Cox, P.T., Wainwright, B.J., Baker, K., Mattik, J.S. (1991) Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Research*, **19,** 4008.

Duggan, P.S., Chambers, P.A., Heritage, J. & Forbes, J. (2000) Survival of free DNA encoding antibiotic resistance from transgenic maize and the transformation activity of DNA in ovine saliva, ovine rumen fluid and silage effluent. *FEMS Microbiology Letters*, **191**, 71-77.

Ekroos, J., Piha, M., Tiainen, J. (2008) Role of organic and conventional field boundaries on boreal bumblebees and butterflies. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **124**, 155– 159.

Ellstrand, N.C. (1992) Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *Oikos*, **63,** 77-86.

Ellstrand, N. C., & Elam, D. R. (1993) Population genetic consequences of small population size : Implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 217– 242.

Ervin, D.E., Welsh, R., Batie, S.S. & Carpentier, C.L. (2003) Towards an ecological systems approach in public research for environmental regulation of transgenic crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **99**, 1-14.

Eastham, K. & Sweet, J. (2002) Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer. Report No 28, Expert's Corner Series. European Environment Agency, Copenhagen, Denmark.

Estes JR, Amos BB, Sullivan JR (1983) Pollination from two perspectives: the agricultural and biological sciences. In: Handbook of experimental pollination biology (Jones CE, Little RJ eds) Van Norstrand Reinhold, New York

European Commission, Commission Recommendation of 23 July 2003 on Guide-lines 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*, **46**, L189, 36–47.

Faegri, K. & van der Pijl, L. (1971) *The principles of pollination ecology* Pergamon Press, Oxford, New York.

Faye L., Lerouge P., Gomord V. (2002) OGM et production de molécules pharmaceutiques, *Plant-made pharmaceutical*, www.infogm.org

Fischer, J. & Lindenmayer, D.B. (2007) Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecology and Biogeography*, **16**, 265-280.

Fitzjohn, R., Armstrong, T., Newstrom-Lloyd, L., Wilton, A. & Cochrane, M. (2007) Hybridisation within Brassica and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. *Euphytica,* **158**, 209-230.

Francis, F., Fadeur, G. & Haubruge E. (2005) Effet des tournières enherbées sur les populations de syrphes en grandes cultures, *Notes faunistiques de Gembloux*, **56**, 7-10.

Free, J.B. (1993) Insect pollination of crops. In Academic Press London, UK:Academic Press

Free, J.B. & Durant, A.J. (1966) The transport of pollen by honey-bees from one foraging trip to the next. *Journal of Horticultural Science*, **41, 87-89.**

Gadbin, C. (1979) L'intérêt de l'acétolyse en mélissopalynologie. *Apidologie*, **10**, 6.

Gallais, A. & Ricroch, A., (2006) Plantes transgéniques: fais et enjeux. Edition Quae. 284p.

Galen, C. & Stanton, M.L. (1991) Consequences of Emergence Phenology for Reproductive Success in Ranunculus adoneus (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, **78**, 978-988.

Garnier, A., (2006) Dynamique et dispersion d'une espèce cultivée échappée des champs : le cas du colza. Thèse de Doctorat de l'Université de Paris-Sud XI, 214p.

Garnier, A. & Lecomte, J. (2006) Using a spatial and stage-structured invasion model to assess environmental risks of transgene escape via feral populations of oilseed rape. *Ecological Modelling*, **194**, 141-149.

Garnier, A., Deville, A. & Lecomte, J. (2006) Stochastic modelling of feral plant populations with seed immigration and road verge management. *Ecological Modelling*, **197**, 373-382.

Gaskett, A.C., Winnick, C.G. & Herberstein M.E. (2008) Orchid sexual deceit provokes ejaculation, *The american naturalist*, **171**, p7.

Gathmann, A. & Tscharntke, T. (2002) Foraging ranges of solitary bees. *Journal of Animal Ecology*, **71**, 757-764.

Gibson RH, Nelson IL, Hopkins GW, Hamlett BJ, Memmott J (2006) Pollinator webs, plant communities and the conservation of rare plants: arable weeds as a case study. *Journal of Applied Ecology* **43**(2): 246-257

Gilbert, F.S. (1985) Diurnal activity patterns in hoverflies (Diptera, Syrphidae). *Ecological Entomolology*, **10**, 385-392.

Goddjin O.J.M. & Pen J. (1995) Plants as bioreactors. *Trends Biotechnol.,* **13**, 379-387.

Gonzalez, A., Mouquet, N. & Loreau, M. (2009) Biodiversity as spatial insurance: the effects of habitat fragmentation and dispersal on ecosystem functioning, *Biodiversity, ecosystem functioning, and human wellbeing: an ecological and economic perspective*. Oxford University Press. 134-147

Goodell, K., Elam, D.R., Nason, J.D & Ellstrand N.C. (1997) Gene flow among small populations of self-incompatible plant: an interaction between demography and genetics. *American Journal of Botany*, **84**, 1362-1371.

Goodman, R.E., Hefle, S.L., Taylor, S.L. & van Ree, R. (2005) Assessing Genetically Modified Crops to Minimize the Risk of Increased Food Allergy: A Review. *International Archives of Allergy and Immunology*, **137**, 153-166.

Goodman, R.E., Vieths, S., Sampson, H.A., Hill, D., Ebisawa, M., Taylor, S.L. & van Ree, R. (2008) Allergenicity assessment of genetically modified crops—what makes sense? *Nature Biotechnology*, **26**, 73-81.

Goulson, D. & Stout, J.C. (2001) Homing ability of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, **32**, 7.

Greenleaf, S., Williams, N., Winfree, R. & Kremen, C. (2007) Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia*, **153**, 589-596.

Guédot, C., Bosch, J. & Kemp, W.P. (2009) Relationship between body size and homing ability in the genus *Osmia* (Hymenoptera; Megachilidae). *Ecological Entomology*, **34**, 158-161.

Hall, L., Topinka, K., Huffman, J., Davis, L., & Good, A. (2009) Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science*, **48**, 688-694.

Halling-Sorensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Lutzhoft H.C., Jorgensen S.E. (1998) Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment. *Chemosphere,* **36**, 357-393.

Hamamoto H., Sugiyama Y., Nakagawa N., Hashida E., Matsunaga Y., Takemoto S. (1993) A new tobacco mosaic virus vector and its use for the systematic production of angiotensin-I-converting enzyme inhibitor in transgenic tobacco and tomatoe. *Bio/Technology,* **11***,* 930-932.

Haughton, A.J., Champion, G.T., Hawes, C., Heard, M.S., Brooks, D.R., Bohan D.A., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Osborne, J.L., Perry, J.N., Rothery, P., Roy, D.B., Scott, R.J., Woiwod, I.P., Birchall, M.P., Skellern, M.P., Walker, J.H., Baker, P., Browne, E.L., Dewar, A.J.G., Garner, B.H., Haylock, L.A., Horne, S.L., Mason, N.S., Sands, R.J.N., & Walker, M.J. (2003) Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide - tolerant and conventional spring crops. II. Within field epigeal and aerial arthropods. *Philosophical transactions of the Royal Society Biological Sciences*, **358**, 1863-1877.

Hayter, K.E. & Cresswell, J.E. (2006) The influence of pollinator abundance on the dynamics and efficiency of pollination in agricultural *Brassica napus*: implications for landscape-scale gene dispersal. *Journal of Applied Ecology*, **43**, 1196-1202.

Heard, M.S., Hawes, C., Champion, G.T., Clark, S.J., Firbank, L.G., Haughton, A.J., Parish, A.M., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Skellern, M.P., Squire, G.R. & Hill, M.O. (2003) Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. I. Effects on abundance and diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **358**, 1819–1832.

Henry, J.-P. & Gouyon, P.-H. (2003). Précis de génétique des populations. Paris: Dunod.
Herrera, C.M. & Pellmyr, O. (2002) Plant-animal interactions - An evolutionnary approach *Blackwell Science*, Malden.
Hilder, V.A., Gatehouse, A.M.R., Sheerman, S.E., Barker, R.F. & Boulter, D. (1987) A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature*, **330**, 160-163.
Hirao, A.S., Kameyama, Y., Ohara, M., Isagi, Y. & Kudo, G. (2006) Seasonal changes in pollinator activity influence pollen dispersal and seed production of the alpine shrub *Rhododendron aureum* (Ericaceae). *Molecular Ecology*, **15**, 1165-1173.
Holden, C (2006) Report warns of looming pollination crisis in North America. *Science* 314:397.
Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I., Kleijn, D., Tscharntke, T. (2007) Diversity of flower-visiting bees in cereal fields: effects of farming system, landscape composition and regional context. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 41–49.
Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I. & Tscharntke, T. (2008) Agricultural landscapes with organic crops support higher pollinator diversity. *Oikos*, **117**, 354-361.
Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I. & Tscharntke, T. (2010) How do landscape composition and configuration, organic farming and fallow strips affect the diversity of bees, wasps and their parasitoids? *Journal of Animal Ecology*, **79**, 491-500.
Hopwood, J.L. (2008) The contribution of roadside grassland restorations to native bee conservation. *Biological Conservation*, **141**, 2632-2640.
Hoyle, M., Hayter, K. & Cresswell, J.E. (2007) Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecological Applications*, **17**, 2123-2135.
Hoyle, M. & Cresswell, J.E. (2009) Maximum feasible distance of windborne cross-pollination in *Brassica napus*: A 'mass budget' model. *Ecological Modelling*, **220**, 1090-1097.
Husson, F. & Leterme, P. (1997) Construction et validation d'un modèle de prédiction de la date de floraison du colza d'hiver. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, **4**, 379-384.
Hyvonen, T., Ketoja, E. & Salonen, J. (2003) Changes in the abundance of weeds in spring cereal fields in Finland. *Weed Research*, **43**, 348-356.
James, C. (2007) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007, ISAAA Briefs No. 37, ISAAA, Ithaca, NY.
James, C. (2009) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2009. ISAAA Brief No. 41. ISAAA: Ithaca, NY.
James E.A., Wang C., Wang Z. (2000) Production and characterization of biologically active human GM-CSf secreted by genetically modified plant cells. *Protein Expr. Purif.,* **19**, 131-138.
Jank, B., Rath, J. & Gaugitsch, H. (2006) Co-existence of agricultural production systems. *Trends in Biotechnology*, **24**, 198-200.
Jauker, F. & Wolters, V. (2008) Hover flies are efficient pollinators of oilseed rape. *Oecologia*, **156**, 819-823.
Jha, S. & Dick, C.W. (2010) Native bees mediate long-distance pollen dispersal in a shade coffee landscape mosaic. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 13760 -13764.
Kearns, CA, Inouye DW, Waser NM (1998) Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review Ecology Systematic* **29**:83-112.
Kerlan, M.C., Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A. & Renard, M. (1992) Risk assessment of outcrossing of transgenic rapessed to related species. *Euphytica*, **62**, 145-153.
Kevan, P.G. & Baker, H.G. (1983) Insects as flower visitors and pollinators. *Annual Review of Entomology*, **28**, 407-453.

Kleem, M. (1996) Man-made bee habitats in the anrthropogenous landscape of Central Europe – substitutes for threatened or destroyed viverine habitats ? *in Conservation of bees, London*, Academic press, 17-34.

Kleijn, D. & Verbeek, M. (2000) Factors affecting the species composition of arable field boundary vegetation. *Journal of Applied Ecology*, **37**, 256-266.

Klein, A., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C. & Tscharntke, T. (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **274**, 303-313.

Klein, E.K., Lavigne, C., Foueillassar, X., Gouyon P-H. & Larédo, C. (2003) Corn pollen dispersal: quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecological Monographs*, **73**, 3323-3336.

Klein, E.K., Lavigne, C., Picault, H., Renard, M. & Gouyon, P. (2006) Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology*, **43**, 141-151.

Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M. & Steffan-Dewenter, I. (2010) Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecology Letters*, **13**, 597-605.

Kremen, C., Williams, N.M. & Thorp, R.W. (2002) Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 16812 -16816.

Kremen, C., Williams, N.M., Bugg, R.L., Fay, J.P. & Thorp, R.W. (2004) The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters*, **7**, 1109-1119.

Kremen, C., Williams, N.M., Aizen, M.A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., Packer, L., Potts, S.G., Roulston, T., Steffan-Dewenter, I., Vázquez, D.P., Winfree, R., Adams, L., Crone, E.E., Greenleaf, S.S., Keitt, T.H., Klein, A., Regetz, J. & Ricketts, T.H. (2007) Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*, **10**, 299-314.

Kuhn-Neto, B., Contrera, F.A., Castro, M.S. & Nieh, J.C. (2009) Long distance foraging and recruitment by a stingless bee, *Melipona mandacaia*. *Apidologie*, **40**, 472-480.

Kwak, M.M., Velterop, O. & Andel, J. (1998) Pollen and gene flow in fragmented habitats. *Applied Vegetation Science*, **1**, 37-54.

Larsen, T.H., Williams, N.M. & Kremen, C. (2005) Extinction order and altered community structure rapidly disrupt ecosystem functioning. *Ecology Letters*, **8**, 538-547.

Lavigne, C., Klein, E.K., Vallée, 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., Lecroart, B., Gauffreteau, A., Angevin, F. & Messean, 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 Coeur, D., Baudry, J., Burel, F. (1997) Field margins plant assemblages: variation partitioning between local and landscape factors, *Landscape and Urban Planning*, **37**, 51-71.

Le Féon, V. (2010) Insectes pollinisateurs dans les paysages agricoles : approche pluri-échelle du rôle des habitats semi-naturels, des pratiques agricoles et des cultures entomophiles. *Thèse de doctorat, Université Rennes 1*. 253 pp.

Le Féon, V., Schermann-Legionnet, A., Delettre, Y., Aviron, S., Billeter, R., Bugter, R., Hendrickx, F. & Burel, F. (2010) Intensification of agriculture, landscape composition and wild bee communities: A large scale study in four European countries. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **137**, 143-150.

Lemarié, S. (2001) Diffusion des OGM et impact pour les agriculteurs: quels sont les liens? *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, **8**, 204-210.

Levin, D.A., & Kerster, H.W. (1974) Gene flow in seed plants, *Evolutionary Biology*, **7**, 139-220.

Levin, D.A. (1981) Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **68**, 233-253.

Loublier, Y., Douault, P. & Pham-Delegue, M. (1986) Méthode de comptage automatique des grains de pollen ; étude de la production pollinique chez le tournesol (*Helianthus anus* L., Compositae). *Apidologie*, **17**, 12.

Lukoschus, F. S. (1957) Quantitative untersuchungen über den pollentransport im Haarkleid der Honigbiene**.** *Z. Bienenforsch*., **4**, 1-19.

Macior, L.W. (1994) Pollen-Foraging Dynamics of Subalpine Bumblebees (Bombus Latr.). *Plant Species Biology*, **9**, 99-106.

Manasse, R.S. (1992) Ecological risks of transgenic plants: effect of spatial dispersion on gene flow. *Ecological Applications*, **2**, 431-438.

Marshall, E.J.P., Moonen, A.C. (2002) Field margins in northern Europe: their functions and interactions with agriculture, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **89**, 5–21.

Matsumoto, S., Ikura, K., Ueda, M., Sasaki, R. (1995) Characterization of a human glycoprotein (erythropoietin) produced in cultured tobacco cells. *Plant Mol. Biol*., **27**, 1163-1172.

Meagher, T.R., Belanger, F.C. & Day, P.R. (2003) Using empirical data to model transgene dispersal. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **358**, 1157-1162.

Mesquida, J., Renard, M. (1982) Etude de la dispersion du pollen par le vent et de l'importance de la pollinisation anémophile chez le colza (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzger). *Apidologie*, **13**, 353.

Mesquida, J., Renard, M. (1989) Etude de l'aptitude à germer in vitro du pollen de colza (*Brassica napus* L.) récolté par l'abeille domestique (*Apis mellifica* L.). *Apidologie*, **20**, 197.

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 EUR 22102 EN, Institute for Prospective Technological Studies, European Commission Joint Research Centre, Seville, Spain. http://www.jrc.es/publications/pub.cfm?id=1345.

Messeguer, J., Peñas, G., Ballester, J., Bas, M., Serra, J., Salvia, J., Palaudelmàs, M. & Melé, E. (2006) Pollen-mediated gene flow in maize in real situations of coexistence, *Plant Biotechnology Journal*, **4**, 633-645.

Meunier, E. (2004) OGM aux Etats-Unis : quand l'administration ignore ses experts, le cas de la tomate FLAVR/SAVR. Inf'OGM, Hors Série 51, www.infogm.org.

Meynard, J.M. (1998) L'emploi des plantes transgéniques va-t-il obliger les agriculteurs à modifier leurs pratiques?, in Organismes génétiquement modifiés à l'Inra : environnement, agriculture *et al*imentation, Paris, INRA Éditions, 34-37. http://www.inra.fr/internet/Directions/DIC/ACTUALITES/DOSSIERS/OGM/meynar.htm

Michener, C.D. (1944) Comparative external morphology, phylogeny, and classification of the bees (Hymenoptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 82: 1-326.

Michener, C.D. (2000) The bees of the world. JHU Press.

Michez, D., Patiny, S. (2005) World revision of the oil-collecting bee genus *Macropis* Panzer 1809 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae) with a description of a new species from Laos. *Annales de la Société entomologique de France*, **41**, 15- 28.

Michez, D. (2007) La nouvelle classification des abeilles (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes) ou la chute de l'abeille mellifère (*Apis mellifera* L.) de son piédestal, *Osmia*, 1, 23–26

Middendorf L.R., Bruce J.C., Bruce R.C. (1992) Continuous, on-line DNA sequencing using a versatile infrared laser scanner/ electrophoresis apparatus. *Electrophoresis*, **13**, 487–494.

Morandin, L.A. & Winston, M.L. (2005) Wild bee abundance and seed production in conventional, organic, and genetically modified canola. *Ecological Applications*, **15**, 871-881.

Morandin, L.A., Winston, M.L., Abbott, V.A. & Franklin, M.T. (2007) Can pastureland increase wild bee abundance in agriculturally intense areas? *Basic and Applied Ecology*, **8**, 117-124.

Morère, J., Pujol, R. & Collectif. (2002) *Dictionnaire raisonné de biologie*. Editions Frison-Roche.

Myers, N. (1996) Environmental services of biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**, 2764-2769

Naeem, S., Loreau, M., Inchausti, P. (2002) Biodiversity and ecosystem functioning: the emergence of a synthetic ecological framework. In: *Biodiversity and ecosystem functioning, synthesis and perspectives* (Loreau M, Naeem S, Inchausti P eds.) Oxford university press, Oxford

Nagelkerke, N. (1991) A note on a general definition of the coefficient of determination, *Biometrika*, **78**, 691–692.

Nakayama, Y. & Yamaguchi, H. (2002). Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management,* **2**, 189-196.

Nathan, R., Schurr, F., Spiegel, O., Steinitz, O., Trakhtenbrot, A. & Tsoar, A. (2008) Mechanisms of long-distance seed dispersal. *Trends in Ecology & Evolution*, **23**, 638-647.

Nei, M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **70**, 3321 -3323

Nieuwstadt, M.V., Iraheta, C.R. & van Nieuwstadt. (1996) Relation between size and foraging range in stingless bees (Apidae, Meliponinae). *Apidologie*, **27**, 10.

Ohashi, K. & Thomson, J.D. (2009) Trapline foraging by pollinators: its ontogeny, economics and possible consequences for plants. *Annals of Botany*, **103**, 1365-1378.

Osborne, J.L., Clark, S.J., Morris, R.J., Williams, I.H., Riley, J.R., Smith, A.D., Reynolds, D.R. & Edwards, A.S. (1999) A landscape-scale study of bumble bee foraging range and constancy, using harmonic radar. *Journal of Applied Ecology*, **36**, 519-533.

Osborne, J.L., Martin, A.P., Shortall, C.R., Todd, A.D., Goulson, D., Knight, M.E., Hale, R.J. & Sanderson, R.A. (2007) Quantifying and comparing bumblebee nest densities in gardens and countryside habitats. *Journal of Applied Ecology*, **45**, 784-792.

Osborne, J.L., Martin, A.P., Carreck, N.L., Swain, J.L., Knight, M.E., Goulson, D., Hale, R.J. & Sanderson, R.A. (2008) Bumblebee flight distances in relation to the forage landscape. *The Journal of Animal Ecology*, **77**, 406-415.

Ouborg, N.J., Piquot, Y. & Van Groenendael, J.M. (1999) Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *Journal of Ecology*, **87**, 551-568.

Pasquet, R.S., Peltier, A., Hufford, M.B., Oudin, E., Saulnier, J., Paul, L., Knudsen, J.T., Herren, H.R. & Gepts, P. (2008) Long-distance pollen flow assessment through evaluation of pollinator foraging range suggests transgene escape distances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 13456-13461.

Paul, E.M., Capiau, K., Jacobs, M. & Dunwell, J.M. (1995) A Study of gene dispersal via pollen in Nicotiana tabacum using introduced genetic markers. *Journal of Applied Ecology*, **32**, 875-882.

Pekkarinen, A. (1998) Oligolectic bee species in Northern Europe (Hymenoptera, Apoidea). *Entomologica Fennica*, **8**, 205–214

Pessel, F. D., & Lecomte, J. (2000) Vers une comprehension de la dynamique des populations de colza "échappées" des cultures à l'échelle régionale. *Oléagineux Corps gras, Lipides*, **7**, 324-328.

Pessel, D., Lecomte, J., Emeriau, V., Krouti, M., Messean, A. & Gouyon, P.H. (2001) Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, **102**, 841-846.

Pesson, P. & Louveaux, J. (1984) Pollinisation et productions végétales. Editions Quae.

Petanidou, T. & Ellis, W.N. (1993) Pollinating fauna of a Phryganic ecosystem: composition and diversity. *Biodiversity Letters*, **1**, 9-22.

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 the honey bees (*Apis mellifera*). *Plant Breeding*, **115**, 484-487

Pierre, J., Vaissière, B., Vallee, P. & Renard, M. (2002) Mise en suspension du pollen par les abeilles et incidences de ce pollen sur la fécondation. Séminaire de restitution des résultats de l'AIP "OGM et Environnement", GEVES-INRA, Ed. Quae, Paris, France.

Pivard, S. (2006) Processus écologiques impliqués dans la présence d'une plante cultivée dans les milieux naturels et semi-naturels d'un agroécosystème : cas des populations férales de colza (*Brassica napus* L.). Thèse de Docotrat, Université Paris, Orsay, 191p.

Pivard, S., Adamczyk, K., Lecomte, J., Lavigne, C., Bouvier, A., Deville, A., Gouyon, P.-H., & Huet, S. (2007) 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

Pivard, S., Demšar, D., Lecomte, J., Debeljak, M., Džeroski, S. (2008) Characterizing the presence of oilseed rape feral populations on field margins using machine learning, *Ecological Modelling*, **212**, 147-154.

Pline, W.A., Edmisten, K.L., Oliver, T., Wilcut, J.W., Wells, R. & Allen, N.S. (2002) Use of digital image analysis, viability stains, and germination assays to estimate conventional and glyphosate-resistant cotton pollen viability. *Crop Science*, **42**, 2193.

Poirel, E. (2008) Pratiques agricoles dans un paysage ouvert : impacts sur les communautés gégétales et les populations d'insectes pollinsateurs. Mémoire de Master 2, Université Paris-Sud 11, 200p.

Poinsot, D. (2005) R pour les statophobes, p.36, http://perso.univ-rennes1.fr/denis.poinsot.

Potts, S.G., Vulliamy, B., Dafni, A., Ne'eman, G. & Willmer, P. (2003) Linking bees and flowers : how do floral communities structure pollinator communities ? *Ecology*, **84**, 2628-2642.

Potts, S.G., Vulliamy, B., Roberts, S., O'Toole, C., Dafni, A., Ne'eman, G. & Willmer, P. (2005) Role of nesting resources in organising diverse bee communities in a Mediterranean landscape. *Ecological Entomology*, **30**, 78-85.

Primack, R.B. & Silander, J.A. (1975) Measuring the relative importance of different pollinators to plants. *Nature*, **255**, 143-144.

Putten, M.V., Kleter, G., Gilissen, L., Gremmen, B., Wichers, H. & Frewer, L. (2010) Novel foods and allergy: Regulations and risk-benefit assessment. Food Control, In Press, Corrected Proof.

Ramessar, K., Capell, T., Twyman, R.M. & Christou, P. (2010) Going to ridiculous lengths - European coexistence regulations for GM crops. *Nature Biotechnology*, **28**, 133-136.

Ramsay, G., Thompson, C.E., Neilson, S. & Mackay, G.R. (1999) Honeybees as vectors of GM oilseed rape pollen. *in Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops. BCPC Symposium Proceedings*, **72**, 209-214

Ramsay, G., Thomson, C. & Squire, G. (2003) Quantifying landscape-scale gene flow in oilseed rape (Defra project RG0216 final report). Department for Environment, Food, and Rural Affairs, London, UK.

Rands, M.R.W. (1986) Effect of Hedgerow Characteristics on Partridge Breeding Densities. *Journal of Applied Ecology*, **23**, 479-487.

Rasmont, P., Ebmer, P.A., Banaszak J. & van der Zanden, G. (1995) Hymenoptera Apoidea Gallica. Liste taxonomique des abeilles de France, de Belgique, de Suisse et du Grand-Duché de Luxembourg. *Bulletin de la Société entomologique de France*, **100** (hors série):1-98.

Raybould, A.F., Clarke, R.T., Bond, J.M., Welters, R.E. & Gliddon, C. (2002). Inferring patterns of dispersal from allele frequency data. In: Bullock, J.M., Kenward, R.E. & Hails, R.S. (2002) *Dispersal Ecology: 42nd Symposium of the British Ecological Society*. Cambridge University Press.

Raymond, M. & Rousset, F. (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248-249.

Raynor, G.S., Ogden, E.C. & Hayes, J.V. (1971) Dispersion and deposition of timothy pollen from experimental sources. *Agricultural Meteorology*, **9**, 347-366.

Rérat B. (2003) OGM et santé, rapport bi-académique, *Académie nationale de médecine, Académie nationale de pharmacie,* Libriaire dialogue (Brest).

Richter L.J., Thanavala Y., Arntzen C.J., Mason H.S. (2000) Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nat. Biotechnol.,* **18**, 1167-1171.

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.

Risser, G., & Rode, J. C. (1984). Use of n-pentane for mixing melon pollen. *Cucurbit Genetics and Crops*, **7**, 54–55.

Robert, S. (2010) Information sheet *in* Bees, Wasps & Ants Recording Society, www.bwars.com

Rodet, G. (2010). Les mutualismes entre insectes et plantes, des ennemis réconciliés. In *Des insectes et des plantes* (ed D. Thiery, Calatayud, P.A., Sauvion, N., Marion-Poll, F.) (sous presse).

Saleh, N. & Chittka, L. (2006) Traplining in bumblebees (*Bombus impatiens*): a foraging strategy's ontogeny and the importance of spatial reference memory in short-range foraging. *Oecologia*, **151**, 719-730.

Sanvido O., Romeis J. & Bigler F. (2007) Ecological impacts ofgenetically modified crops: ten years of field research and commercial cultivation. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology,* **107**, 235–278

Sarthou, J.P. (1996) Contribution a l'étude systématique, biogéographique et agroécocénotique des Syrphidae (Insecta, Dipt.) du sud-ouest de la France. Thèse de Doctorat de l'institut National Polytechnique de Toulouse, 250 p.

Shuler, R.E., Roulston, T.H. & Farris, G.E. (2005) Farming practices influence wild pollinator populations on squash and pumpkin. *Journal of Economic Entomology*, **98**, 790-795.

Sijmons P.C., Dekker B.M., Schrammeijer B., Verwoerd T .C., van den Elzen P.J., Hoekema A. (1990) Production of correctly processed serum albumin in transgenic plants. *Bio/Technology,* **8,** 217-221.

Steffan-Dewenter I, Tscharntke T (1999) Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia* **121**:432-440

Steffan-Dewenter, I. & Tscharntke, T. (2001) Succession of bee communities on fallows. *Ecography*, **24**, 83-93.

Steffan-Dewenter, I., Münzenberg, U., Bürger, C., Thies, C. & Tscharntke, T. (2002) Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology*, **83**, 1421-1432.

Steffan-Dewenter, I., Westphal, C., (2008) The interplay of pollinator diversity, pollination services and landscape change. *Journal of Applied Ecology*, **45**, 737–741.

Steiner U.P. (2000) Assessment of the economics of transgenic technologies for biologicals, Bayer Biotechnology, Bayer Corp., communication dans le cadre du congrès Production and economics of biopharmaceuticals. CA, 13-15 janvier 2000.

Stone, J.L., Thomson, J.D. & Dent-Acosta, S.J. (1995) Assessment of Pollen Viability in Hand-Pollination Experiments: A Review. *American Journal of Botany*, **82**, 1186-1197.

Stubbs, A.E. & Falk, S.J. (2002) British hoverflies, in Brisih Entomological and Natural History Society 2nd edn, London, 469p.

Sork, V.L., Nason, J., Campbell, D.R. & Fernandez, J.F. (1999) Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, **14**, 219-224.

Sork, V. L., Davis, F. W., Smouse, P. E., Apsit, V. J., Dyer, R. J., Fernandez, J. F., & Kuhn, B. (2002) Pollen movement in declining populations of california valley oak, quercus lobata : where have all the fathers gone ? *Molecular Ecology*, **11**, 1657–1668.

Spielman, D., Brook, B. W. & Frankham, R. (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 15261–15264.

Szabo TI & Smith MV. (1972) The influence of light intensity and temperature on the activity of the alfalfa leaf-cutter bee *Megachile rotundata* under field conditions. *Journal of Apicultural Research*, **11**, 157-165.

Taséi, J.N. (1977) Observation sur le colza d'hiver : floraison, sécrétions nectarifères, visite par les abeilles. *Bulletin technique Apicole*, **4**, 9-16.

Taylor, S.L. (1997) Food from genetically modified organisms and potential for food allergy. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **4**, 121-126.

Tesoriero, D., Maccagnani, B., Santi, F., Celli, G., (2003) Toxicity of three pesticides on larval instars of *Osmia cornuta*: preliminary results. *Bulletin of Insectology*, **56**, 169–171.

The Royal Society, (2002). « Genetically modified plants for food use and human health - an update », Février 2002.

Thomson, J.D., Peterson, S.C. & Harder, L.D. (1987) Response of traplining bumble bees to competition experiments: shifts in feeding location and efficiency. *Oecologia*, **71**, 295-300.

Thomson, J.D. (1996) Trapline foraging by bumblebees: I. Persistence of flight-path geometry. *Behavioral Ecology*, **7**, 158 -164.

Thorp, R.W. (1979) Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **66**, 788-812.

Timmons, A., O'Brien, E., Charters, Y., Dubbels, S. & Wilkinson, M. (1995) Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica*, **85**, 417-423.

Tonsor, S.J. (1985) Leptokurtic pollen-flow, non-leptokurtic gene-flow in a wind-pollinated herb, *Plantago lanceolata* L. *Oecologia*, **67**, 442–446.

Tufto, J., Engen, S. & Hindar, K. (1997) Stochastic dispersal processes in plant populations. *Theoretical Population Biology*, **52**, 16-26.

Vaissière BE, Merritt SJ, Keim DL (1985) Melissodes Thelypodii cockerell (Hymenoptera Anthophoridae), an effective pollinator of hybrid cotton on the Texas high plains. *Proceedings, Belt-. wide Cotton Production Research Conference* 398

Vaisière, B.E., Torre Grossa, J.P., Rodet, G., & Malaboeuf F. (1994) Sociality and pollen flow : direct évidence for effective in-hive pollen transfer, *12ème Congress of the International Union for the Study of Social Insects IUSSI, Paris, Sorbonne, 21-27 août 1994*, p.290.

Vandekerckhove, J. (1989) Enkephalines produced in transgenic plants using modified 2S storage proteins. *Bio/Technology,* **7***,* 929-932 .

Van Rossum, F., Bonnin, I., Fénart, S., Pauwels, M., Petit, D. & Saumitou-Laprade, P. (2004) Spatial genetic structure within a metallicolous population of *Arabidopsis halleri*, a clonal, self-incompatible and heavy-metal-tolerant species. *Molecular Ecology*, **13**, 2959-2967.

Van Rossum, F. (2009) Reproductive success and pollen dispersal in urban populations of an insect-pollinated hay-meadow herb. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*.

Vekemans, X. & Hardy, O. J. (2004) New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, **13**, 921-935.

Velde, M.V.D., Bouraoui, F. & Aloe, A. (2009) Pan-European regional-scale modelling of water and N efficiencies of rapeseed cultivation for biodiesel production. *Global Change Biology*, **15**, 24-37.

Velthuis HHW, van Doorn A (2006) A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie* **37**:421-451

Vicens N, Bosch J (2000) Weather-dependent pollinator activity in an apple orchard, with special reference to *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae and Apidae). *Environmental Entomology,* **29**, 413–420

Walklate, P.J., Hunt, J.C.R., Higson, H.L. & Sweet, J.B. (2004) A model of pollen-mediated gene flow for oilseed rape. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **271**, 441–449.

Walther-Hellwig, K. & Frankl, R. (2000) Foraging distances of *Bombus muscorum*, *Bombus lapidarius*, and *Bombus terrestris* (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Insect Behavior*, **13**, 239-246.

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.

Westphal, C., Steffan-Dewenter, I. & Tscharntke, T. (2003) Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. *Ecology Letters*, **6**, 961-965.

Westphal, C., Bommarco, R., Carré, G., Lamborn, E., Morison, N., Petanidou, T., Potts, S.G., Roberts, S.P.M., Szentgyörgyi, H., Tscheulin, T., Vaissière, B.E., Woyciechowski, M., Biesmeijer, J.C., Kunin, W.E., Settele, J. & Steffan-Dewenter, I. (2008) Measuring bee diversity in different European habitats and biogeographical regions. *Ecological Monographs*, **78**, 653-671.

Westrich, P. (1996) Habitat requirements of central European bees and problems of partial habitats. The conservation of bees A. Matheson, S.L. Buchmann, C. O'Toole, P. Westrich & I.H. Williams), pp. 1–16. Academic Press, London.

Wilcock C, Neiland R (2002) Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science* **7**:270-277

Wilson, P. & Stine, M. (1996) Floral constancy in bumble bees: handling efficiency or perceptual conditioning? *Oecologia*, **106**, 493-499.

Wolf, S. & Moritz, R.F. (2008) Foraging distance in *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, **39**, 419.

Wright, S. (1943), Isolation by distance. *Genetics*, **28**, 114-138.

Wright, S. (1946) Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics*, **31**, 39-59.

Zhang W, Ricketts TH, Kremen C, Carney K, Swinton SM (2007) Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Ecological Economics* **64**:253-260

Zhong G.Y., Peterson D.J., Delaney D., Bailey M., Witcher D.R., Register J.C. (1999) Commercial production of aprotinin in transgenic maize seeds. *Mol. Breeding,* **5***,* 345-356.

Zurbuchen, A., Landert, L., Klaiber, J., Müller, A., Hein, S. & Dorn, S. (2010) Maximum foraging ranges in solitary bees: only few individuals have the capability to cover long foraging distances. *Biological Conservation*, **143**, 669-676.

ANNEXE 1 : CARTOGRAPHIE DU SITE DE SELOMMES

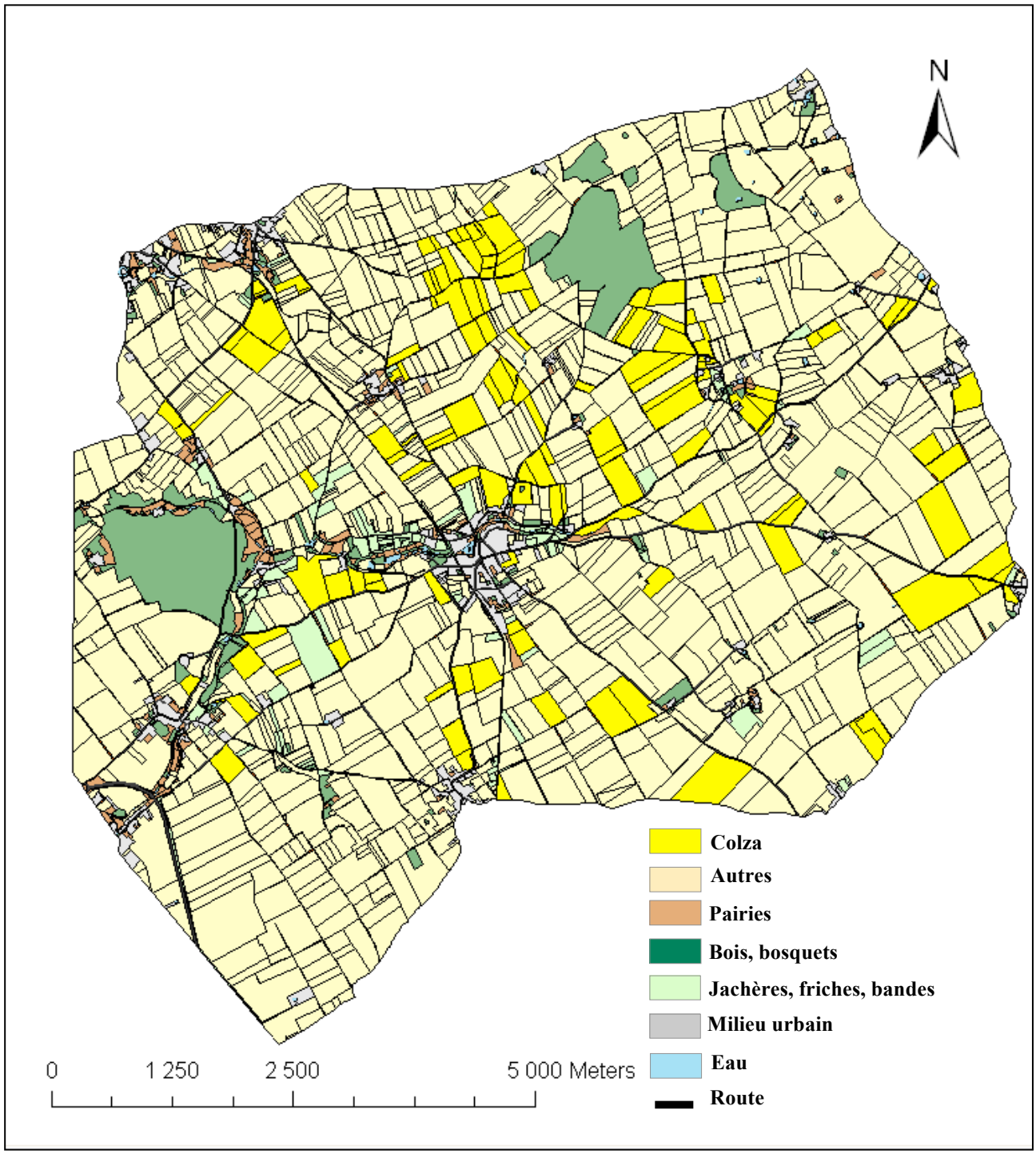


Figure 53. Occupation du sol sur le site de Selommes en 2007.

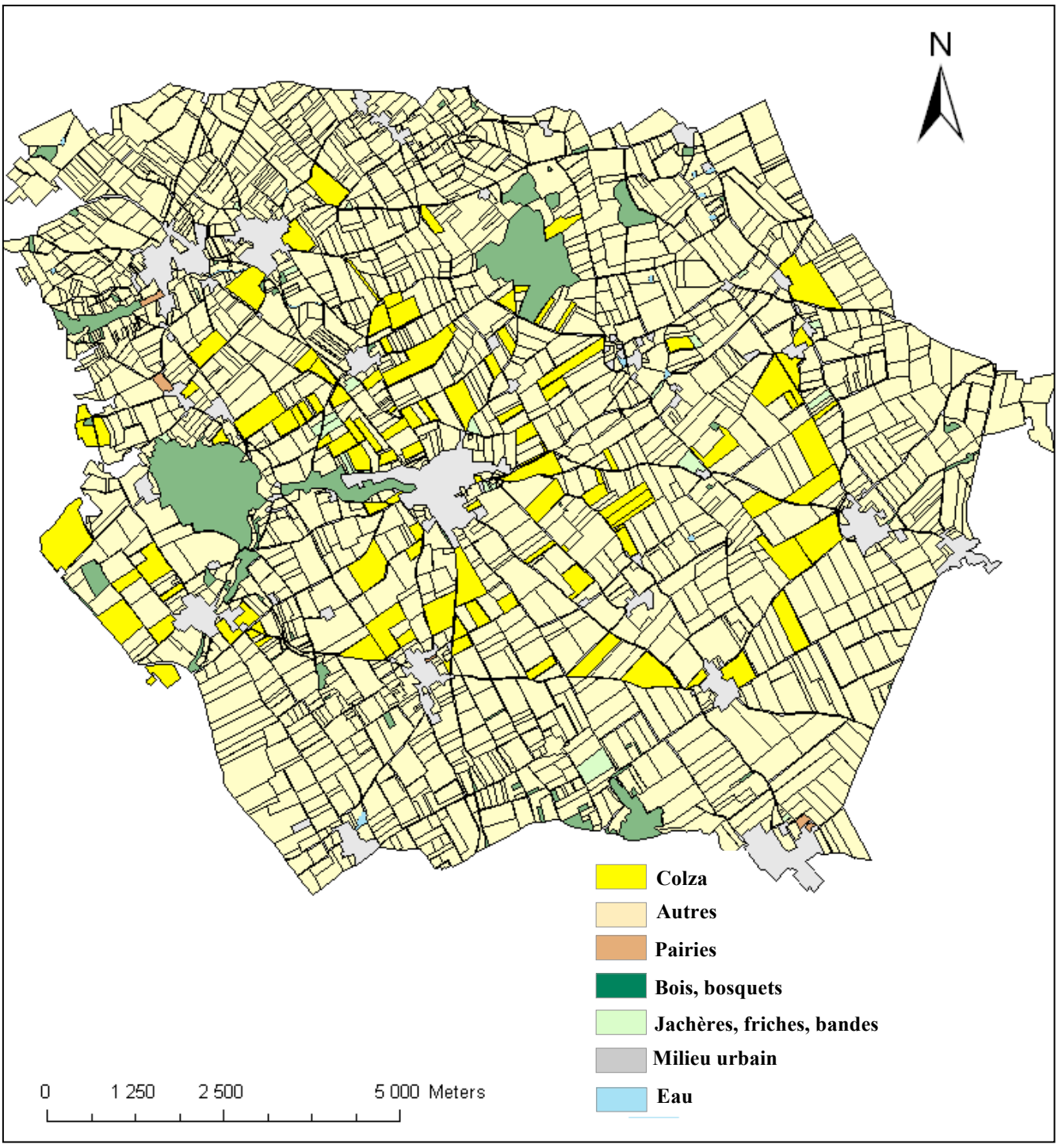


Figure 54. Occupation du sol sur le site de Selommes en 2008.

ANNEXE 2 : CARTOGRAPHIE DU SITE DE PLEINE-FOUGERES

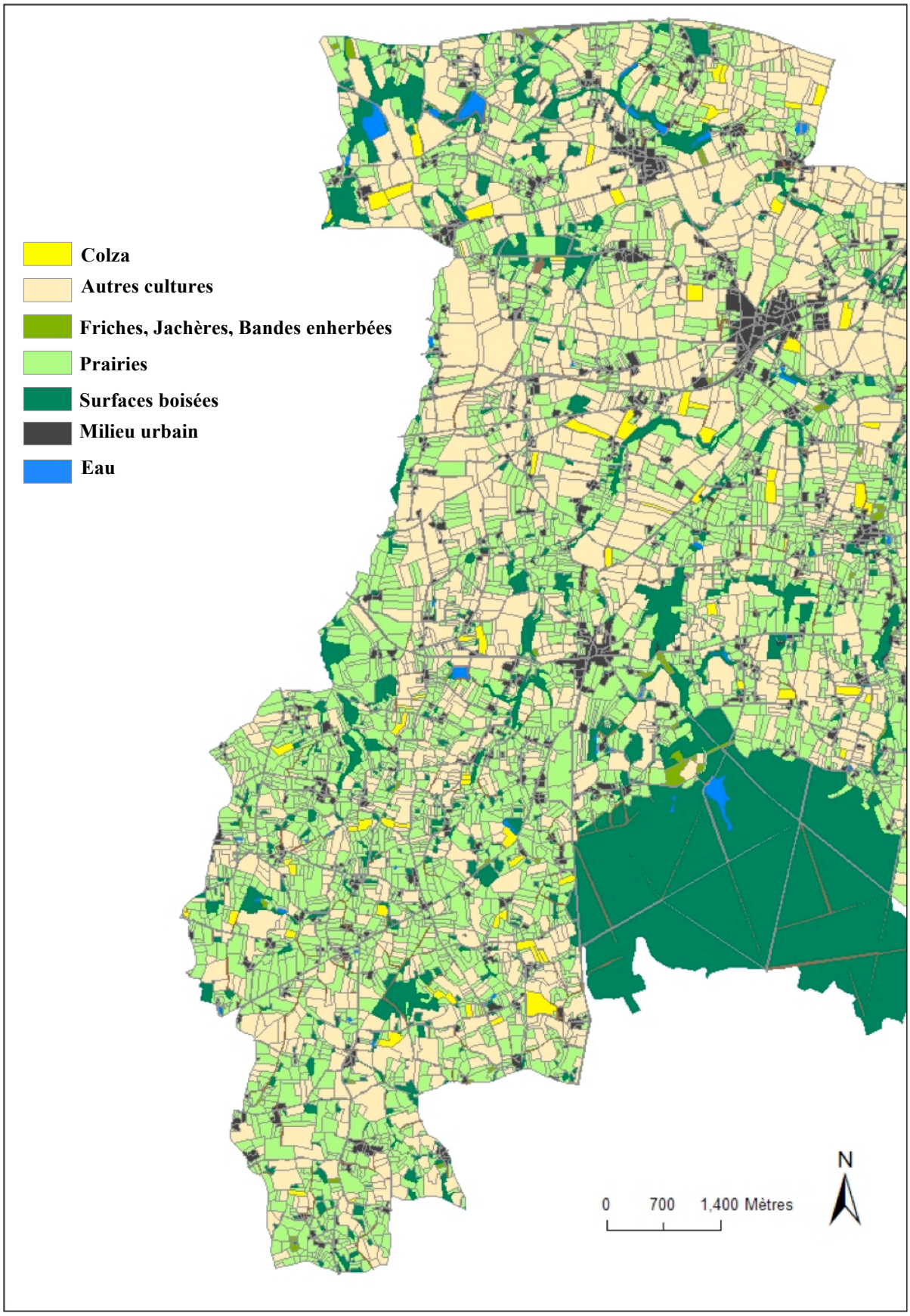


Figure 55. Occupation du sol sur le site de Pleine-Fougères en 2007.

ANNEXE 3 : SPATIAL SCALE OF INSECT-MEDIATED POLLEN DISPERSAL IN OILSEED RAPE IN AN OPEN AGRICULTURAL LANDSCAPE

Journal of Applied Ecology

British Ecological Society

Journal of Applied Ecology doi: 10.1111/j.1365-2664.2010.01904.x

Spatial scale of insect-mediated pollen dispersal in oilseed rape in an open agricultural landscape

Rémy Chifflet[1,2]*, Etienne K. Klein[3], Claire Lavigne[4], Violette Le Féon[5], Agnès E. Ricroch[6], Jane Lecomte[6] and Bernard E. Vaissière[1,2]

[1]INRA, UMR 406 Abeilles et Environnement, 84000 Avignon, France; [2]Université d'Avignon et Pays de Vaucluse, UMR 406 Abeilles et Environnement, 84000 Avignon, France; [3]INRA, UR 546, Biostatistique et Processus Spatiaux, 84000 Avignon, France; [4]INRA, UR 1115, Plantes et Systèmes de culture Horticoles, 84000 Avignon, France; [5]CNRS-UMR Ecobio 6553, Centre Armoricain de Recherches en Environnement, Université de Rennes 1, Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France; and [6]Université Paris-Sud 11, UMR8079, Orsay F-91405, France; CNRS, Orsay F-91405, France; AgroParisTech, Paris F-75231, France

Summary

1. Interest in pollen-borne gene dispersal has grown with the cultivation of genetically modified plants. To date, both experimental data and models of oilseed rape (OSR) *Brassica napus* pollen movement at the landscape scale do not clearly differentiate between wind- and insect-mediated dispersal. Estimations of insect-mediated gene dispersal would be valuable for managing potential escapes of transgenes.

2. To quantify the intensity and spatial scale of pollen dispersal by insect pollinators in an agricultural landscape, bait points made of flowering male-sterile OSR that attract OSR pollinators were located at six distances (10–1100 m) from the closest OSR fields and feral populations. Flower-visiting insects were caught by net on these male-sterile flowers and were rubbed onto the stigmas of male-sterile OSR plants grown in a pollen-proof greenhouse to do a manual pollination of their flowers. In this way we were able to assess the insects' OSR pollen load and seed production at each of the six distances.

3. A large diversity of insects carried OSR pollen and contributed to seed production, but not pollen beetles *Meligethes aeneus*. Logistic regression analyses of the seed-set success from the manual pollination demonstrated that seed set significantly increased with the proximity of OSR fields, the size of the pollinating insect, and the main daily temperature. Seed set was not affected by the pollinating insect's order or genus. Seed set, both observed and predicted by the model, was above zero for flowers pollinated with large bees caught at > 1100 m from the nearest OSR field.

4. *Synthesis and applications*. Our study provides clear evidence that a large variety of insect species can transfer viable pollen between OSR plants over considerable distances. However, only 3·4% of the insects caught on male-sterile flowers carried OSR pollen. Our results provide valuable data to improve models of pollen dispersal for entomophilous crops at the landscape scale. These models are essential to help land-managers reduce pollen-borne gene dispersal from genetically modified plants to wild and cultivated relatives.

Key-words: apiformes, bees, *Brassica napus*, diptera, insect diversity, insect size, pollen dispersal, pollen flow, seed-set success, Syrphidae

Introduction

Gene flow has been studied extensively in the context of the evolution and conservation genetics of flowering plants (Sork *et al.* 1999). Historical rates of gene flow are frequently inferred indirectly from population genetic structure (Raybould *et al.* 2002). Contemporary gene flow may be estimated directly by measuring the distances moved by pollinators between flower visits, or by tracking the movement of pollen or seeds (Sork *et al.* 1999).

Interest in pollen-borne gene dispersal has grown with the cultivation of genetically modified (GM) plants. The world area planted in GM oilseed rape (OSR) *Brassica napus* (L.)

*Correspondence author. E-mail: chifflet@avignon.inra.fr

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society

was 6·4 million hectares in 2009 (James 2009), and its cultivation could have a significant impact on the environment through unregulated gene flow (Dale, Clarke & Fontes 2002; Sanvido, Romeis & Bigler 2007). This could lead to (i) hybrids and backcrosses between OSR and weedy relatives being released into the environment (e.g. Chèvre *et al.* 2007) and (ii) hybridization and persistent seed banks causing problems for coexistence between GM and conventional OSR. Currently, practical measures such as isolation distances, voluntary clustering of fields, and delayed sowing dates are used to maximize the reproductive isolation of non-GM crops (e.g. Jank, Rath & Gaugitsch 2006).

Oilseed rape is a partially self-pollinating species. The selfing rate depends both on the cultivar and the environment but is usually > 50% (Becker, Damgaard & Karlsson 1992). Studies measuring gene flow via pollen from a single OSR field produced an L-shaped pollen dispersal curve: most dispersal events occur near the pollen source at distances up to ca. 50 m (Manasse 1992; Lavigne *et al.* 1998; Cai *et al.* 2008), and the frequency of dispersal events decreased slowly thereafter (Klein *et al.* 2006). Studies of a larger number of OSR fields at the landscape scale reported long-distance dispersal: 13% of sampled seeds had their nearest compatible site more than 1000 m away (Devaux *et al.* 2005) and up to 0·05% or 0·1% gene flow via pollen was reported between OSR fields separated by 2500 m (Rieger *et al.* 2002). Furthermore, a fat-tailed model best explained bumblebee, *Bombus* spp., pollen dispersal (Cresswell, Osborne & Bell 2002).

Insect and airborne pollen dispersal are probably not independent from each other (Pierre *et al.* 2010). OSR pollen is dispersed both by wind and insects, although their relative contributions to gene-flow are still debated, especially over long distances (Mesquida & Renard 1982; Ramsay, Thompson & Squire 2003; Cresswell 2008). It has been suggested that wind pollination is important when insect pollinators are scarce (Hoyle, Hayter & Cresswell 2007). The wind component of pollen dispersal has been modelled at both local and landscape scales (Walklate *et al.* 2004; Hoyle & Cresswell 2009). One such model predicts that the minimum distance between GM and conventional *B. napus* fields should be 1000 m to ensure a level of transgene adventitious presence in conventional fields below the EU 0·9% threshold (Hoyle & Cresswell 2009). This is consistent with landscape scale gene-flow data (Cresswell, Osborne & Bell 2002; Ramsay, Thompson & Squire 2003; Devaux *et al.* 2005; Cai *et al.* 2008) and Timmons *et al.* (1995) report of airborne OSR pollen grains 1·5 km away from source fields in numbers high enough to permit the production of seeds on emasculated plants with petals removed. Pierre *et al.* (1996) criticized this work, suggesting that the use of apetalous flowers does not rule out insect pollination.

Few studies have addressed the insect component of pollen dispersal and have empirically determined its spatial extent. Using molecular techniques on pollen trapped at hive entrances, Ramsay *et al.* (1999) showed that honeybee *Apis mellifera* L. colonies foraged up to 2 km, and in some circumstances up to 4 km. In addition they used honeybees from a hive near a field of GM OSR to hand-pollinate male-sterile (MS) OSR flowers. Pollen found on the body hair of these honeybees came from both GM and non-GM OSR, indicating either recent switching between these crops, or bee-to-bee contact within the hive as major means of effective pollen dispersal throughout the foraging area of the colony.

Several studies have measured the distances travelled by pollinators between successive flower visits to indirectly quantify pollen flow, especially with bees (Osborne *et al.* 1999; Beil, Horn & Schwabe 2008; Pasquet *et al.* 2008). The foraging range of bees (Apiformes) varies considerably among species as well as between individual workers in social species like bumblebees (*Bombus* spp.; Walther-Hellwig & Frankl 2000). In particular the flight range is linked to the body size of bees both among species (e.g. Zurbuchen *et al.* 2010) and within species in social bees (Kuhn-Neto *et al.* 2009).

Different experimental methods have been used to assess the maximum foraging range of insect pollinators and provide information on the spatial scale of insect-borne pollen flow (harmonic radar, Osborne *et al.* 1999; analyses on pollen loads, Beil, Horn & Schwabe 2008; radio-tracking of individual bees, Pasquet *et al.* 2008; experimental transect setting, Wolf & Moritz 2008; feeders, Kuhn-Neto *et al.* 2009). Yet, none of these methods provides enough information to infer the spatial scale of the effective gene flow that results from this foraging because they do not consider the amount of pollen transported by the insect, the viability of this pollen, or the pollen deposition onto the stigma.

Although most studies have focused on bees, other insects could also play a role in long-distance effective pollen dispersal. Ramsay, Thompson & Squire (2003) recorded the presence of pollen beetles *Meligethes aeneus* (Fabricius) on OSR plants at 26 km from the nearest OSR field and suggested that these insects might play a role in pollen dispersal. Among dipterans, the most important family of flower visitors is the Syrphidae or hoverflies: the very common and abundant hoverfly *Episyrphus balteatus* (DeGeer) is an effective pollinator of OSR (Jauker & Wolters 2008). The foraging span of syrphid flies is mostly unknown, however.

Good estimations of the spatial scale of pollen-borne gene dispersal and a better understanding of the underlying mechanisms would be valuable for managing potential escapes of transgenes to feral plant populations and populations of wild relatives as well as for establishing recommendations for isolation distances that would minimize effective pollen flow between fields (Meagher, Belanger & Day 2003). The objectives of our study were (i) to assess the spatial scale of insect-borne pollen dispersal in an open agricultural landscape, and (ii) to determine the factors that affect it using OSR as a model. In particular, we hypothesized that pollen dispersal would be affected by the type of pollinating insect (taxonomic status) and the environment (weather and OSR flowering stage), and that it would increase with insect size and decrease with distance from the pollen source.

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society, *Journal of Applied Ecology*

Materials and methods

STUDY SITE AND EXPERIMENTAL DESIGN

The experiment was conducted in 2008 around the village of Selommes (47°45′1″ N lat., 1°11′8″ E long., 120 m altitude; Loir-et-Cher, France; Pessel *et al.* 2001) in a 10 × 10 km study site within a large area of open agricultural landscape planted with conventional winter-sown cultivars of *B. napus*. All 98 OSR fields were mapped in January. At the onset of OSR flowering we set up bait points consisting of four flowering MS OSR plants at different distances from the nearest OSR fields. Six such points were set up following a roughly exponential scale of increasing distance from the nearest OSR field (10, 20, 55, 150, 400 and 1100 m; Fig. 1) using ArcView (Version 9·1; ESRI, Redlands, CA, USA). When possible, we favoured points that were at the same distance from several near-by fields. All OSR feral populations along roads and dirt tracks were also mapped twice during the season, once in mid-April during rape flowering and once in June (method in Pivard *et al.* 2008).

INSECT CAPTURE AND MANUAL INSECT POLLINATION

Insects were caught with a bug net during their visit to MS OSR bait plants, which ensured a dietary preference for OSR, but prevented the accumulation of further OSR pollen. The insects were anaesthetized with CO_2 and preserved individually at 6 °C in a glass tube (see Appendix S1 in Supporting Information). At each bait point we caught all insects visiting flowers during periods of 30 min chosen randomly between 10·00 and 17·00 h. Sampling was only undertaken when the weather was favourable for bee activity (temperature > 12 °C, wind speed ≤5 m s^{-1}, no precipitation and dry vegetation; Westphal *et al.* 2008). We caught insects at all bait points on five separate days from the beginning to the peak of flowering of most fields (3, 11, 15, 25 April and 6 May) and we tried to catch the same number of insects at all bait points. Rainfall, mean daily temperature and wind speed were available from a national weather station located at Selommes. The level of flowering of OSR fields was characterized at four dates (4, 16, 26 April and 7 May). We randomly selected and tagged 24 plants in 16 randomly selected fields and recorded the number of open flowers.

To estimate pollinating success of captured insects, each one was rubbed onto the stigma (manual insect pollination) of a male-sterile OSR plant (cultivar Yudal). These plants were grown in a pollen-proof greenhouse at Université Paris-Sud (Orsay, Essonne, France) ca. 150 km away from the bait points. Manual insect pollination took place 3–6 h after the last insect capture on each day. For each insect at least five MS flowers were pollinated and pollination continued until all the pollen on the insect body visible under a magnifying lens had disappeared. Pollen beetles were an exception: due to their very small size only a single flower was pollinated with each individual. We hand pollinated a single flower per plant on each date to maximize seed set. Flowers were bagged individually after pollination and tagged with the insect code. Pods were collected at maturity and seeds were counted.

Each insect was identified to the species level (except for two sphecid wasps) and the distance between its tegulae (points of wing insertion) was measured with a micrometer. This distance referred to as the inter-tegular span (IT span) was used as a measure of insect size because it is well correlated with the flight range for bees (Cane 1987).

STATISTICAL ANALYSIS

Seed-set success is a binary variable stating whether an insect produced any seed over all the manual pollinations conducted using pollen from its body. Seed-set success could be limited by (i) the quantity of pollen transported by the insect, (ii) the number of OSR flowers visited by the insect (possibly none), (iii) the availability of pollen in each field, (iv) the number of flowers of other species visited by the insect since its last OSR floral visit, and (v) the viability of pollen on the body of the insect. The variables tested in the models were therefore both qualitative variables (insect order, genus and species, sam-

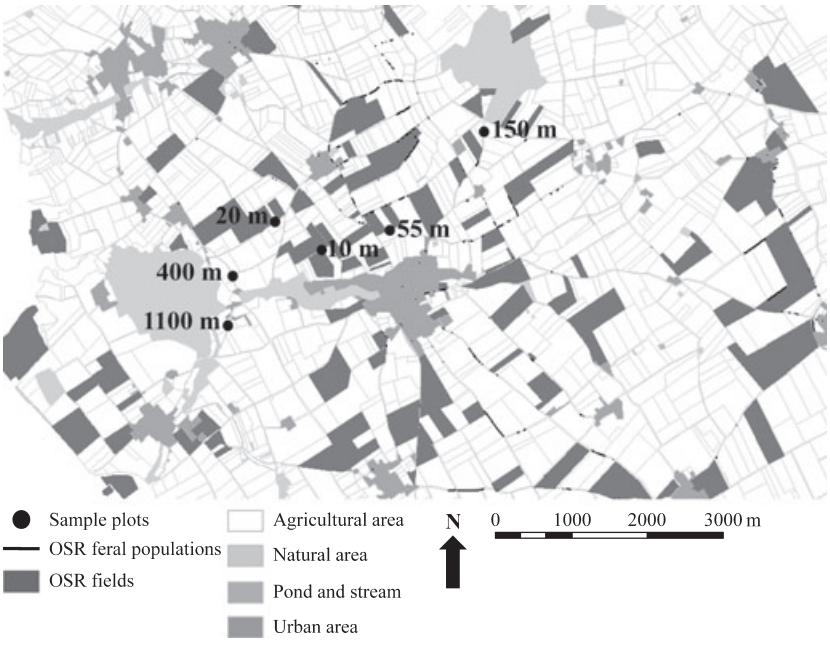


Fig. 1. Distribution of winter oilseed rape (OSR) fields within the 10 × 10 km study area and OSR feral populations along the paved and dirt road network in 2008. The six baits points were chosen following a roughly exponential scale of increasing distance to the OSR field. The map was drawn using ARCGIS ver. 9.1 from GPS data.

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society, *Journal of Applied Ecology*

pling date) and quantitative variables (distance to the nearest OSR field, IT span, daily temperature, flowering level, hours of sunshine)

Seed-set success was analysed through a logistic regression using a binomial distribution and a logit link function (proc GENMOD, SAS 9·1; SAS Institute, Cary, NC, USA). The effects of the variables were computed with a type III approach using likelihood ratio tests. We report here the final logistic model where we kept the three significant variables (distance to the nearest OSR field, IT span and temperature).

We analysed the total number of seeds produced (Log-transformed) by insects that produced at least one seed, using a linear model with distance to the nearest OSR field, IT span, temperature and insect order as explanatory variables.

Results

ENVIRONMENT DURING THE STUDY

The mean daily temperature over the five sampling dates ranged from 7·5 to 15 °C and the lowest value was on the third date (15 April). Sampling over the first three dates took place at the onset of flowering (ca. 2 flowers/plant), while the last two sampling dates were during full bloom (114 and 230 flowers/plant; see Fig. S1 in Supporting Information).

The April survey of OSR feral populations found only two feral plants at the rosette stage closer to a bait point than its nearest field (1100-m point), but these plants were no longer present in June. One feral plant not recorded in April was observed bearing seeds in June at 140 m from the 150-m point.

INSECTS VISITING OSR FLOWERS

We collected 71 insects belonging to three orders (Coleoptera, Diptera and Hymenoptera), 9 families and 26 species. Hymenopterans consisted of a majority of bees (Apiformes; 50 specimens), but also four sawflies (Symphyta) and two sphecid wasps. Dipterans were represented by syrphid flies. Pollen beetles *Meligethes aeneus* were collected at each point (13 specimens). We collected only a single honeybee *Apis mellifera* and no beehives were located in the study area (Table 1).

The average size of the insects sampled at the different points was similar, except for the 150-m point where larger insects were caught ($F_{5,65} = 3{\cdot}13$, $P = 0{\cdot}014$).

SEED SET FOLLOWING MANUAL INSECT POLLINATION

We conducted 451 manual pollinations by rubbing the 71 insect specimens onto the stigmas of MS flowers. We harvested 4047 seeds from 227 pods resulting from pollination with 28 insects among the 71 specimens collected.

Pollination using the 13 pollen beetles *M. aeneus* did not produce seeds. Pollination with one Diptera (*Episyrphus balteatus*), three sawflies (two *Dolerus haematodes* Schrank and one *Mesoneura opaca* Fabricius) and one sphecid wasp produced seeds (Table 1). For bees, pollination with 23 out of 50 specimens produced seeds, two of which were collected at the 1100 m point (*Xylocopa violacea* L. and *Andrena strohmella* Stoeckhert).

The proportion of insects for which pollination produced seeds was roughly similar at the first four distances (58·8% for all insects sampled at ≤150 m; $G = 2{\cdot}145$; df = 3; $P = 0{\cdot}542$). However, at distances further from the fields the proportion was significantly smaller (7·7% for all insects at ≥400 m and the values at 400 and 1100 m were similar with $P = 0{\cdot}206$ based on Fisher's exact test; Fig. 2).

The lowest seed-set success was recorded on the third date (15 April; 18% of insects produced seeds) and highest on the last date (6 May; 50% of the insects produced seeds, see Fig. S2 in Supporting Information).

Bees of the family Andrenidae and *B. terrestris* produced the largest numbers of seeds (> 100 seeds) (Table 1). The honeybee produced 62 seeds from five manual insect pollinations. None of the tested variables had a significant effect on seed production, when considering only insects that produced seeds.

MODELLING POLLEN DISPERSAL BY INSECTS

The seed-set success (S) of all 71 specimens was best explained by a logistic model that took into account the distance to the nearest OSR field (D), the IT span and the mean daily temperature (θ) (Table 2). The probability that an insect produce any seed was estimated as:

$$S = \frac{\exp^{-7{\cdot}32-0{\cdot}004D+1{\cdot}02IT+0{\cdot}41\theta}}{1+\exp^{-7{\cdot}32-0{\cdot}004D+1{\cdot}02IT+0{\cdot}41\theta}} \qquad \text{eqn 1}$$

Thus, seed-set success was affected negatively by distance to the nearest OSR fields ($P = 0{\cdot}0005$; Table 2, Fig. 3) and positively by insect size (IT span) ($P = 0{\cdot}0103$; Table 2). This relationship remained true when considering only the bees ($P = 0{\cdot}042$). The Generalized Rsquared (Nagelkerke 1991) was equal to 0·60. For the largest IT span (7·5 mm) at mean temperature (11·2 °C), eqn 1 predicted seed-set success < 1% at distances ≥2230 m from the nearest OSR field, and for the smallest IT span (0·8 mm) a seed-set success < 1% at ≥670 m (Fig. 3). The interaction between distance to the nearest field and insect size was not significant, nor was any other interaction.

Differences between sampling dates were explained by the positive effect of the mean daily temperature ($P < 0{\cdot}0001$). Seed-set success was lower on the coldest day (7·5 °C) and higher on the warmer day (15 °C; Fig. 3).

In addition to these three significant effects, none of the other investigated variables appeared as significant (flowering level, insect order, genus and species, sampling date and hours of sunshine).

Discussion

We observed a diversity of insects on MS OSR flowers that carried viable pollen at distances up to 1100 m, including bees, syrphid flies, sawflies, and sphecid wasps. Our method enabled us to focus on insect-borne pollen at the landscape scale contrary to previous studies using open pollinated plants for which air-borne and insect-borne pollen could not be separated (e.g. apetalous plants in Timmons *et al.* 1995; MS plants in Ramsay *et al.* 1999 and Devaux *et al.* 2005; other cultivars in Cai *et al.* 2008). Because we collected insects during their floral

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society,

Table 1. Seed-set success and number of seeds produced by the 71 insects caught on flowers of MS OSR

Order	Family	Species	IT span (mm)	Distance to the nearest field					
				10 m	20 m	55 m	150 m	400 m	1100 m
Hymenoptera	Andrenidae	*Andrena cineraria*	3·6	1/1 3(14)		1/1 4(7)		0/1	
		Andrena distinguenda	1·7			0/2			0/1
		Andrena flavipes	2·2	1/1 5(26)				0/3	0/1
		Andrena gravida	3·1				1/2 31(759)	0/1	
		Andrena haemorrhoa	2·9	1/1 20(504)		1/1 2(2)		0/1	0/1
		Andrena nigroaenea	3·2	1/1 1(8)		1/1 5(16)	0/1		0/1
		Andrena nitida	3·5		1/1 1(1)	1/1 80(1898)	0/1		
		Andrena pusilla	1·7						0/1
		Andrena strohmella	1·6					0/3	1/1 3(3)
		Andrena subopaca	1·6						0/1
	Apidae	*Anthophora plumipes*	4·7	1/1 2(11)					
		Apis mellifera	3·7			1/1 5(62)			
		Bombus hypnorum	4					0/1	
		Bombus lapidarius	6·6			2/2 5·5(35·5)	3/3 3(47·7)		
		Bombus terrestris	7·1				2/2 5·5(108·5)		
		Nomada flavoguttata	1·6						0/1
		Xylocopa violacea	7·1						1/1 1(1)
	Halictidae	*Lasioglossum calceatum*	2·4					0/1	0/1
		Lasioglossum malachurum	2				1/1 5(25)		0/1
		Lasioglossum xanthopus	2·5		1/1 2(2)				
		Sphecodes ruficrus	2·5					0/1	
	Megachilidae	*Osmia cornuta*	4·7						0/1
	Sphecidae		1			1/2 5(19)			
	Tenthredinidae	*Dolerus haematodes*	2·5	1/1 5(64)	0/1		1/1 5(54)		
		Mesoneura opaca	1·7		1/1 6(138)				
Diptera	Syrphidae	*Episyrphus balteatus*	2·5			1/1 5(8)			
		Syrphus vitripennis	3·6	0/1					
Coleoptera	Nitidulidae	*Meligethes aeneus*	0·5	0/2	0/4	0/2	0/1	0/3	0/1

For each species and bait point distance we provide: (top line) the number of individuals that gave seeds/the total number of individuals captured and (bottom line) the mean number of fruits per individual (the mean number of seeds per individual). The inter-tegular span (IT span) provides a references measure for insect size.

visits, we were able to link foraging behaviour and pollen dispersal for a single plant species. This new approach complements existing approaches that focus on flight behaviour (harmonic radar, Osborne *et al*. 1999; radio tracking, Pasquet *et al*. 2008; or with a feeder, Kuhn-Neto *et al*. 2009) by providing information on seed-set success, and thus gene flow, as a function of insect and flight characteristics.

Studies on pollination distances usually focus on bumblebees (*Bombus* spp.: Osborne *et al*. 1999; Cresswell *et al*. 1995; Cresswell, Osborne & Bell 2002) or honeybees (*Apis mellifera*: Ramsay *et al*. 1999; Pierre *et al*. 2010). Our approach allowed us to consider the diversity of naturally occurring pollinators, including small insects, and directly assess their potential contribution to effective pollen dispersal. A relatively high

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society, *Journal of Applied Ecology*

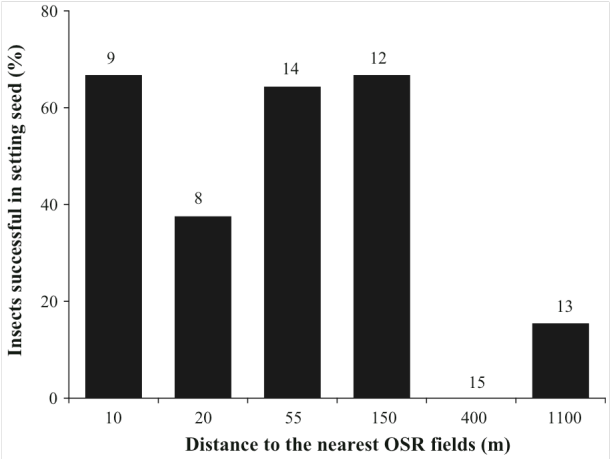


Fig. 2. Effect of distance to the nearest fields of oilseed rape (OSR) on pollen dispersal by insects, measured as the percentage of captured insects successfully setting seed when used to manually pollinate male-sterile plants.

Table 2. Effect of distance to the nearest oilseed rape (OSR) field, inter-tegular span and temperature on the probability of seed-set success

Effects	d.f.	χ^2	*P*
Distance to the nearest OSR field	1	12·02	0·0005
Main daily temperature	1	23·04	< 0·0001
IT span	1	6·58	0·0103

We provide the results of the logistic model including these three quantitative covariates analysed using type III likelihood ratio tests.

Supporting Information

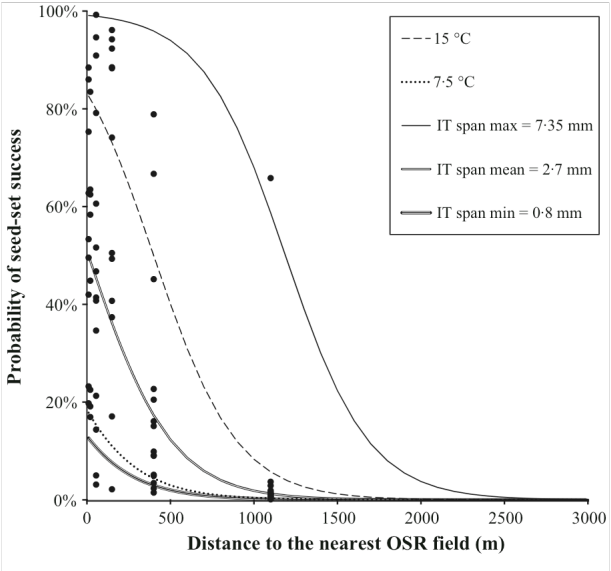


Fig. 3. Probability of seed-set success (*S*) in relation to the distance to the nearest oilseed rape (OSR) field, the insect size measured by the inter-tegular span (IT span, mean temperature = 11·2 °C) and the five mean daily temperatures (mean IT span = 2·7 mm) during which the foraging insects were caught. Each dot represents an insect caught foraging on male-sterile flowers.

proportion (39·4%) and diversity of insects visiting isolated OSR plants carried some viable OSR pollen in their body hairs. A majority of bees carried viable pollen (14 species, 82·1%), as expected because they are the main pollinators of OSR (Klein *et al.* 2007). *Episyrphus balteatus* (Syrphidae) also carried viable OSR pollen, consistent with the work of Jauker & Wolters (2008). More surprisingly, sawflies (Tenthrenidae) also visited flowers and carried viable OSR pollen, which, to our knowledge, has not been reported previously. None of the pollinations using the 13 *M. aeneus* produced a seed, contradicting their hypothesized role in long-distance pollen transfer (Ramsay, Thompson & Squire 2003). In fact, insect size was the only significant factor pertaining to the insects that explained the seed-set success. This size effect could be explained by the general ability of larger insects to carry more pollen grains for longer periods of time or to have larger foraging ranges. However, some particular species have specific adaptations to enable them to carry large amounts of pollen despite their small size (e.g. *Andrena nitida* with an IT span of 3·5 mm carried enough pollen to produce 1898 seeds) (Thorp 1979). Overall, the diversity of species we found carrying OSR pollen is consistent with the fact that its flowers are relatively unspecialized. Such diversity should not be neglected in assessments of pollen flow in agricultural landscapes. Furthermore, our finding that, after accounting for body size, taxa did not differ significantly in seed-set success should not be interpreted as a functional equivalence of all pollinator species. Indeed, the small number of specimens per species and even genus yielded a low statistical power for comparisons between them.

Our results provide evidence that insects play a role in long-distance OSR pollination and may induce gene escape from GM fields, even when the insect population density in a field is relatively low (Cresswell 2008). Some seeds were obtained from insects caught at 1·1 km from the closest pollen source. It is unlikely that this distance is overestimated as our intensive survey during the experiment provided no evidence of any flowering feral plants between each bait point and the closest field. The decrease in seed-set success at large distances most probably results from the small proportion of OSR among flowering plants in the vicinity of bait plants (Goodell *et al.* 1997). A decrease in effective pollen dispersal with distance to the nearest pollen source has been reported in numerous studies (Cresswell *et al.* 1995; Timmons *et al.* 1995; Ramsay, Thompson & Squire 2003; Devaux *et al.* 2005; Cai *et al.* 2008; Hoyle & Cresswell 2009) but these studies were not based exclusively on insect-borne pollen. Furthermore, we observed a major drop in pollen dispersal only beyond 150 m from the pollen source. This distance is further than the distance of ca. 50 m reported by previous authors who considered both airborne and insect-borne pollen (Devaux *et al.* 2005; Klein *et al.* 2006; Cai *et al.* 2008). Considering the decrease in the probability of seed-set success with distance, we found an exponential decrease at a rate of 0·004 per metre for long distances (eqn 1), which is consistent with the rate of decrease between fields reported by Damgaard & Kjellsson (2005) ranging from 0·003 to 0·006.

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society,

pling date) and quantitative variables (distance to the nearest OSR field, IT span, daily temperature, flowering level, hours of sunshine)

Seed-set success was analysed through a logistic regression using a binomial distribution and a logit link function (proc GENMOD, SAS 9·1; SAS Institute, Cary, NC, USA). The effects of the variables were computed with a type III approach using likelihood ratio tests. We report here the final logistic model where we kept the three significant variables (distance to the nearest OSR field, IT span and temperature).

We analysed the total number of seeds produced (Log-transformed) by insects that produced at least one seed, using a linear model with distance to the nearest OSR field, IT span, temperature and insect order as explanatory variables.

Results

ENVIRONMENT DURING THE STUDY

The mean daily temperature over the five sampling dates ranged from 7·5 to 15 °C and the lowest value was on the third date (15 April). Sampling over the first three dates took place at the onset of flowering (ca. 2 flowers/plant), while the last two sampling dates were during full bloom (114 and 230 flowers/plant; see Fig. S1 in Supporting Information).

The April survey of OSR feral populations found only two feral plants at the rosette stage closer to a bait point than its nearest field (1100-m point), but these plants were no longer present in June. One feral plant not recorded in April was observed bearing seeds in June at 140 m from the 150-m point.

INSECTS VISITING OSR FLOWERS

We collected 71 insects belonging to three orders (Coleoptera, Diptera and Hymenoptera), 9 families and 26 species. Hymenopterans consisted of a majority of bees (Apiformes; 50 specimens), but also four sawflies (Symphyta) and two sphecid wasps. Dipterans were represented by syrphid flies. Pollen beetles *Meligethes aeneus* were collected at each point (13 specimens). We collected only a single honeybee *Apis mellifera* and no beehives were located in the study area (Table 1).

The average size of the insects sampled at the different points was similar, except for the 150-m point where larger insects were caught ($F_{5,65} = 3{\cdot}13$, $P = 0{\cdot}014$).

SEED SET FOLLOWING MANUAL INSECT POLLINATION

We conducted 451 manual pollinations by rubbing the 71 insect specimens onto the stigmas of MS flowers. We harvested 4047 seeds from 227 pods resulting from pollination with 28 insects among the 71 specimens collected.

Pollination using the 13 pollen beetles *M. aeneus* did not produce seeds. Pollination with one Diptera (*Episyrphus balteatus*), three sawflies (two *Dolerus haematodes* Schrank and one *Mesoneura opaca* Fabricius) and one sphecid wasp produced seeds (Table 1). For bees, pollination with 23 out of 50 specimens produced seeds, two of which were collected at the 1100 m point (*Xylocopa violacea* L. and *Andrena strohmella* Stoeckhert).

The proportion of insects for which pollination produced seeds was roughly similar at the first four distances (58·8% for all insects sampled at ≤150 m; $G = 2{\cdot}145$; df = 3; $P = 0{\cdot}542$). However, at distances further from the fields the proportion was significantly smaller (7·7% for all insects at ≥400 m and the values at 400 and 1100 m were similar with $P = 0{\cdot}206$ based on Fisher's exact test; Fig. 2).

The lowest seed-set success was recorded on the third date (15 April; 18% of insects produced seeds) and highest on the last date (6 May; 50% of the insects produced seeds, see Fig. S2 in Supporting Information).

Bees of the family Andrenidae and *B. terrestris* produced the largest numbers of seeds (> 100 seeds) (Table 1). The honeybee produced 62 seeds from five manual insect pollinations. None of the tested variables had a significant effect on seed production, when considering only insects that produced seeds.

MODELLING POLLEN DISPERSAL BY INSECTS

The seed-set success (S) of all 71 specimens was best explained by a logistic model that took into account the distance to the nearest OSR field (D), the IT span and the mean daily temperature (θ) (Table 2). The probability that an insect produce any seed was estimated as:

$$S = \frac{\exp^{-7{\cdot}32-0{\cdot}004D+1{\cdot}02IT+0{\cdot}41\theta}}{1+\exp^{-7{\cdot}32-0{\cdot}004D+1{\cdot}02IT+0{\cdot}41\theta}} \qquad \text{eqn 1}$$

Thus, seed-set success was affected negatively by distance to the nearest OSR fields ($P = 0{\cdot}0005$; Table 2, Fig. 3) and positively by insect size (IT span) ($P = 0{\cdot}0103$; Table 2). This relationship remained true when considering only the bees ($P = 0{\cdot}042$). The Generalized Rsquared (Nagelkerke 1991) was equal to 0·60. For the largest IT span (7·5 mm) at mean temperature (11·2 °C), eqn 1 predicted seed-set success < 1% at distances ≥2230 m from the nearest OSR field, and for the smallest IT span (0·8 mm) a seed-set success < 1% at ≥670 m (Fig. 3). The interaction between distance to the nearest field and insect size was not significant, nor was any other interaction.

Differences between sampling dates were explained by the positive effect of the mean daily temperature ($P < 0{\cdot}0001$). Seed-set success was lower on the coldest day (7·5 °C) and higher on the warmer day (15 °C; Fig. 3).

In addition to these three significant effects, none of the other investigated variables appeared as significant (flowering level, insect order, genus and species, sampling date and hours of sunshine).

Discussion

We observed a diversity of insects on MS OSR flowers that carried viable pollen at distances up to 1100 m, including bees, syrphid flies, sawflies, and sphecid wasps. Our method enabled us to focus on insect-borne pollen at the landscape scale contrary to previous studies using open pollinated plants for which air-borne and insect-borne pollen could not be separated (e.g. apetalous plants in Timmons *et al.* 1995; MS plants in Ramsay *et al.* 1999 and Devaux *et al.* 2005; other cultivars in Cai *et al.* 2008). Because we collected insects during their floral

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society, *Journal of Applied Ecology*

agro-ecosystem indicates long-distance dispersal. *Molecular Ecology*, **14**, 2269–2280.
D'Hertefeldt, T., Jørgensen, R.B. & Pettersson, L.B. (2008) Long-term persistence of GM oilseed rape in the seedbank. *Biology Letters*, **4**, 314–317.
Eastham, K. & Sweet, J. (2002) *Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer*. Report No 28, Expert's Corner Series. European Environment Agency, Copenhagen, Denmark.
Goodell, K., Elam, D.R., Nason, J.D. & Ellstrand, N.C. (1997) Gene flow among small populations of self-incompatible plant: an interaction between demography and genetics. *American Journal of Botany*, **84**, 1362–1371.
Hirao, A.S., Kameyama, Y., Ohara, M., Isagi, Y. & Kudo, G. (2006) Seasonal changes in pollinator activity influence pollen dispersal and seed production of the alpine shrub *Rhododendron aureum* (Ericaceae). *Molecular Ecology*, **15**, 1165–1173.
Hoyle, M. & Cresswell, J.E. (2009) Maximum feasible distance of windborne cross-pollination in *Brassica napus*: a 'mass budget' model. *Ecological Modelling*, **220**, 1090–1097.
Hoyle, M., Hayter, K. & Cresswell, J.E. (2007) Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecological Applications*, **17**, 2123–2135.
James, C. (2009) *Global status of commercialized biotech/GM crops: 2009*. ISAAA Brief No. 41, ISAAA, Ithaca, NY.
Jank, B., Rath, J. & Gaugitsch, H. (2006) Co-existence of agricultural production systems. *Trends in Biotechnology*, **24**, 198–200.
Jauker, F. & Wolters, V. (2008) Hover flies are efficient pollinators of oilseed rape. *Oecologia*, **156**, 819–823.
Klein, E.K., Lavigne, C., Picault, H., Renard, M. & Gouyon, P. (2006) Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology*, **43**, 141–151.
Klein, A., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C. & Tscharntke, T. (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **274**, 303–313.
Kuhn-Neto, B., Contrera, F.A., Castro, M.S. & Nieh, J.C. (2009) Long distance foraging and recruitment by a stingless bee, *Melipona mandacaia*. *Apidologie*, **40**, 472–480.
Lavigne, C., Klein, E.K., Vallée, 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.
Manasse, R.S. (1992) Ecological risks of transgenic plants: effect of spatial dispersion on gene flow. *Ecological Applications*, **2**, 431–438.
Meagher, T.R., Belanger, F.C. & Day, P.R. (2003) Using empirical data to model transgene dispersal. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **358**, 1157–1162.
Mesquida, J. & Renard, M. (1982) Etude de la dispersion du pollen par le vent et de l'importance de la pollinisation anémophile chez le colza (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzger). *Apidologie*, **13**, 353.
Mesquida, J. & Renard, M. (1989) Etude de l'aptitude à germer *in vitro* du pollen de colza (*Brassica napus* L.) récolté par l'abeille domestique (*Apis mellifica* L.). *Apidologie*, **20**, 197.
Nagelkerke, N. (1991) A note on a general definition of the coefficient of determination. *Biometrika*, **78**, 691–692.
Osborne, J.L., Clark, S.J., Morris, R.J., Williams, I.H., Riley, J.R., Smith, A.D., Reynolds, D.R. & Edwards, A.S. (1999) A landscape-scale study of bumble bee foraging range and constancy, using harmonic radar. *Journal of Applied Ecology*, **36**, 519–533.
Pasquet, R.S., Peltier, A., Hufford, M.B., Oudin, E., Saulnier, J., Paul, L., Knudsen, J.T., Herren, H.R. & Gepts, P. (2008) Long-distance pollen flow assessment through evaluation of pollinator foraging range suggests transgene escape distances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 13456–13461.
Pessel, F.D., Lecomte, J., Emeriau, V., Krouti, M., Messéan, A. & Gouyon, P.-H. (2001) Persistence of oilseed rape in natural habitats : consequence for release of transgenic crops. *Theoretical and Applied Genetics*, **102**, 841–846.
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 the honey bees (*Apis mellifera*). *Plant Breeding*, **115**, 484–487.
Pierre, J., Vaissière, B., Vallée, P. & Renard, M. (2010) Efficiency of airborne pollen released by honeybee foraging on pollination in oilseed rape: a wind insect-assisted pollination. *Apidologie*, **41**, 109–115.
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.
Ramsay, G., Thompson, C. & Squire, G. (2003) *Quantifying landscape-scale gene flow in oilseed rape (Defra project RG0216 final report)*. Department for Environment, Food, and Rural Affairs, London, UK.
Ramsay, G., Thompson, C.E., Neilson, S. & Mackay, G.R. (1999) Honeybees as vectors of GM oilseed rape pollen. *in* Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic. *CropsBCPC Symposium Proceedings*, **72**, 209–214.
Raybould, A.F., Clarke, R.T., Bond, J.M., Welters, R.E. & Gliddon, C. (2002) Inferring patterns of dispersal from allele frequency data. *Dispersal Ecology* (eds J.M. Bullock, R.E. Kenward & R. Hails), pp. 89–111. Blackwell Science, Oxford.
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.
Sanvido, O., Romeis, J. & Bigler, F. (2007) Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercial cultivation. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, **107**, 235–278.
Sork, V.L., Nason, J., Campbell, D.R. & Fernandez, J.F. (1999) Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, **14**, 219–224.
Szabo, T.I. & Smith, M.V. (1972) The influence of light intensity and temperature on the activity of the alfalfa leaf-cutter bee *Megachile rotundata* under field conditions. *Journal of Apicultural Research*, **11**, 157–165.
Thorp, R.W. (1979) Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **66**, 788–812.
Timmons, A., O'Brien, E., Charters, Y., Dubbels, S. & Wilkinson, M. (1995) Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica*, **85**, 417–423.
Walklate, P.J., Hunt, J.C.R., Higson, H.L. & Sweet, J.B. (2004) A model of pollen-mediated gene flow for oilseed rape. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **271**, 441–449.
Walther-Hellwig, K. & Frankl, R. (2000) Foraging distances of *Bombus muscorum*, *Bombus lapidarius*, and *Bombus terrestris* (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Insect Behavior*, **13**, 239–246.
Westphal, C., Bommarco, R., Carré, G., Lamborn, E., Morison, N., Petanidou, T., Potts, S.G., Roberts, S.P.M., Szentgyörgyi, H., Tscheulin, T., Vaissière, B.E., Woyciechowski, M., Biesmeijer, J.C., Kunin, W.E., Settele, J. & Steffan-Dewenter, I. (2008) Measuring bee diversity in different European habitats and biogeographical regions. *Ecological Monographs*, **78**, 653–671.
Wolf, S. & Moritz, R.F. (2008) Foraging distance in *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, **39**, 419.
Zurbuchen, A., Landert, L., Klaiber, J., Müller, A., Hein, S. & Dorn, S. (2010) Maximum foraging ranges in solitary bees: only few individuals have the capability to cover long foraging distances. *Biological Conservation*, **143**, 669–676.

Received 30 June 2010; accepted 20 October 2010
Handling Editor: Juliet Osborne

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article

Fig. S1. Evolution of flowering of oilseed rape fields and of mean daily temperature.

Fig. S2. Evolution of seed-set from manual pollination over the course of our study.

Appendix S1. Detailed description of preliminary test for manual insect pollination.

As a service to our authors and readers, this journal provides supporting information supplied by the authors. Such materials may be re-organized for online delivery, but are not copy-edited or typeset. Technical support issues arising from supporting information (other than missing files) should be addressed to the authors.

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 British Ecological Society, *Journal of Applied Ecology*

Ne savons-nous pas pourtant que l'apparence de la graine
est en contradiction avec sa vraie nature ?
Si vous soumettez une graine à une analyse chimique,
Vous y trouverez peut-être du carbone, des protéines, et bien d'autres choses,
Mais jamais l'idée d'un arbre feuillu.

Rabindranath ThâkuTagore

FAUNE POLLINISATRICE, PAYSAGE ET ECHELLE SPATIALE DES FLUX DE POLLEN CHEZ *BRASSICA NAPUS* L. (BRASSICACEAE)

L'intérêt pour la dispersion des gènes via le pollen a augmenté avec les cultures de plantes génétiquement modifiées. A ce jour, les données expérimentales ainsi que la modélisation sur les mouvements du pollen de colza, *Brassica napus* L., à l'échelle du paysage ne différencient pas la part du vent et des insectes. Cependant, la compréhension et l'estimation de la dispersion des gènes par le pollen reste une condition nécessaire pour gérer les risques d'échappement des (trans-)gènes vers l'environnement et les cultures conventionnelles.

A travers cette thèse, nous avons pu mettre en évidence qu'une grande diversité d'insectes pouvait transporter du pollen viable entre différentes plantes de colza sur des distances importantes (>1.1 km). La diversité des insectes pollinisateurs a varié d'une région à l'autre et d'une année à l'autre. Cependant, bien que la majorité des insectes sur une zone de grande production de colza ait du pollen de cette culture sur leur corps, seulement 39,4 % des insectes capturés sur des plantes mâle-stériles transportaient du pollen de colza viable. Bien que nous n'ayons pas pu déterminer avec précision la part relative du vent et des insectes dans la pollinisation du colza, il semblerait que les insectes participaient de façon plus importante à la pollinisation des plantes présentes en bordures de champs, augmentant ainsi le taux de pollinisation croisée. Nos résultats fournissent des données empiriques pour comprendre les mécanismes et améliorer les modèles de dispersion du pollen pour les cultures entomophiles à l'échelle du paysage. Ces modèles sont essentiels pour aider à la gestion du territoire afin de réduire la dispersion des gènes par le pollen des cultures génétiquement modifiées vers les plantes sauvages et les cultures conventionnelles.

MOTS CLES: Apiformes, abeilles, *Brassica napus*, colza, Diptera, succès de grenaison, diversité spécifique, tailles des insectes, dipersion pollinique, flux de pollen, Syrphidae.