



**HAL**  
open science

## Analyse des flux de gènes in natura et de leur contrôle in planta dans le cadre du modèle colza-ravenelle

Anne-Marie Chèvre, Eric Jenczewski, Frederique F. Eber, Sabrina Delaunay, Juliette Monteil, Cyril Falentin, Virginie Huteau, Olivier O. Coriton, Katarzyna K. Adamczyk, Catherine Laredo, et al.

### ► To cite this version:

Anne-Marie Chèvre, Eric Jenczewski, Frederique F. Eber, Sabrina Delaunay, Juliette Monteil, et al.. Analyse des flux de gènes in natura et de leur contrôle in planta dans le cadre du modèle colza-ravenelle. Premier Séminaire de Restitution du Programme ANR-OGM, Dec 2006, Paris, France. hal-02756565

**HAL Id: hal-02756565**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02756565>**

Submitted on 3 Jun 2020

**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.

# ***Organismes génétiquement modifiés : aspects socio-économiques, alimentaires et environnementaux***

## ***Premier séminaire de restitution du Programme ANR-OGM***

Action Concertée Incitative « Impact des OGM dans les agro-écosystèmes » (1999, 2001 et 2004)  
- Ministère délégué à l'Enseignement Supérieur et à la Recherche -

Appels à projets « Impacts des biotechnologies dans les agro-écosystèmes » (2001, 2002 et 2004)  
- Centre National de la Recherche Scientifique -

Appels à projets du programme OGM (2005 et 2006)  
- Agence Nationale de la Recherche -  
(Établissement-support : Institut National de la Recherche Agronomique  
pour l'animation et la gestion du programme)

14 et 15 décembre 2006  
Ministère délégué à l'Enseignement Supérieur et à la Recherche  
Amphithéâtre Gay-Lussac, 1 rue Descartes  
Paris



L'INRA, établissement-support en charge de l'animation et de la gestion du programme OGM de l'ANR, organise le premier séminaire bisannuel du programme, qui a pour objectif de faire le point sur les récentes avancées de la recherche dans le champ de ce programme. Les projets présentés ont été ou sont financés soit dans le cadre de l'Action Concertée Incitative « Impact des OGM dans les agro-écosystèmes » du Ministère délégué à l'Enseignement Supérieur et à la Recherche (appels à projets 1999, 2001 et 2004), soit par les appels à projets (2001, 2002 et 2004) « Impacts des biotechnologies dans les agro-écosystèmes » du Centre National de la Recherche Scientifique, soit plus récemment (2005 et 2006) par le programme OGM de l'Agence Nationale de la Recherche.

**Comité d'Organisation Scientifique du séminaire**

**Bernard CHEVASSUS-AU-LOUIS**, Président du comité de pilotage du programme ANR-OGM (éditions 2005 et 2006)

**Marc FELLOUS**, Président du Conseil Scientifique du programme ANR-OGM (éditions 2005 et 2006) et Président de la Commission du Génie Biomoléculaire (CGB)

**Denis COUVET**, Directeur de l'Unité Mixte de Recherche Conservation des espèces, restauration et suivi des populations (Muséum National d'Histoire Naturelle/CNRS/Université Paris VI)

**François HOULLIER**, Directeur Scientifique Plante et Produits du Végétal de l'Institut National de la Recherche Agronomique

**Pierre-Benoît JOLY**, Directeur de l'Unité de Recherche Transformations sociales et politiques liées au vivant (INRA)

**Marianne LEFORT**, Directrice Scientifique de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

**Antoine MESSÉAN**, Directeur de l'Unité de Recherche Impacts écologiques des innovations en production végétale (INRA)

**Gérard PASCAL**, Chargé de mission à la Direction Scientifique Nutrition Humaine et Sécurité des Aliments (INRA)

**Francis QUETIER**, Directeur de Programmes à l'ANR, Département Ecosystèmes et Développement Durable

**Cellule de gestion du Programme ANR-OGM**

**Christine CHARLOT**, Institut National de la Recherche Agronomique, Coordonnatrice

**Gaëlle EMBS**, Institut National de la Recherche Agronomique, Coordonnatrice adjointe

**Perrine RUDINGER**, Institut National de la Recherche Agronomique, Coordonnatrice adjointe



## **Organismes génétiquement modifiés : aspects socio-économiques, alimentaires et environnementaux**

### **Séminaire ANR-OGM les 14 et 15 décembre 2006 à Paris**

- 09h00 Ouverture du séminaire et présentations introductives par les représentants des organisateurs : session animée par **François HOULLIER**, Directeur Scientifique Plante et Produits du Végétal de l'INRA.  
Intervenants : **Roger GENET**, Conseiller pour les sciences du vivant, la santé et la bioéthique au Cabinet du Ministre, Ministère délégué à l'Enseignement Supérieur et à la Recherche ; **René BALLY**, Directeur Scientifique Adjoint du Département Environnement et Développement Durable du CNRS ; **Marc FELLOUS**, Président du Conseil Scientifique du programme ANR-OGM ; **Francis QUETIER**, Directeur de Programmes à l'ANR, Département Ecologie et Développement Durable.

#### **Matinée du 14 décembre - Sciences Sociales**

*Animatrice : Christine NOIVILLE*

*Rapporteur : Pierre-Benoît JOLY*

- 09h30 **Conférence invitée** : Sheila JASANOFF (Pforzheimer Professor of Science and Technology Studies at Harvard University's John F. Kennedy School of Government) "Culturing the Politics of Knowledge : GMOs in Agriculture"
- 10h10 Discussion (20')
- 10h30 **Les OGM en débat : espace public et évaluation systémique**  
Francis Chateauraynaud (EHESS) " Rééquiper le laboratoire des sciences sociales. La sociologie des alertes et des controverses à l'épreuve des OGM" (20')  
Sylvie BONNY (INRA) "Impacts et enjeux agro-économiques du soja transgénique tolérant au glyphosate à partir du cas des États-Unis" (20')
- 11h10 Discussion (20')
- 11h30 **La politique européenne en pratique : traçabilité et co-existence**  
Egizio VALCESCHINI (INRA) "Traçabilité, certification et droits de propriété : la construction incomplète du marché européen des OGM" (20')  
François COLÉNO (INRA) "Stratégies de collecte pour la séparation des filières OGM et non OGM" (20')
- 12h10 Pierre-Benoît JOLY (INRA) "**Evolution du volet sciences sociales de l'appel à projets de l'ANR en 2005 et 2006**" (15')
- 12h25 Discussion (20')
- 13h00 Déjeuner (Hall de la poule)**

#### **Après-Midi du 14 décembre - Évaluation des risques sanitaires des aliments issus d'OGM**

*Animateur : Ib KNUDSEN*

*Rapporteur : Jean-Michel WAL*

- 14h30 **Conférence invitée** : Ib KNUDSEN (DVM from the Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen; Chief Adviser in Food Safety and Toxicology, Institute of Food Safety and Nutrition, Denmark) – "Safety assessment of genetically modified plants : state of the art and challenges for research"
- 15h00 Discussion (20')
- 15h20 David ZHANG (GEVES) "**Analyse de semences de maïs contaminées par des traces d'organismes génétiquement modifiés non identifiés**" (15')
- 15h35 Discussion (10')
- 15h45 **Caractérisation de l'alimentarité des pommes de terre transgéniques**  
Jean-Eric CHAUVIN (INRA) "Analyse des effets de modifications génétiques sur la composition chimique et la qualité alimentaire de tubercules de pomme de terre" (15')  
Alain PARIS (INRA) "Caractérisation des empreintes analytiques et toxicologiques ("signatures biologiques") des variétés OGM et non-OGM homologues à l'aide de méthodes globales basées sur l'analyse spectrale multiple" (15')
- 16h15 Discussion (20')
- 16h35 **Caractérisation des modifications génétiques des micro-organismes**  
Sylvie DEQUIN (INRA) "Approches post-génomiques appliquées à l'évolution des effets indirects de modifications génétiques chez les levures œnologiques" (15')  
Pierre RENAULT (INRA) "Evaluation des effets indirects de modifications génétiques par comparaison de profils d'expression de bactéries lactiques et leurs dérivés OGM en modèle murin" (15')
- 17h05 Discussion (20')
- 17h25 Karine ADEL-PATIENT (INRA) "**Evaluation de l'allergénicité des OGM**" (15')
- 17h40 Discussion (10')
- 18h00 Fin de session

## Journée du 15 décembre – Évaluation et gestion des impacts agri-environnementaux liés à la culture d'OGM

### Accueil des participants à partir de 08h00

- 8h30 Synthèse et conclusions des sessions du 14 décembre : sciences sociales (Pierre-Benoît JOLY) et évaluation des risques sanitaires des aliments (Jean-Michel WAL)
- 09h00 **Conférence invitée:** Geoffrey Squire (Scottish Crop Research Institute, Scotland, UK) "Upscaling leads to the unexpected in GM risk assessment"
- 09h30 Discussion
- 09h50 *Pause*
- 10h10 **Flux de gènes intra- et interspécifiques**  
*Animateur : Geoffrey SQUIRE*  
*Rapporteur : Etienne KLEIN*
- Claire LAVIGNE (INRA) "Modélisation de la dispersion de transgènes à différentes échelles" (30')  
 Yves BRUNET (INRA) "Dispersion du pollen de maïs à longue distance : sources, transport, dépôt" (15')  
 Jacques DAVID (INRA) "Rôle des diplogamètes dans les échanges de gènes au sein d'un complexe d'espèces polyploïdes : cas du blé dur et d'*Aegilops ovata*. Suivi de populations d'*Aegilops* au contact de blés cultivés et étude des phénomènes d'introgression" (15')  
 Anne-Marie CHEVRE (INRA) "Analyse des flux de gènes in natura et de leur contrôle in planta dans le cadre du modèle colza-ravenelle" (15')  
 Gérard SECOND (IRD) "Propagation potentielle de transgènes dans un genre entier. Deux cas de plantes domestiquées par reproduction végétative : Manihot, Euphorbiacées (manioc) et Arracacia, Ombellifères (arracacha) : reproduction sexuée résiduelle et introgressions réciproques avec des espèces éloignées" (15')
- 11h40 Discussion
- 12h30 Déjeuner (Hall de la poule)**
- 14h00 **Agro-systèmes et dynamiques d'introgression**  
*Animateur : Denis COUVET*  
*Rapporteur : Antoine MESSÉAN*
- .Antoine MESSÉAN (INRA) "Impact du développement des plantes transgéniques dans les systèmes de culture" (30')  
 Jean-Luc HOF (CIRAD) "Conséquences écologiques et agro-économiques de l'introduction de cotonniers transgéniques dans un agrosystème tropical : le cas du Coton Bt chez les petits paysans des Makhathini Flats (Afrique du Sud)" (15')  
 Doyle MCKEY (Université Montpellier 2) "Introgression du manioc domestiqué dans les populations d'espèces apparentées sauvages : implications pour la diffusion de transgènes" (15')  
 Denis BOURGUET (INRA) "Gestion de la résistance des insectes phytophages aux plantes génétiquement modifiées" (15')
- 15h15 Discussion
- 15h45 *Pause*
- 16h00 **Transferts horizontaux. Impacts écologiques au niveau du sol**  
*Animatrice : Marianne LEFORT*  
*Rapporteur : René BALLY*
- Pascal SIMONET (CNRS) "Impact des plantes génétiquement modifiées sur la communauté microbienne du sol" (30')  
 Xavier NESME (INRA) " Persistance des Agrobacterium vecteurs de transformation au cours des générations dans les Arabidopsis transformés " (15')  
 Yves DESSAUX (CNRS) "Etude d'interactions écologiques : impact de plantes génétiquement modifiées sur la microflore de la rhizosphère" (20')
- 17h05 Discussion
- 17h35 Clôture du séminaire - Fin du séminaire à 17h45.

# Sommaire

<b>Sciences Sociales .....</b>	<b>9</b>
Culturing the Politics of Knowledge: GMOs in Agriculture .....	11
Rééquiper le laboratoire des sciences sociales. La sociologie des alertes et des controverses à l'épreuve des OGM.....	14
Impacts et enjeux agro-économiques du soja transgénique tolérant au glyphosate à partir du cas des États-Unis.....	17
Traçabilité, certification et droits de propriété : la construction incomplète du marché européen des OGM .....	20
Stratégies de collecte pour la séparation des filières OGM et non OGM .....	25
Evolution du volet Sciences Sociales de l'appel à projets de l'ANR en 2005 et 2006 .....	27
Résumés des projets soutenus en 2005 et 2006 dans le cadre du volet Sciences Sociales du programme ANR-OGM .....	30
<b>Évaluation des risques sanitaires des aliments issus d'OGM .....</b>	<b>40</b>
Safety assessment of genetically modified plants: state of the art and challenges for research .....	42
Analyse de semences de maïs contaminées par des traces d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) non identifiés .	44
Analyse des effets de modifications génétiques sur la composition chimique et la qualité alimentaire de tubercules de pomme de terre .....	46
Caractérisation des empreintes analytiques et toxicologiques ("signatures biologiques") des variétés OGM et non-OGM homologues à l'aide de méthodes globales basées sur l'analyse spectrale multiple.....	48
Approches post-génomiques appliquées à l'évolution des effets indirects de modifications génétiques chez les levures œnologiques .....	50
Evaluation des effets indirects de modifications génétiques par comparaison de profils d'expression de bactéries lactiques et leurs dérivés OGM en modèle murin.....	54
Evaluation de l'allergénicité des OGM.....	56
<b>Évaluation et gestion des impacts agri-environnementaux liés à la culture d'OGM .....</b>	<b>58</b>
Upscaling leads to the unexpected in GM risk assessment .....	60
Modélisation de la dispersion de transgènes à différentes échelles : .....	62
Dispersion du pollen de maïs à longue distance : sources, transport, dépôt.....	68
Rôle des diplogamètes dans les échanges de gènes au sein d'un complexe d'espèces polyploïdes : cas du blé dur et d' <i>Aegilops ovata</i> . Suivi de populations d' <i>Aegilops</i> au contact de blés cultivés et étude des phénomènes d'introgession.....	72
Analyse des flux de gènes in natura et de leur contrôle in planta dans le cadre du modèle colza-ravenelle .....	76
Propagation potentielle de transgènes dans un genre entier. Deux cas de plantes domestiquées par reproduction végétative : <i>Manihot</i> , Euphorbiacées (manioc) et <i>Arracacia</i> , Umbellifères (arracacha) : reproduction sexuée résiduelle et introgressions réciproques avec des espèces éloignées.....	78
Impact du développement des plantes transgéniques dans les systèmes de culture.....	82
Conséquences écologiques et agro-économiques de l'introduction de cotonniers transgéniques dans un agrosystème tropical : le cas du Coton Bt chez les petits paysans des Makhathini Flats (Afrique du Sud) .....	88
Introgression du manioc domestiqué dans les populations d'espèces apparentées sauvages : implications pour la diffusion de transgènes.....	92
Gestion de la résistance des insectes phytophages aux plantes génétiquement modifiées.....	98
Impact des plantes génétiquement modifiées sur la communauté microbienne du sol .....	100
Persistance des <i>Agrobacterium</i> vecteurs de transformation au cours des générations dans les <i>Arabidopsis</i> transformés..	104
Etude d'interactions écologiques : impact de plantes génétiquement modifiées sur la microflore de la rhizosphère .....	106





## *Sciences Sociales*

*Les OGM en débat : espace public et évaluation systémique*

*La politique européenne en pratique : traçabilité et co-existence*

*Evolution du volet sciences sociales de l'appel à projets de l'ANR en 2005 et 2006*



**Invited talk:**

**Culturing the Politics of Knowledge: GMOs in Agriculture**

**Keynote speaker: Sheila JASANOFF**

Pforzheimer Professor of Science and Technology Studies at Harvard University's John F. Kennedy School of Government

Mail : [sjasan@fas.harvard.edu](mailto:sjasan@fas.harvard.edu)

**Curriculum vitae**

Sheila Jasanoff is Pforzheimer Professor of Science and Technology Studies at Harvard University's John F. Kennedy School of Government. She has held academic appointments at Cornell, Yale, Oxford, Cambridge, and Kyoto. At Cornell, she founded and chaired the Department of Science and Technology Studies. She has been Leverhulme Visiting Professor at Cambridge, Karl Deutsch Professor at the Science Center Berlin, Fellow at the Berlin Institute for Advanced Study (*Wissenschaftskolleg*), and Resident Scholar at the Rockefeller Foundation's study center in Bellagio. Her research focuses on the relationship of science and technology to law, politics and policy in modern democratic societies, with particular emphasis on the role of science in legal and regulatory decisionmaking. She has written and lectured widely on problems of environmental regulation, risk management, and the politics of the life sciences in the United States, Europe, and India. Her books on these topics include *Controlling Chemicals* (co-authored, 1985), *The Fifth Branch* (1990), and *Science at the Bar* (1995). Her most recent book, *Designs on Nature*, a comparative study of the politics of biotechnology in Europe and the United States, was published by Princeton in 2005. Jasanoff has served on the Board of Directors of the American Association for the Advancement of Science and as President of the Society for Social Studies of Science. She holds degrees in mathematics, linguistics and law from Harvard and an honorary doctorate from the University of Twente.

**Abstract**

A quarter-century into one of humanity's grand experiments with nature—the genetic modification of plants, animals, and other agricultural products—it is time to consider where we stand with respect to our capacity to understand and manage the results of that experimentation. A starting point for this inquiry is to see how the idea of experiment has itself evolved during this period of rapid technoscientific change. Using examples from the United States and Europe, I will argue that the capacity to perceive and interpret the signals generated by our experimental systems is deeply intertwined with civic epistemologies, or the systematic, culturally conditioned routines by which citizens and policymakers of nation states construct regimes of public reason. I will show that the interpretations of the risks and benefits of GMOs reflect divergent cultural understandings of the nature of risk, evidence, precaution, and the role of the state. I will conclude by reflecting on possible modes of co-existence among divergent political, as well as agri-, cultures in the era of genetic modification.



## Rééquiper le laboratoire des sciences sociales. La sociologie des alertes et des controverses à l'épreuve des OGM.

**Présenté par : Francis CHATEAURAYNAUD**  
Groupe de Sociologie Pragmatique et Réflexive (GSPR),  
Ecole des Hautes Études en Sciences Sociales (EHESS)

Mail : chateau@msh-paris.fr

### Résumé

A partir d'une longue expérience de recherche, à la fois en matière de sociologie des alertes, des controverses et des crises (de la vache folle à la grippe aviaire, du nucléaire ou de l'amiante aux nanotechnologies) et en matière de réalisation d'instruments informatiques pour l'analyse de grands corpus (logiciels Prospéro et Marlowe), on se donne pour objectif de rééquiper le laboratoire des sciences sociales face aux processus sociaux contemporains. Rien de tel pour créer les conditions d'un test « grandeur nature » que de s'attaquer à un des dossiers les plus « agités » de ces dernières années : celui des OGM. L'exposé soulignera quelques-unes des conditions cognitives auxquelles doit satisfaire un observatoire coopératif informatisé pour mettre le dossier des OGM à l'épreuve de différentes grilles d'analyse et rediriger l'enquête en fonction de ce qui résiste ou fait débat. Des figures ou des modèles déjà élaborés de ce qu'est une alerte, un témoignage, une dénonciation, une controverse, une action radicale, une négociation, une affaire, une prophétie ou un processus de normalisation serviront de fils conducteurs pour l'organisation des grilles d'analyse. Malgré l'apparente irréductibilité du dossier et la prolifération des événements, des débats, des expertises, des épreuves de forces et des décisions judiciaires, il y a moyen de repérer l'activation de configurations précises et de qualifier les propensions en œuvre. Qu'il s'agisse des critiques autour du nucléaire, du traitement des conséquences de l'exposition à l'amiante, des alertes et affaires autour des pesticides, de la gestion d'épidémies ou d'épizooties (prion, grippe aviaire), ou encore des conflits d'implantation autour de projets d'infrastructures (tels les projets EPR et ITER), on a montré que l'on pouvait organiser des jeux de descripteurs et produire des comparaisons systématiques. Le cas des OGM sera ainsi saisi à travers une collection de grands dossiers permettant à la fois une prise de distance et la construction d'outils d'analyse mieux adaptés à sa trajectoire apparemment chaotique, ou pour le moins atypique, surtout dans le cas français.



## Impacts et enjeux agro-économiques du soja transgénique tolérant au glyphosate à partir du cas des États-Unis

Présenté par : Sylvie BONNY

Mail : bonny@grignon.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnatrice

#### Evaluation systémique du soja tolérant au glyphosate et perspectives des cultures transgéniques

(décembre 2002- décembre 2004) Sylvie BONNY<sup>1</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2002

<sup>1</sup> UMR 210, UMR d'économie publique INRA-INAPG, INRA, Grignon

**Mots clefs** : culture transgénique, soja, impacts, bénéfice/risque, évaluation, agriculteur, herbicide, système de production, environnement, technique, adventice, évolution, États-Unis.

### Résumé

Les cultures transgéniques tolérantes à un herbicide paraissent à beaucoup d'un intérêt très limité, pourtant ce sont actuellement les plus répandues dans le monde. Le soja tolérant à l'herbicide glyphosate est quant à lui la plante génétiquement modifiée (GM) la plus cultivée en 2005 dans le monde et aux États-Unis où il représente 89 % de la surface en soja en 2006. Comment expliquer cette diffusion importante et quels sont ses impacts au niveau agro-économique et environnemental ? Tel est l'objet de cette communication. L'approche adoptée est systémique et vise à prendre en compte les interactions, les liens avec le contexte et la dynamique d'évolution. L'exposé présentera les facteurs expliquant l'adoption rapide du soja tolérant au glyphosate aux USA. Puis on étudiera ses divers impacts agro-économiques, notamment en termes d'évolution des herbicides employés et de conséquences agro-environnementales. En dernier lieu on abordera diverses questions en débat dans ces domaines.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Dans le cadre de l'ACI "impact des OGM", on a esquissé une évaluation systémique du soja transgénique tolérant à un herbicide, le glyphosate, à partir de ses premières années de culture aux USA, de 1996 à 2004. Le rapport présente d'abord l'état de développement des biotechnologies dans le monde en 2004, puis celui des cultures transgéniques et le montant des marchés en jeu ; il ébauche une analyse des diverses firmes impliquées en matière de semences transgéniques. Puis après un état des lieux, les facteurs de développement des OGM aux USA, notamment du soja, sont examinés : contexte socio-politique plutôt favorable, intérêt agro-économique du moins à court terme pour les farmers malgré certains inconvénients, etc. Au niveau agro-économique, la large adoption du soja transgénique provient notamment de la plus grande facilité et flexibilité du désherbage qu'il permet, ainsi que de sa bonne association avec d'autres pratiques culturales en expansion comme celles de conservation des sols. *In fine*, diverses questions en jeu avec le développement de ce soja sont abordées : problèmes méthodologiques d'évaluation des cultures transgéniques par rapport aux variétés conventionnelles, enjeux environnementaux, en particulier l'évolution de l'utilisation des divers herbicides, les controverses en la matière, les interrogations liées à la croissance de l'emploi du glyphosate. L'impact des OGM en matière d'utilisation des pesticides, en particulier des désherbants dans le cas des cultures transgéniques tolérantes à un herbicide, a fait l'objet de débats. Mais la quantité d'herbicides employée (en g/ha par exemple) est un indicateur bien insuffisant de cet impact car plusieurs facteurs jouent en matière de déterminants des quantités de pesticides ainsi qu'en matière de leurs effets sur le milieu.

L'investigation faite apporte ainsi des éléments d'éclairage dans un domaine objet de fréquents débats et de controverses reposant assez souvent sur une connaissance un peu approximative des situations en jeu.



## Perspectives

Vu l'ampleur de la controverse il paraît utile de faire un suivi des cultures transgéniques déjà cultivées car la situation en matière d'OGM n'est pas figée, mais au contraire sujette à de nombreux événements plus ou moins importants qui peuvent influencer sur le développement des OGM. Dans le cas du soja transgénique aux USA, les données auxquelles on a eu accès n'ont pas permis de faire toutes les comparaisons nécessaires entre sojas conventionnel et transgénique; si cela s'avérait possible, cette analyse mériterait d'être faite.

Il semble aussi utile de poursuivre les travaux sur l'évolution et les perspectives des applications des biotechnologies (au sens large) et de la génomique en agriculture. Il paraît intéressant d'étudier les nouvelles cultures transgéniques récemment commercialisées ou proches de la commercialisation : leur développement selon les pays, leurs facteurs d'adoption ou non, l'évolution de l'acceptabilité et du mouvement de refus, les conséquences de la suspicion à leur égard sur les orientations des acteurs impliqués, leurs impacts agro-économiques, leurs répercussions sociales, etc. L'analyse des impacts des OGM sur l'agriculture en termes de durabilité et de bilan bénéfiques/risques doit également être poursuivie. Il paraît essentiel de mieux analyser leur intérêt *in situ*, tout comme leurs risques, ainsi que ceux liés à leur refus.

Par ailleurs les perspectives des biotechnologies en agriculture et les applications et retombées de la génomique nécessitent aussi des investigations. En effet l'attention est actuellement fort polarisée sur les quelques variétés GM cultivées aujourd'hui, or les applications des biotechnologies en agriculture sont susceptibles d'offrir d'autres possibilités. En quelque sorte il faut éviter que l'arbre des OGM cache ou bloque des perspectives plus larges. S'agissant des seules plantes transgéniques, nombre d'évolutions sont envisageables d'une part grâce à la progression des connaissances en biotechnologie, d'autre part du fait des risques avancés et des critiques exprimées conduisant les acteurs impliqués à chercher à y faire face ; par ailleurs, les applications de la génomique ne sont-elles pas porteuses de nouvelles perspectives ? Autrement dit, il semble important de tenir compte qu'une innovation évolue toujours considérablement entre les tout premiers produits apparus et ceux développés ensuite, en raison des avancées scientifiques et techniques, des évolutions du contexte naturel et socio-économique, et des réactions des acteurs. Il convient de considérer comment et dans quels domaines les applications des biotechnologies et de la génomique seront orientées et utilisées : cette question de la gouvernance des technologies est essentielle.

## Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

- Bonny S. 2003. **Success factors, issues and prospects for the first GM crops: the case of Roundup Ready® soybean in the USA.** 7th ICABR (International Conference on International Consortium on Agricultural Biotechnology Research) conference "Goods and Public Policy for Agricultural Biotechnology", Ravello (Italy), June 29 to July 3, 2003, 20 p.
- Ducorney F. 2003. **Le soja transgénique aux Etats-Unis : facteurs de diffusion et impacts agro-économiques.** Mémoire (sous la direction de S Bonny) pour le Diplôme d'Ingénieur Agronome de l'ENSA Toulouse. Grignon, INRA, UMR d'Economie publique INRA-INAPG, Mémoires et Thèses N° 39, septembre 2003, 82 p. + annexes 71 p.
- Bonny S., Sausse C. 2004. Les cultures transgéniques permettent-elles de réduire l'usage des produits phytosanitaires ? Considérations à partir du cas du soja tolérant au glyphosate. **OCL Oléagineux, Corps gras, Lipides**, Vol 11, No 2, Mars avril 2004, pp. 85-91
- Bonny S. 2004. **L'expansion des cultures transgéniques aux Etats-Unis : quelques enseignements.** Colloque "Régulation des risques, principe de précaution et OGM", organisé par l'INRA-SAE2 et le LERNA (Laboratoire d'Economie des Ressources Naturelles, Toulouse). Paris, 15/12/04 (publié en 2005 en version refondue)
- Bonny S. 2005. Quelle place des cultures transgéniques en protection des plantes ? Aspects agro-économiques. in: C. Regnault-Roger (coord.). **Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement.** Paris, Editions Tec et Doc Lavoisier, pp. 895-917.
- Bonny S. 2005. L'expansion des cultures transgéniques aux Etats-Unis : quelques enseignements. In **INRA Sciences Sociales**, N° spécial "régulation des risques, principe de précaution et OGM", N° 4-5/04, Janvier 2005, 2 p. En version anglaise: The Growth Of Transgenic Crops In The USA: What It Tells Us, in: **INRA Sciences Sociales, English version**, 2005/01, n° 4-5.
- Bonny S. 2005. **Analyse systémique du soja transgénique tolérant au glyphosate. Etude de cas aux Etats-Unis.** Rapport du contrat 02 2 07 00 de l'ACI « Impact des OGM dans les agro-écosystèmes » du Fonds National pour la Recherche. INRA Grignon, UMR Economie Publique, Mars 2005, 73 p.
- Bonny S. 2006. **Les cultures transgéniques : esquisse de bilan 1996-2005 au niveau agro-économique et socio-économique.** Communication au colloque de l'ASF (Association des Sélectionneurs Français de semences) "Maîtrise de la transgénèse et progrès en amélioration des plantes". Paris, 2 février 2006 (à paraître dans le Sélectionneur Français, revue de l'ASF).

## Traçabilité, certification et droits de propriété : la construction incomplète du marché européen des OGM

Présenté par : Egizio VALCESCHINI

Mail : valcesch@inapg.inra.fr

### Titre des projets concernés, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**L'impact des OGM sur les dispositifs d'information et de garantie dans les filières agro-alimentaires: évaluation des dispositifs de caution et de preuves** (2002-04) Egizio VALCESCHINI<sup>1</sup>, Céline GRANJOU<sup>2</sup>  
*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001*

**Les déterminants de l'adoption des semences transgéniques par les agriculteurs européens** (2002-05)  
Egizio VALCESCHINI<sup>1</sup>, Thierry HOMMEL<sup>3</sup>  
*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets 2002 du CNRS*

<sup>1</sup>UMR1048 Systèmes agraires et développement : activités, produits, territoires (SADAPT), INRA/INA PG, Grignon ; <sup>2</sup>CEMAGREF, Grenoble ; <sup>3</sup>Institut Sciences Politiques, Paris

**Mots clefs** : OGM; information; étiquette; filières agro-alimentaires; garantie; preuve; contrôle; organisme certificateur; analyses; coûts; normalisation

### Résumé

La perspective de levée du moratoire européen sur les plantes transgéniques, en 2003 puis en 2004, laissait envisager que les agriculteurs européens pourraient effectivement choisir d'utiliser des semences OGM ou d'autres, non OGM. Cette situation s'apparentait, semble-t-il, à l'« ouverture » du marché européen des semences transgéniques.

A travers l'analyse de cette situation, notre recherche vise à éclairer différents dispositifs non-marchands, organisationnels et juridiques, qui sous-tendent et conditionnent les échanges économiques.

Notre hypothèse était qu'en dépit de la mise en œuvre d'un nouveau cadre réglementaire et, ensuite, de la levée du moratoire, le marché des plantes transgéniques resterait durablement balbutiant en Europe. Selon nous, les nouvelles conditions réglementaires restaient (restent) insuffisantes pour assurer la formation et le fonctionnement d'un marché européen des plantes transgéniques. Nos travaux ont cherché à analyser cette insuffisance en nous concentrant sur deux de ses causes.

La première concerne les dispositifs de contrôle que nous avons analysés, avec Céline Granjou, dans le projet « L'impact des OGM sur les dispositifs d'information et de garantie dans les filières agroalimentaires: évaluation des dispositifs de caution et de preuves ». L'allégation d'une « absence » d'OGM dans les divers ingrédients des produits se heurte à des problèmes particuliers ; du fait de la fiabilité instable des méthodes analytiques de détection des OGM dans les produits d'une part, et du flou juridique de la réglementation (jusqu'en 2004) concernant les obligations mutuelles des opérateurs intermédiaires d'autre part. Au travers d'une approche de sociologie économique, nous avons cherché à caractériser les mécanismes d'une régulation industrielle permettant d'assurer, malgré cette incertitude, les échanges économiques. Comment les entreprises se sont-elles organisées pour satisfaire l'exigence d'une qualification « non OGM » ? Quels types de preuves, d'outils et de dispositifs ont été inventés et exploités pour garantir l'absence d'OGM ? Quel rôle jouent les acteurs tiers, Etat, laboratoires d'analyses et sociétés de certification, dans cette régulation ? Comment les acteurs industriels se sont-ils engagés dans ces démarches, comment les perçoivent-ils et les justifient-ils ?

La seconde a trait à la clarification des droits de propriété, que nous avons mis en évidence avec Thierry Hommel dans le cadre du projet « Les déterminants de l'adoption des semences transgéniques par les agriculteurs européens ». Nous avons étudié la nouvelle réglementation européenne qui organise la mise sur le marché des semences transgéniques et règle la question de leur usage à des fins alimentaires à l'aune de la comparaison entre les Etats-Unis et l'Union européenne, en nous appuyant sur le cadre théorique de l'« Ecole des droits de propriétés ». Il nous a semblé utile de nous référer aux enseignements de cette théorie économique car elle indique que l'existence d'un marché suppose une définition et une allocation complète des droits de propriété aux acteurs.

## Principaux résultats obtenus et applications envisageables

### **Une première série de résultats porte sur la certification et la traçabilité comme instruments de contrôle.**

- La crédibilité de la garantie apportée par la certification provient en principe de l'indépendance et de l'expertise de l'organisme de contrôle. Dans le cas de l'information sur la caractéristique OGM ou non OGM, ces conditions sont insuffisantes, faute de méthodes de contrôle jugées fiables.
- Le succès relatif de la traçabilité ne repose pas sur une véritable clôture de la controverse sur les preuves de l'« absence » d'OGM, mais plutôt sur un compromis conventionnel entre les exigences des entreprises clientes et les investissements consentis par les fournisseurs. Le recours à la certification constitue un mécanisme de régulation privée considéré, au moins localement et temporairement, comme suffisant pour ne pas remettre en cause incessamment les échanges commerciaux, et en tous cas plus satisfaisant que la seule intervention des pouvoirs publics.
- La traçabilité ne se réduit pas à une stratégie ponctuelle ou isolée de certains acteurs face au risque médiatique - suivant le « système du parapluie » - mais correspond à une réorganisation générale des échanges économiques entre entreprises en fonction d'une norme d'anticipation des contestations de l'activité agro-alimentaire.
- En étudiant en parallèle, dans le cas des OGM et celui de la viande bovine, les supports matériels et des investissements quotidiens les dispositifs de traçabilité. Dans le cas de la viande bovine, la mise en place de la traçabilité doit permettre de conserver certaines caractéristiques de l'animal d'origine tout au long des étapes d'élevage, abattage, découpe et transformation. Dans le cas des OGM, la traçabilité vise moins à transmettre une information déjà disponible qu'à apporter des preuves de l'absence d'OGM (afin d'être en situation légale de ne pas étiqueter le produit comme contenant des OGM) : il s'agit alors à la fois de garantir le caractère non génétiquement modifié des semences d'origine et de garantir l'absence de contamination lors des diverses opérations de transformation.

### **Une deuxième série de résultats concerne la régulation juridique du marché.**

- L'encadrement institutionnel du marché demeure imparfait, en ce qu'il ne permet pas plus que son prédécesseur de clarifier les droits de propriété sur les semences transgéniques. Si les droits d'accès et d'usage pour les semences transgéniques sont définis par le nouveau régime de régulation, les règles de responsabilité restent indéterminées. Pour des agriculteurs considérés comme des maximisateurs de profits, les semences OGM restent ainsi des produits plus « risqués » que les semences non OGM.
- L'incomplétude des droits de propriété sur les semences transgéniques, le refus des assureurs de couvrir les éventuelles dommages liés aux contaminations génétiques, sont autant d'éléments qui viennent contrecarrer les efforts réalisés par la Commission européenne afin de donner naissance à un marché des semences transgéniques et à la diffusion des OGM en Europe. Dans une telle situation, et malgré les efforts relatifs à la traçabilité et à l'étiquetage des produits transgéniques, une croissance des surfaces cultivées en semis transgéniques ne doit pas être attendue sur le vieux continent à moyen terme. De ce point de vue, la levée du moratoire ne change donc pas radicalement la donne observée en Europe depuis plusieurs années. Actuellement, et quand bien même des autorisations de mise en culture seraient données pour des semences OGM qui présenteraient des caractéristiques techniques prometteuses, les conditions d'accès au marché restent trop risquées pour un producteur européen.
- La comparaison de la situation européenne et de la situation américaine confirme le précédent résultat. L'Europe a adopté une approche « procédé » pour les autorisations de mise sur le marché des OGM. Elle partage cette conception avec l'Australie. En vertu de cette approche, il y a lieu d'évaluer l'innocuité des OGM sur la santé humaine et l'environnement du fait de leur(s) procédé(s) d'obtention : le recours à des procédés de transgénèse est considéré comme suffisant pour avoir des effets non anticipés sur l'innocuité de la plante cible. Cette approche s'oppose à celle des pays qui ont adopté une approche « produit » (USA, Canada, Argentine, Chine, Japon). Ces pays fondent l'analyse de risque sur le seul principe d'équivalence en substance : les nouveaux produits sont comparés avec des équivalents traditionnels, et seules des différences identifiées au niveau de leurs caractéristiques chimiques peuvent motiver un niveau de contrainte réglementaire spécifique pour le niveau produit.
- Les différences de diffusions observées entre l'Europe et les USA tiendraient en fin de compte de la manière dont les biens sont caractérisés dans la réglementation. On montre comment la prise en compte d'observations scientifiques et d'incertitudes potentielles modifie à la fois les cadrages institutionnels et la possibilité de création d'un marché de biens. Alors qu'aux USA, les OGM ne sont toujours pas une catégorie en soi qu'ils et ne nécessitent pas la création d'un marché spécifique, le fait de les

considérer en Europe comme des biens innovants aux caractéristiques incertaines complexifie la définition des droits de propriété les concernant. Aux USA, l'observation de contaminations croisées en champs devrait conduire à un recadrage réglementaire dont les effets sur le fonctionnement du marché pourraient être similaires à ceux observés en Europe.

### Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI ou de l'appel à projets du CNRS

#### Articles publiés dans périodiques à comité de lecture

- Granjou C., Valceschini E., 2005. L'extension de la traçabilité dans le secteur agro-alimentaire: une nouvelle norme de régulation de la production. *Terrains & Travaux*, dossier spécial « Alimentation », 9, 73-89.
- Granjou C., Valceschini E., 2004. Certifier en situation d'incertitude : le cas des OGM. *Natures Sciences Sociétés*, 12 (2004), 404-412.
- Le Bail M., Valceschini E., 2004. Efficacité et organisation de la séparation OGM/non OGM. *Economies et Sociétés, série « Systèmes agroalimentaires »*, 3/2004, 489-505.

#### Article soumis

- Hommel T., Valceschini E., 2006. Dissemination of GMOs in Europe and the USA. Comparison of institutional frameworks based on the theory of property rights. *Journal of Institutional Economics (JOIE)*.

#### Chapitres d'ouvrage

- Granjou, C., 2004. Traçabilité, étiquetage et émergence du « citoyen-consommateur » : l'exemple des OGM". In : *Au nom du consommateur. Consommation et politique en Europe et aux Etats-Unis au XXème siècle* (dir. A. Chatriot, M-E. Chessel, M. Hilton) La Découverte, 1999-201.
- Valceschini E., 2003. GMO and GMO free products in Europe : problems of organization in the agricultural sector. In : *Proceedings of the 1st European Conference of the Co-existence of Genetically Modified Crops with Conventional and Organic Crops*, GMCC-03, 13-14 november, Denmark., 33-42.

#### Conférences dans congrès ou symposium

- Hommel T., Valceschini E., 2004. Marché des OGM et indétermination des droits de propriété. Effets sur l'adoption des OGM par les agriculteurs. Colloque international de l'AIEA2 *Développement durable et globalisation dans l'agroalimentaire*, 23-24 août, Québec, 19 p.
- Valceschini E., 2004. *Une organisation efficace de la séparation des filières OGM et non OGM*. Premier Congrès Traçabilité 2004, 27-29 janvier 2004, Cnit La Défense, Paris.
- Valceschini E., 2003. GMO and GMO free products in Europe : problems of organization in the agricultural sector. **Invited paper**, Conference introductive, *1st European Conference of the Co-existence of Genetically Modified Crops with Conventional and Organic Crops*, GMCC-03, 13-14 november, Denmark.

#### Rapports diplômants

- Granjou C., 2004. *La gestion du risque entre technique et politique. Comités d'experts et dispositifs de traçabilité à travers les exemples de la vache folle et des OGM*. Thèse de doctorat de sociologie, spécialité sociologie des sciences, Université René Descartes Paris 5, Ecole doctorale « Education, langages, sociétés ». Jury : Jean-Michel Berthelot (directeur de thèse), Alain Bourdin, Claude Gilbert, Bernard Valade, Egizio Valceschini, Dominique Vinck.
- Sarrauste de Menthère A., 2004. *Les déterminants de la trajectoire de diffusion des cultures OGM en Europe*. Mémoire de DAA "AGER", INA Paris-Grignon (co-encadrement avec T. Hommel), 66 p.

#### Conférences et interventions (grand public)

- Débat public (avec E. Valceschini, B. Chevassus-au-Louis, M. Dufumier) « *Les OGM en question* ». Conseil Régional d'Auvergne, Aurillac, 13 mai 2006.
- (avec E. Valceschini, A. Apotheker, M. Gracien, A. Messean) *La coexistence OGM/non OGM*. Les débats de l'AGRO, INA Paris-Grignon, 13 février 2006, Paris.
- E. Valceschini, *Opinions et comportements des consommateurs face aux OGM*. Débat régional public sur les OGM « Modifier les organismes vivants ? Comprendre pour décider ensemble ». Association pour le Développement de la Recherche et de la Technologie en Picardie (ADRTP), Conseil Régional de Picardie, 30 juin 2005, Amiens.
- E. Valceschini, *Faisabilité économique et technique des filières non OGM*. Assises régionales « Préserver une alimentation non OGM en Basse-Normandie ? », 29 septembre 2004, Lycée Le Robillard, Saint-Pierre sur Dives.
- Granjou, C., *Traçabilité, étiquetage et émergence du « citoyen-consommateur : l'exemple des OGM*. Restitution aux industriels du colloque « Au nom du consommateur » organisée par le CIREID, Lille, 16 juin 2004.

#### Médias

- T. Hommel, E. Valceschini : *Vivant. L'actualité des sciences et débats sur le vivant*. Revue électronique <http://www.vivantinfo.com/numero8>, janvier 2005, Les impasses du marché européen des OGM.



## Stratégies de collecte pour la séparation des filières OGM et non OGM

Présenté par : François COLENO  
Mail : coleno@grignon.inra.fr

### Titre des projets concernés, Coordonnateurs

**Evaluer la relation entre modes de contrôle de gestion inter-firmes et organisation de la chaîne logistique amont dans les stratégies de séparation des filières OGM et non OGM (2005-07),**  
François COLENO<sup>1</sup>, Marianne LE BAIL<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2004*

<sup>1</sup>UMR1048, Systèmes agraires et développement : activités, produits, territoires (SADAPT), INRA/INA PG, Grignon

**Mots clefs** : chaîne logistique, séparation, stratégie.

### Résumé

Nous proposons plusieurs stratégies d'organisation de la collecte pour le maïs Bt reposant sur une séparation spatiale ou temporelle des productions OGM et non OGM. Pour évaluer ces stratégies nous avons construit deux modèles de simulation : l'un des flux physiques dans les Entreprises de Collecte Stockage et l'autre des choix de culture de l'agriculteur.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Deux études de cas menées sur la séparation de filières existantes (maïs amidonnier et semoulier, colza érucique et non érucique) dans deux entreprises de collecte et de stockage (ECS) d'Alsace et de Beauce nous ont permis d'identifier que la séparation des colzas ne pose a priori pas de problème de gestion du fait d'infrastructures surdimensionnées (car utilisées pour des cultures plus importantes comme le blé ou le maïs). Au contraire, la séparation du maïs utilise des infrastructures dimensionnées au plus juste et pose donc des problèmes de gestion. Le silo de collecte et le séchoir constituent des goulots d'étranglement pouvant occasionner des mélanges entre produits. Il est nécessaire de concevoir des arbitrages pour minimiser les mélanges à ces nœuds de la chaîne et de proposer des stratégies de collecte permettant d'éviter autant que possible les risques de mélange. Nous avons ainsi identifiés deux stratégies : (i) une stratégie temporelle qui consiste à allouer l'ensemble des infrastructures à un type de produit (OGM et non OGM) pour une plage de temps donnée sur la durée de la collecte. (ii) une stratégie spatiale qui consiste à allouer une partie des silos et des séchoirs de manière exclusive à l'une ou l'autre des productions. Afin d'évaluer et de comparer ces stratégies nous avons eu recours à la modélisation. Deux modèles ont été construits : un modèle simulant le fonctionnement de la collecte au sein de ECS et un modèle représentant le choix de l'agriculteur en matière de production OGM ou non OGM pour chaque parcelle, en fonction des stratégies de l'ECS.

**La simulation de la collecte au niveau de l'ECS** vise à calculer les quantités de maïs OGM et non OGM séchés, en sortie du processus de collecte, au regard des quantités de produits livrées en entrée du processus. Le modèle se compose de trois modules représentant les principaux goulots d'étranglements de la collecte : les silos, les séchoirs et le transport. Les silos sont constitués de 4 cellules de contenances fixes. Les séchoirs sont constitués de deux cellules d'attente et d'un séchoir ayant une capacité de séchage. Un lot séché est considéré comme OGM s'il contient une quantité quelconque d'OGM ou bien s'il s'agit d'un lot non OGM séché immédiatement après un lot OGM. Deux modalités de gestion sont considérées dans les deux premiers modules. L'une vise à éviter autant que possible les mélanges entre produits OGM et non OGM, l'autre consiste à minimiser les coûts de transformation (stockage et séchage). Leur traduction pour chacun des modules est présentée dans le tableau ci-dessous.

modalités	silo	séchoir
Eviter les mélanges	Refuser une livraison si elle occasionne un mélange et la reporter au pas de temps suivant	Constituer des lots homogènes et éviter les changements de produits entre pas de temps
Minimiser les coûts	Eviter si possible les mélanges, sinon utiliser toutes les capacités de stockages	Utiliser le séchoir au maximum de sa capacité en mélangeant si c'est nécessaire.

Le transport vise à acheminer les produits collectés des silos aux séchoirs en minimisant les coûts de transport et en privilégiant les quantités collectées le plus tôt (règle du First In First Out).

Nous avons simulé une collecte de 100000 t d'OGM et 50000 t de « non OGM » sur 3 mois avec 10 silos de 400 t chacun et deux séchoirs d'une capacité de 850 tonnes par jour. Outre les deux stratégies, nous avons simulé le cas d'une absence de planification, les quantités de produits étant alors acceptées dans leur ordre d'arrivée. Dans ce cas, la part de maïs non OGM contaminée par de l'OGM varie de 51 à 70% tout l'OGM étant traité. Pour une stratégie spatiale tous les lots non OGM peuvent être traités mais seuls 80% des OGM sont traités, un seul séchoir étant dédié aux OGM. Dans le cas d'une stratégie temporelle 7 à 20 % des lots non OGM sont contaminés, tout les OGM pouvant être traités.

**Le modèle de simulation des choix des agriculteurs** est basé sur la maximisation de l'espérance de gain de l'agriculteur par parcelle. Celle-ci s'exprime sous la forme suivante :  $Gain = Rdt * Prix * (Pénalité * proba_{pluie} + 1 - proba_{pluie}) - C_s - C_t - d * C_{tr} * Rdt$  Où Rdt est le rendement attendu,  $C_s$ ,  $C_t$  et  $C_{tr}$  les coûts respectif de semence, de traitement et de transport, d la distance au silo,  $proba_{pluie}$  la probabilité qu'il pleuve durant la période collecte du produit et « Pénalité » la pénalité représentant la dégradation de qualité due à la pluie. Ces deux dernières valeurs étant nulles dans le cas d'une stratégie spatiale. Une parcelle est considérée commeensemencée en OGM si le gain OGM est supérieur au gain non OGM.

En adoptant un coût de transport de 0.024 €/t/km (Comité National Routier, 2006), une différence de prix de 6.75% et une différence de rendement de 7% entre l'OGM et le non OGM (Betbesé, 2006) et un coût de semence et de traitement de 223€/ha en OGM et 192 €/ha en non OGM et un cout de traitement de 24€/ha et en utilisant les données météo de Colmar, nous avons simulés l'affectation des cultures à un parcellaire de 10 km<sup>2</sup>. Dans le cas d'une stratégie spatiale 53% des parcelles sontensemencées en OGM alors que la stratégie temporelle conduit à des paysages homogènes (production OGM ou non OGM) selon le type de produit qui dispose de la plage de collecte la plus courte. L'introduction d'un concurrent acceptant tout type de produits ramène, pour cette stratégie, la proportion de parcelles OGM à 30 % si les OGM bénéficient de la plage de collecte la plus faible.

## Références

Betbesé I Lucas J.A. (2006) : Varietats de panís. DOSSIER TÈCNIC, Ruralcat

Comité National Routier (2006) : simulateur de prix de revient transport régionaux.

## Perspectives

A partir de ces deux modélisation nous souhaitons analyser les conséquences des stratégies sur les contaminations inter parcellaires et le taux de contamination des silos non OGM. Pour cela nous envisageons de connecter les modèles présentés ici avec un modèle de prédiction des contaminations parcellaire entre maïs OGM et non OGM (MAPOD).

## Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

Coléno F.C., Le Bail M., Raveneau A. (2005) : Segregation of GM and non GM production at the primary production Level. Messean A. ed : proceeding of the second international conference on co-existence between GM and non GM based agricultural supply chain. Montpellier (FRA), 2005/11/14-15. pp 169-172

## Evolution du volet Sciences Sociales de l'appel à projets de l'ANR en 2005 et 2006

Présenté par : Pierre-Benoît JOLY  
Mail : joly@ivry.inra.fr

UR 1216 Transformations Sociales et Politiques liées au Vivant (TSV)  
Institut National de la Recherche Agronomique

### Résumé

Avec la mise en place du Programme OGM de l'ANR, le Conseil Scientifique et le Conseil d'Orientation Stratégique ont conduit une réflexion générale sur les nouvelles priorités de ce programme de recherche, étant entendu que celui-ci s'inscrit dans le prolongement d'appels d'offre soutenus d'abord par l'INRA, puis par le CNRS et enfin par le ministère en charge de la recherche. Concernant la place des sciences sociales dans le nouveau programme de recherche, les discussions ont assez vite convergé sur une conviction et sur un constat :

- le dossier des OGM pose des questions fondamentales pour les sciences sociales, concernant notamment les transformations des rapports entre science et société, entre science et politique, entre science et marché. Il nous semblait donc essentiel que les sciences sociales trouvent dans le programme OGM de l'ANR un espace adéquat et les ressources nécessaires pour aborder ces questions fondamentales dans des perspectives larges ;
- l'expérience des appels d'offre précédents conduisait à constater que cette volonté butte sur la difficulté à mobiliser les sciences sociales : le nombre de projets reçus était faible, et ces projets étaient de dimension modeste par rapport aux projets des équipes de biologistes. On peut noter que ce problème de mobilisation des sciences sociales n'est d'ailleurs pas spécifique au programme OGM.

Pour l'appel à projets lancé en 2006, la reformulation du volet sciences sociales a cherché à mettre l'accent sur des thématiques dont l'importance est indéniable pour le dossier des OGM, mais qui ont une portée plus générale et qui conduisent à aborder des questions génériques. Ainsi, en complément du volet « co-existence OGM / non OGM » déjà présent dans les précédents appels, nous avons mis l'accent sur des thématiques nouvelles : formes de gouvernance de l'innovation et des risques ; enjeux internationaux ; analyse des nouveaux enjeux issus des progrès de la biologie (Voir encadré).

• **AXE 1 : Eclairer les enjeux économiques, éthiques, juridiques et sociaux.** Cet appel à projets entend renforcer la mobilisation des sciences sociales entendues au sens large : l'économie, la sociologie, le droit, les sciences politiques, la philosophie et l'éthique. Des projets sont notamment attendus dans quatre domaines particuliers, qui ne sont toutefois pas exclusifs :

– *Co-existence OGM / non OGM et responsabilité.* Dans l'hypothèse d'une large diffusion des cultures d'OGM sur le territoire européen, certaines questions d'ordre juridique (notamment les obligations d'information et les problèmes de responsabilité) conditionneront la co-existence entre plantes transgéniques et agriculture conventionnelle ou biologique. Des projets concernant l'analyse des principes généraux du droit, des dispositions spécifiques relatives aux OGM et de leurs implications dans des conditions de parcellaire et d'organisation socio-économique variées, sont donc attendus.

– *Formes de gouvernance de l'innovation et des risques.* La conception et l'utilisation des OGM posent de nombreuses questions concernant l'action publique : rôle de la science et de l'expertise dans les décisions publiques, participation du public, imbrication des logiques d'acteurs publics et privés, interactions entre différents niveaux de décision (local, national, européen, international)... Ces questions de gouvernance pourront faire l'objet de propositions visant à éclairer des aspects très locaux (par exemple sur le rôle des élus locaux) ou des comparaisons internationales.

– *Enjeux internationaux.* La large diffusion des cultures de plantes génétiquement modifiées dans plusieurs régions du monde a déjà d'importantes conséquences pour les filières agroalimentaires mais aussi pour les échanges et les règlements internationaux ainsi que pour la gestion de la propriété intellectuelle. Il est nécessaire de mieux connaître cette géopolitique des OGM et d'en apprécier les conséquences économiques, sociales et environnementales de court et long termes.

– *Analyse des nouveaux objets issus des progrès de la biologie.* Les fronts de connaissance en biologie remettent en cause certaines catégories ontologiques (la distinction entre naturel et artificiel, par exemple) et conduisent à réinterroger des notions ou des approches qui semblaient aller de soi (notion de gène, importance des facteurs épigénétiques, etc). On attend que des chercheurs en histoire ou sociologie des sciences, ou en épistémologie, contribuent à l'analyse des interactions complexes entre l'évolution des connaissances biologiques, les représentations sociales et la construction des cadres normatifs.



On peut considérer que ce nouveau positionnement a porté ses fruits. Près de la moitié des projets reçus comportaient un volet de sciences sociales ; un tiers des projets reçus étaient coordonnés par des chercheurs en sciences sociales. Les projets sont plus ambitieux qu'ils ne l'étaient jusqu'à présent, mobilisent un plus grand nombre d'équipes, sont souvent interdisciplinaires et, dans quelques cas, comportent une dimension internationale. Cette mobilisation des sciences sociales ne tient sans doute pas uniquement au repositionnement thématique ; la visibilité de l'axe sciences sociales, placé en tête de l'appel d'offres –alors que c'est systématiquement le dernier des axes dans des programmes interdisciplinaires- et l'attrait des financements de l'ANR ont probablement aussi joué dans ce sens. Néanmoins, les trois projets sélectionnés s'inscrivent dans les nouvelles thématiques de l'appel à projet 2006.

Il est aussi significatif que certains projets coordonnés par des biologistes aient réservé une place importante aux recherches en sciences sociales. Ainsi, bien que ce ne soit pas une condition impérative, le programme a suscité des rapprochements interdisciplinaires, tant dans des projets portés par des chercheurs en sciences sociales que dans des projets portés par des biologistes.

Ces résultats encourageants inciteront probablement le comité scientifique et le comité stratégique à poursuivre dans le sens des orientations adoptées en 2006.

**Titre des projets entrant dans le volet Sciences Sociales des appels à projets ANR 2005 et 2006 (Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées) :**

**Quelle gouvernance pour le commerce international des OGM ? (2005-03), Christophe CHARLIER<sup>1</sup>**

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2005*

<sup>1</sup>UMR 6227 Groupe de Recherche en Droit, Economie et Gestion (DEMOS/GREDEG), Univ. de Nice/CNRS, Valbonne

**OGM et concurrence en amont de l'agriculture: analyse des effets économiques des pratiques commerciales des firmes de semences, pesticides et biotechnologies végétales (2005-06), Stéphane LEMARIÉ<sup>1</sup>**

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2005*

<sup>1</sup>UMR1215 Économie appliquée de Grenoble (GAEL), INRA / UPMF, Grenoble

**GICOGM - La gouvernance internationale du commerce des OGM. Entre le face-à-face Etats-Unis / Union Européenne et la stratégie des acteurs économiques des PED (2007-08), Christophe CHARLIER<sup>1</sup>, Laurence BOY<sup>2</sup>, Michel FOK<sup>3</sup>, Eve TRUILHE-MARENGO<sup>4</sup>, Christophe BONNEUIL<sup>5</sup>, Josemar Xavier DE MEDEIROS<sup>6</sup>**

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

<sup>1</sup>UMR 6227 Groupe de Recherche en Droit, Economie et Gestion (DEMOS/GREDEG), Univ. de Nice/CNRS, Valbonne ; <sup>2</sup>UMR 6727 Groupe de Recherche en Droit, Economie et Gestion (CREDECO/GREDEG), Univ. de Nice Sophia Antipolis/CNRS, Valbonne ; <sup>3</sup>UPR 10, Systèmes cotonniers en petits paysannats, CIRAD, Montpellier ; <sup>4</sup>UMR 6201 Droit public comparé, droit international et européen (CERIC/CNRS), Aix-en-Provence ; <sup>5</sup>UMR 8560 Centre Alexandre Koyré - Centre de Recherche en Histoire des Sciences et des Techniques, CNRS, Paris ; <sup>6</sup>Universidade de Brasilia (GECOMP)

**OBSOGM - Formes de mobilisation et épreuves juridiques autour des OGM en France et Europe. Construction et mise en œuvre d'un observatoire sociologique informatisé (2007-09), Francis CHATEAURAYNAUD<sup>7</sup>, Didier TORNAY<sup>8</sup>, Marie-Angèle HERMITTE<sup>9</sup>**

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

<sup>1</sup>Groupe de Sociologie Pragmatique et Réflexive (GSPR), Ecole des Hautes Etudes en Sciences Sociales (EHESS) ; <sup>2</sup>UR 1216, Transformations Sociales et politiques liées au Vivant (TSV), INRA ; <sup>3</sup>UMR 8103 Centre de Recherche en Droit des Sciences Techniques - droit Comparé, CNRS

**COBINA - Connaissances biologiques et normes d'action publique (2007-09), Pierre-Benoît JOLY<sup>1</sup>, Christophe BONNEUIL<sup>2</sup>, Jean-Paul GAUDILLIERE<sup>3</sup>, Marie-Angèle HERMITTE<sup>4</sup>, Jane CALVERT<sup>5</sup>, Jean-Paul RENARD<sup>6</sup>, Anne-Marie CHEVRE<sup>7</sup>**

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

<sup>1</sup>UR 1216 Transformations Sociales et Politiques liées au Vivant (TSV), INRA ; <sup>2</sup>UMR 8560 Centre Alexandre Koyré - Centre de Recherche en Histoire des Sciences et des Techniques, CNRS, Paris ; <sup>3</sup>UMR 8169 CERMES, CNRS/INSERM ; <sup>4</sup>UMR 8103 Centre de Recherche en Droit des Sciences Techniques - droit Comparé, CNRS ; <sup>5</sup>ESRC Centre for Genomics in Society, Université d'Exeter, Exeter, UK ; <sup>6</sup>UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction (BDR), INRA-CNRS-ENVA, Jouy en Josas ; <sup>7</sup>UMR118 Amélioration des plantes et biotechnologies végétales (APBV), INRA/AgroCampus Rennes, Rennes

**Résumés des projets soutenus en 2005 et 2006 dans le cadre  
du volet Sciences Sociales du programme ANR-OGM**



## La gouvernance internationale du commerce des OGM. Entre le face-à-face Etats-Unis / Union Européenne et la stratégie des acteurs économiques des PED

Coordonnateur : **Christophe CHARLIER**  
Mail : charlier@gredege.cnrs.fr

**Titre des projets entrant dans le volet Sciences Sociales des appels à projets ANR 2005 et 2006 (Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées) :**

**Quelle gouvernance pour le commerce international des OGM ? (2005),** Christophe CHARLIER<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2005*

**GICOGM - La gouvernance internationale du commerce des OGM. Entre le face-à-face Etats-Unis / Union Européenne et la stratégie des acteurs économiques des PED (2007-08),** Christophe CHARLIER<sup>1</sup>, Laurence BOY<sup>2</sup>, Michel FOK<sup>3</sup>, Eve TRUILHE-MARENGO<sup>4</sup>, Christophe BONNEUIL<sup>5</sup>, Josemar Xavier DE MEDEIROS<sup>6</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

<sup>1</sup>UMR 6227 Groupe de Recherche en Droit, Economie et Gestion (DEMOS/GREDEG), Univ. de Nice/CNRS, Valbonne ; <sup>2</sup>UMR 6727 Groupe de Recherche en Droit, Economie et Gestion (CREDECO/GREDEG), Univ. de Nice Sophia Antipolis/CNRS, Valbonne ; <sup>3</sup>UPR 10, Systèmes cotonniers en petits paysannats, CIRAD, Montpellier ; <sup>4</sup>UMR 6201 Droit public comparé, droit international et européen (CERIC/CNRS), Aix-en-Provence ; <sup>5</sup>UMR 8560 Centre Alexandre Koyré - Centre de Recherche en Histoire des Sciences et des Techniques, CNRS, Paris ; <sup>6</sup>Universidade de Brasilia (GECOMP)

---

**Mots clefs :** OGM, OMC, Gouvernance internationale, Protectionnisme non tarifaire, Sécurité alimentaire, Gestion des risques, Différend commercial sur les biotechnologies

---

### Résumé

#### Projets 2005 et 2006

Les projets 2006 et 2005 sont directement liés. Le projet 2005 a en effet reçu un financement incitatif d'un an accompagné de la recommandation de développer la problématique envisagée et de lui donner un caractère plus structurant. Le projet 2006 (GICOGM), dont le résumé est présenté ici, est le résultat de ce travail.

La croyance selon laquelle le commerce des aliments génétiquement modifiés allait se développer une fois le moratoire européen sur le commerce des OGM levé, ne s'est pas vérifiée. L'explication généralement avancée pointe les réticences des consommateurs européens à l'égard des aliments OGM. Les firmes craindraient, face à des consommateurs attentifs et informés, de mettre en jeu leur image de marque et leur responsabilité en commercialisant des produits OGM. La réaction d'un certain nombre de producteurs de variétés traditionnelles dans ce contexte a été de développer des stratégies dites de « préservation de l'identité » garantissant l'absence totale d'OGM. Cette stratégie ne concerne pas les seuls aliments. Une filière « coton bio », par exemple, a pu être développée.

Le constat de réticence des consommateurs est remis en cause par des études empiriques récentes. La contradiction scientifique qu'apportent ces études scientifiques ne permet pas cependant d'éclairer l'absence de circulation des OGM sur les marchés et laisse, par conséquent, les déterminants de la politique de préservation de l'identité dans l'ombre.

Le but de ce projet de recherche est d'expliquer ces deux éléments en se démarquant d'une analyse centrée sur les comportements des consommateurs pour montrer que l'évolution des marchés européens des aliments génétiquement modifiés est placée sous l'influence conjointe de deux cadres réglementaires en construction. Le premier est le mode de gouvernance du commerce international des OGM. Le second est le cadre réglementaire européen en matière de sécurité sanitaire des aliments avec des dispositions particulières pour le cas des OGM.

**Cinq voies d'approche complémentaires seront privilégiées :**

La première voie propose l'étude du règlement du différend en cours sur les OGM opposant les Etats-Unis, le Canada et l'Argentine à l'Union Européenne. Il s'agira de saisir comment le rapport du groupe spécial va orienter les politiques de gestion des risques dans le cas des OGM au niveau international pour la phase de mise sur le marché. Si le face-à-face Etats-Unis/Union Européenne constituera le cœur de cette analyse, une attention particulière sera accordée à la plainte de l'Argentine et aux communications des tierces parties (Chine et Chili) de manière à caractériser aussi la position des PED dans ce différend commercial.

Une comparaison des pratiques en matière de gestion des risques existantes en Europe aux Etats-Unis et dans des PED clés (Argentine, Brésil, Inde) sera effectuée. Une attention particulière sera accordée dans ce champ à la traçabilité et à l'étiquetage des OGM ainsi qu'aux dispositions encadrant la responsabilité des exploitants des filières OGM. En outre, une comparaison des stratégies de préservation d'identité « non OGM » dans les cas de deux produits faisant l'objet d'un commerce international, l'un alimentaire (soja Brésil), l'autre non alimentaire (coton Inde), sera menée.

De manière complémentaire aux deux voies de recherche précédentes, une analyse sera proposée sur les acceptions différentes, qui coexistent au niveau international, des catégories et des épreuves de la gestion des risques posés par les OGM (y compris autour de la définition précise des épreuves permettant de juger de l'équivalence en substance). Ce type d'étude permettra d'éclairer sous un autre angle (plus sociologique) la difficulté que revêt l'harmonisation des règles au niveau international.

L'étude des réseaux d'acteurs et des stratégies des firmes multinationales sera menée. Celle-ci aura pour but de comprendre le rôle de ces réseaux dans l'élaboration et l'harmonisation des réglementations concernant le commerce des OGM.

Enfin, de manière complémentaire, une étude sera proposée sur l'adaptation des gouvernances locales ou régionales à la gouvernance internationale en soulignant les enjeux économiques, juridiques, éthiques et sociaux qu'une telle adaptation revêt. Le cas du soja (Brésil et Argentine) exporté vers l'Europe sera ici retenu comme application.

## **OGM et concurrence en amont de l'agriculture: analyse des effets économiques des pratiques commerciales des firmes de semences, pesticides et biotechnologies végétales**

**Coordonnateur : Stéphane LEMARIÉ**  
Mail : lemarie@grenoble.inra.fr

**Titre du projet entrant dans le volet Sciences Sociales des appels à projets ANR 2005 et 2006 (Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées) :**

**OGM et concurrence en amont de l'agriculture: analyse des effets économiques des pratiques commerciales des firmes de semences, pesticides et biotechnologies végétales (2005-06), Stéphane LEMARIÉ<sup>1</sup>**

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2005*

<sup>1</sup>UMR1215 Économie appliquée de Grenoble (GAEL), INRA / UPMF, Grenoble

---

**Mots clefs :** Agriculture, OGM, Semence, Pesticide, Politique de concurrence, Relation verticale, Ventes liées, Licence, Fusion

---

### **Résumé**

L'objectif de ce projet est d'étudier les problèmes économiques de concurrence posés par la commercialisation des OGM, et les politiques publiques qui permettent d'en limiter les effets. Plus précisément, il s'agit d'analyser les effets économiques des pratiques commerciales mise en oeuvre pour commercialiser les OGM, et d'étudier dans quelle mesure ces pratiques et leurs effets sont affectés par les fusions entre les entreprises concernées. Les pratiques commerciales sont d'une part les licences signées entre les firmes de biotechnologie et les semenciers, et d'autre part les pratiques de ventes liées entre OGM et pesticides.

Les OGM concernés par ce projet sont ceux qui ont été très majoritairement commercialisés jusque là et qui présentent des caractères de protection des plantes (résistance aux insectes, tolérance à un herbicide total).

Le problème est abordé à la fois sur le plan empirique avec une étude de terrain et sur le plan théorique avec le développement d'un modèle dans lequel ces deux pratiques sont déterminées conjointement. L'intérêt de la modélisation est de pouvoir analyser dans quelle mesure les pratiques commerciales mises en oeuvre sont anticoncurrentielles. L'intérêt à conduire une analyse empirique en parallèle au développement du modèle est de pouvoir fournir des éléments pour apprécier la validité du modèle.

Ce projet se déroule sur deux ans et comprend deux volets qui seront conduits en parallèle. Le premier volet est empirique et comprend une description de la situation nord-américaine, une comparaison des contextes français et nord-américains, et une présentation des décisions prises par les autorités publiques dans ce domaine. Le deuxième volet consiste à développer une modélisation des interactions stratégiques entre les firmes de ce secteur. L'objectif est d'analyser les principaux déterminants du choix des pratiques commerciales, et en particulier l'effet des choix de fusion sur ces pratiques.



## **OBSOGM - Formes de mobilisation et épreuves juridiques autour des OGM en France et Europe. Construction et mise en œuvre d'un observatoire sociologique informatisé**

**Coordonnateur : Francis CHATEAURAYNAUD**  
Mail : chateau@msh-paris.fr

**Titre du projet entrant dans le volet Sciences Sociales des appels à projets ANR 2005 et 2006 (Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées) :**

**OBSOCIOGM - Formes de mobilisation et épreuves juridiques autour des OGM en France et Europe. Construction et mise en œuvre d'un observatoire sociologique informatisé (2007-09), Francis CHATEAURAYNAUD<sup>1</sup>, Didier TORNY<sup>2</sup>, Marie-Angèle HERMITTE<sup>3</sup>**

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

<sup>1</sup>Groupe de Sociologie Pragmatique et Réflexive (GSPR), Ecole des Hautes Etudes en Sciences Sociales (EHESS) ; <sup>2</sup>UR 1216, Transformations Sociales et politiques liées au Vivant (TSV), INRA ; <sup>3</sup>UMR 8103 Centre de Recherche en Droit des Sciences Techniques - droit Comparé, CNRS

---

**Mots clefs :** sociologie, droit, controverses, mobilisations, corpus textuels

---

### **Résumé**

Depuis le début des années 1990, le dossier des OGM occupe une des premières places dans la hiérarchie des objets d'alertes et de controverses. L'accumulation d'événements, d'études, de mobilisations, de débats publics et de décisions a engendré une masse documentaire considérable face à laquelle il est de plus en plus difficile d'apprécier la portée de chaque nouvelle contribution, qu'il s'agisse de tentative de synthèse, de nouvelle expertise ou de production de nouveaux arguments. En prenant appui sur une longue expérience de traitement de grands dossiers d'alertes et de risques, on se propose de reconstruire le corpus des OGM, en français et en anglais, et d'organiser son suivi pour les années futures, de façon à permettre une meilleure lisibilité des rapports de forces, des jeux d'acteurs et d'arguments. Il s'agit à la fois de permettre de relire les séries passées, de caractériser adéquatement la configuration présente et de discerner les potentialités futures. Pour y parvenir on aura recours à des instruments spécifiques, nés au cœur de la sociologie pragmatique, et permettant la description et l'analyse de grands dossiers complexes, marqués par la pluralité des auteurs-acteurs, la prolifération des arènes et des événements, et partant par une forte incertitude quant à leurs développements futurs. A travers les logiciels Prospéro et Marlowe, on comparera utilement le cas des OGM à d'autres grands dossiers, comme les pesticides, la vache folle, la grippe aviaire, l'amiante, le nucléaire, ou encore les nanotechnologies.

Trois lignes problématiques principales serviront de fil conducteur pour bien saisir ce qui est à l'œuvre dans le dossier des OGM : on s'intéressera en premier lieu à l'évolution des formes de protestation, ce dossier ayant fonctionné comme un véritable laboratoire en monde ouvert pour le retour de la critique et de l'action radicale ; à un second niveau, on regardera comment opère la pluralité des formes juridiques et des arènes judiciaires auxquelles ont recours les protagonistes ; enfin, on examinera les ressorts de la dimension cosmopolitique de ce dossier en vertu de laquelle de multiples localités se trouvent mises en réseau et plongées dans un espace de mobilisation globalisé tout en posant de sérieux problèmes de cadrage national. Ces trois fils permettront de saisir à la fois les contraintes qui pèsent sur les différents acteurs et les doctrines qu'ils développent sur les différents aspects du dossier, qu'il s'agisse de l'usage du principe de précaution ou des grands thèmes écologiques, des modèles de production agricole et de consommation, de philosophie de la biologie ou de droit du vivant, des enjeux économiques et des rapports de force politiques, des formes de démocratie ou du rôle de la recherche et de l'expertise.

A travers la mise en commun des corpus et des outils d'analyse, les trois laboratoires partenaires (le GSPR, TSV et l'UMR droit comparé) croiseront des compétences issues de plusieurs disciplines : seront convoqués en effet tour à tour la sociologie, la science politique, l'économie, le droit, les sciences de l'environnement et l'informatique. Le produit principal de cette recherche collective sera non seulement un important corpus, directement consultable via des outils informatisés de haut niveau, mais aussi un espace coopératif permettant à de multiples interlocuteurs de lancer de nouvelles enquêtes, de proposer des grilles d'analyse et d'organiser des controverses. Destiné à suivre en toute indépendance l'ensemble des acteurs, de prendre



au sérieux tous les arguments et de consigner les événements marquants du dossier, ce dispositif n'aura pas vocation à trancher entre un impératif de consensus ou la nécessité d'un dissensus – partage que l'on voit se réengendrer sur de multiples dossiers marqués par la lutte entre des « anti » et des « pro » (eg. le nucléaire et les nanotechnologies). Il fonctionnera plutôt comme un outil collectif permettant, à partir de sources ouvertes, l'explicitation des points d'accord et de désaccord, et favorisant par la même la réappropriation de l'épaisseur du dossier, de ses enjeux passés, présents et futurs, par les nouvelles générations, aussi bien de chercheurs que de citoyens.

## COBINA - Connaissances biologiques et normes d'action publique

Présenté par : Pierre-Benoît JOLY

Mail : joly@ivry.inra.fr

**Titre du projet entrant dans le volet Sciences Sociales des appels à projets ANR 2005 et 2006 (Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées) :**

**COBINA - Connaissances biologiques et normes d'action publique** (2007-09), Pierre-Benoît JOLY<sup>1</sup>, Christophe BONNEUIL<sup>2</sup>, Jean-Paul GAUDILLIERE<sup>3</sup>, Marie-Angèle HERMITTE<sup>4</sup>, Jane CALVERT<sup>5</sup>, Jean-Paul RENARD<sup>6</sup>, Anne-Marie CHEVRE<sup>7</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

<sup>1</sup>UR 1216 Transformations Sociales et Politiques liées au Vivant (TSV), INRA ; <sup>2</sup>UMR 8560 Centre Alexandre Koyré - Centre de Recherche en Histoire des Sciences et des Techniques, CNRS, Paris ; <sup>3</sup>UMR 8169 CERMES, CNRS/INSERM ; <sup>4</sup>UMR 8103 Centre de Recherche en Droit des Sciences Techniques - droit Comparé, CNRS ; <sup>5</sup>ESRC Centre for Genomics in Society, Université d'Exeter, Exeter, UK ; <sup>6</sup>UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction (BDR), INRA-CNRS-ENVA, Jouy en Josas ; <sup>7</sup>UMR118 Amélioration des plantes et biotechnologies végétales (APBV), INRA/AgroCampus Rennes, Rennes

**Mots clefs :** Normes, brevets, évaluation des risques, épigénétique, expérimentation politique

### Résumé

L'objet de ce projet est d'aborder l'articulation entre science et politique à travers les questions que posent les interactions entre connaissances scientifiques et normes d'action publique dans le domaine du vivant, et plus particulièrement des applications du génie génétique. Il vise ainsi à analyser les relations complexes entre, d'un côté, pratiques et concepts scientifiques et, de l'autre, la mise en place de normes d'action publique mobilisant tout ou partie de ces concepts.

Pour ce faire, l'analyse proposée repose sur différents éléments. Elle se fonde tout d'abord sur la généalogie de quelques-uns des principaux concepts (gène, OGM, clonage, espèce, ...) qui conditionnent les normes encadrant les recherches sur le vivant et qui régulent l'utilisation de leurs résultats. Elle vise à ensuite à identifier les principaux lieux de discussion sur les normes (sociétés savantes, organisations internationales, offices de brevets, comités d'éthique, ...), les principaux acteurs qui les peuplent ainsi que les procédures de négociation et d'expertise qui caractérisent le fonctionnement de ces arènes. Une attention toute particulière sera apportée, dans leur analyse, aux modalités de circulation des concepts depuis la sphère scientifique jusqu'à la sphère politique et normative, ainsi qu'aux différences de temporalité et de rapport à l'erreur qui caractérisent ces deux univers (temps long du droit, et difficile réversibilité des décisions déjà prises ; temps plus court de la science, et capacité supérieure de remise en cause des concepts). Enfin, ce projet entend interroger, à travers l'analyse de corpus rassemblant les textes aujourd'hui en vigueur, la production normative existante ainsi que ses conséquences et les éventuelles contraintes qu'elle fait peser sur certaines recherches biologiques.

Dans cette optique, ce projet mobilise conjointement des chercheurs issus des sciences sociales et humaines (historiens, sociologues, juristes et philosophes) ainsi que des biologistes, familiers du fait de leur pratique professionnelle, tant des concepts biologiques qui fondent les normes aujourd'hui à l'œuvre (et des controverses dont leur définition et leur pertinence font l'objet) que des conséquences pour la recherche de la mise en œuvre de ces normes.

### L'analyse développée dans ce projet reposera sur trois terrains et thématiques.

Un premier volet portera sur la propriété intellectuelle, et les évolutions du droit concernant la brevetabilité des gènes. Il vise à expliciter les fondements des normes aujourd'hui appliquées à travers notamment leur lien étroit avec la législation plus ancienne concernant la brevetabilité de molécules chimiques, ainsi que la définition très classique (un gène = une enzyme = une fonction, une définition aujourd'hui largement controversée par la communauté des biologistes) sur laquelle elles reposent. Il reposera aussi sur l'analyse des différents espaces normatifs (offices de brevets, procédures d'oppositions, procès, ...) au sein desquels le droit portant sur ces questions est aujourd'hui mis à l'épreuve.

Le second volet a trait à l'évaluation des risques. Il vise à travailler tant la distinction entre évaluation et gestion des risques qui est à l'origine du cadre aujourd'hui en vigueur que l'évolution générale au niveau international des conceptions des risques liés aux flux de gènes depuis les années 1980. Le concept d'équivalence en substance, élément fondamental de ce cadre, sera lui aussi questionné. Enfin ce pan explicitera les remises en cause dont fait aujourd'hui l'objet la notion d'espèce, et leurs conséquences sur les normes qui gouvernent l'évaluation des risques liés aux OGM.

Enfin, le troisième volet de ce projet conduira à s'interroger sur les modalités d'encadrement de recherches biologiques émergentes, et notamment du clonage. Il repose sur l'analyse des différents concepts liés à cette pratique (transfert de noyau, chimère, ...) des différentes applications vers les quelles elles pointent (utilisation de cellules souches embryonnaires pour la recherche biomédicale, commercialisation de produits animaux issus de descendants de clones) ainsi que des points biologiques fondamentaux qu'elle soulève (rôle de l'épigénèse et des interactions entre un noyau et son environnement cellulaire dans le développement d'un organisme). Il a pour but d'explicitier l'état des normes liées à cette technique, la diversité des lieux de leur production (depuis les textes fondamentaux prohibant le clonage humain jusqu'à aux règlements internes de différents organismes qui soumettent à condition le recours au clonage animal) ainsi que leurs conséquences sur la menée des recherches.

# *Évaluation des risques sanitaires des aliments issus d'OGM*

*Analyse de semences de maïs contaminées par des traces d'OGM non identifiés  
Caractérisation de l'alimentarité des pommes de terre transgéniques  
Caractérisation des modifications génétiques des micro-organismes  
Evaluation de l'allergénicité des OGM*



## **Invited talk:**

# **Safety assessment of genetically modified plants: state of the art and challenges for research**

**Keynote speaker: Ib KNUDSEN**

DVM from the Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen;  
Chief Adviser in Food Safety and Toxicology, Institute of Food Safety and Nutrition,  
Denmark

Mail: [ibknudsen@webspeed.dk](mailto:ibknudsen@webspeed.dk)

## **Curriculum vitae**

Ib Knudsen is presently Chief Adviser in Food Safety and Toxicology at the Institute of Food safety and Nutrition, Ministry of Food, Agriculture and Fisheries in Denmark.

Doctor in Veterinary Medicine from the Royal Veterinary and Agricultural University in Copenhagen, he was visiting scientist at two famous laboratories specialized in toxicology; the Institute of Toxicology at the National Institute of Health in Bilthoven (NL) and the Genetic Toxicology Branch in the Division of Toxicology at the US-FDA in Washington (USA).

Deputy Director of the Institute of Toxicology at the National Food Agency in Denmark in 1980, Ib Knudsen was executive director of this Institute from 1987 until 2002.

Having personal membership of several national and international advisory committees, Ib Knudsen was and is still involved in scientific expertise at the international level. He was the chairman of the Scientific Committee for Food at the European Commission. He is coordinator or participant in several European research programmes in food safety and toxicology (FP 5 and 6).

## **Abstract**

Safety assessment of foods/feed from genetically modified plant has been an issue of controversy since the early 90's. The nature and extend of safety testing needed for this kind of products has been the focus of numerous national meetings. Personally I have been involved since the late 80's in discussions on safety assessment of GM foods in the scientific committies of EU, OECD, FAO/WHO, and most lately in the still ongoing discussions in the Working Group on Animal Feeding Trials under the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms. Furthermore I have been involved in a number of EU research studies regarding development of sensitive and specific testing strategies for assessing the safety, the nutritional and the potential health promoting properties of GM foods/feed as well as of novel foods/ functional foods. My paper will reflect the experiences gained from these endeavours and indicate a possible way forward in terms of reaching scientific agreement on the extend of safety assessment procedures. Finally, I will try to establish a focus on the numerous scientific challenges still laying ahead in the safety and nutritional assessment for the future generations of novel foods.

## **References**

- Konig, A., Cockburn, A., Crevel, R.W., Debruyne, E., Grafstroem, R., Hammerling, U., Kimber, I., Knudsen, I., Kuiper, H.A., Peijnenburg, A.A., Penninks, A.H., Poulsen, M., Schauzu, M., Wal, J.M. (2004). Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1047-88
- European Food Safety Authority (2005). Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified organisms for the Risk Assessment of Genetically Modified Plants and Derived Food and Feed. Final, edited version of April 2006. *The EFSA Journal* 2004 – 99, 1-94.
- Morten Poulsena, Stine Kroghsboa, Malene Schrødera, Andrea Wilksb, Helene Jacobsena, Andreas Millerc, Thomas Frenzelc, Jürgen Danierd, Michael Rychlike, Qingyao Shuf, Kaveh Emamig, Duraijalagraja Sudhakarh, Angharad Gatehouseg, Karl-Heinz Engelc, Ib Knudsen: A 90-day safety study in Wistar rats fed genetically modified rice expressing snowdrop lectin *Galanthus nivalis* (GNA). *Food and Chemical Toxicology* (in press)
- Morten Poulsena, Malene Schrødera, Andrea Wilksb, Stine Kroghsboa, Rikke Hvid Lindecronaa, Andreas Millerc, Thomas Frenzelc, Jürgen Danierd, Michael Rychlike, Qingyao Shuf, Kaveh Emamig, Mark Taylorh, Angharad Gatehouseg, Karl-Heinz Engelc and Ib Knudsen: Safety testing of GM-rice expressing PHA-E lectin using a new animal test design. *Food and Chemical Toxicology* (in press)

Malene Schrødera, Morten Poulsen, Andrea Wilcksb, Stine Kroghsboa, Andreas Millerc, Thomas Frenzelc, Jürgen Danierd, Michael Rychlike, Kaveh Emamif, Angharad Gatehousef, Qingyao Shug, Karl-Heinz Engelc, Illimar Altosaarh, Ib Knudsen: A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (Bacillus thuringiensis toxin) in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology* (in press)

Morten Poulsen, Søren Langkilde, Malene Schrøder, Ib Knudsen et al.: New methodologies for assessing the safety, the nutritional properties and the efficacy for health promotion of "second generation" novel foods. Experiences gained from the testing of a GM potato, a mutated rice and two functional food ingredients. In preparation.

## Analyse de semences de maïs contaminées par des traces d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) non identifiés

Présenté par : David ZHANG  
Mail : david.zhang@geves.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Analyse de semences de maïs contaminées par des traces d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) non identifiés** (2003-05), Patrick FACH<sup>1</sup>, David ZHANG<sup>2</sup>, Laetitia PETIT<sup>1</sup>, Gaëlle PAGNY<sup>2</sup>, Fabienne BARAIGE<sup>1</sup>, Anne-Cécile NIGNOL<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001*

<sup>1</sup>Unité d'Etude Moléculaire des Contaminants Biologiques Alimentaires (EBA), Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), Maisons-Alfort ; <sup>2</sup>Groupe d'Etude et de contrôle des Variétés et des Semences (GEVES)

**Mots clefs** : OGM, Semences, Contamination, Maïs

### Résumé

La présence du promoteur 35S (P-35S) issu du virus de la mosaïque du chou-fleur, largement utilisé dans les constructions de plantes Génétiquement Modifiées (GM), est couramment recherchée afin de déterminer si les produits contiennent ou non des Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). Lors de l'analyse de certains lots de semences de maïs, un faible signal avec ce marqueur a été détecté sans pouvoir identifier les contaminants GM présents. L'objectif de cette étude était donc d'identifier les contaminants GM contenus dans 7 lots de semences et d'évaluer l'origine de la contamination des semences (par pollinisation ou par mélange).

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Afin d'atteindre ces objectifs, ce programme a été organisé en 3 phases :

- La première phase a été le criblage. Il a été effectué en recherchant 2 séquences largement utilisées dans les constructions OGM (P-35S et le terminateur de la nopaline synthase, T-Nos) sur les pools et sous pools prélevés après mise en culture d'un grand nombre de graines de maïs (10 000) provenant de chaque lot de semences analysé. Les résultats obtenus montrent que 12 plantules et 5 prélèvements (mélanges de plusieurs plantules), pour lesquels il n'a pas été possible d'isoler une plantule, ont été détectés positifs. Au final, la présence d'au moins une graine GM a été mise en évidence dans chacun des lots de semences analysés.
- La deuxième phase visant à identifier les échantillons positifs a permis de mettre en évidence 7 plantules de maïs GM autorisés à la culture dans l'Union Européenne (UE) : 6 plantules MON810 et 1 plantule T25. Les 10 autres échantillons positifs détectés lors de cette étude correspondent ou contiennent des maïs GM non autorisés à la culture dans l'UE. Deux de ces échantillons correspondent à du maïs GM autorisé à la transformation mais non autorisé à la culture : Bt11. Les huit autres maïs GM correspondent à des événements de transformation non autorisés à la transformation et la culture dans l'UE : 3 sont des GA21 et un maïs est issu d'un empilement de gènes MON810/T25. De plus, une des plantules isolées pourrait correspondre à l'évènement T14. Pour finir, trois des prélèvements positifs, pour lesquels aucune plantule n'a pu être isolée, n'ont pas été identifiés avec précision. Cependant d'après leurs profils, aucun des OGM contenus dans ces prélèvements ne correspond à des événements de transformation autorisés à la culture dans l'UE.
- La troisième phase consacrée à l'analyse moléculaire fine des 12 plantules de maïs GM isolées à l'aide de marqueur microsatellite (SSR) a permis de déterminer que 10 des plantules isolées sont issues d'une contamination par pollinisation et que seules 2 plantules sont issues d'un mélange.



**Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI**

:  
*Petit L., Pagny G., Baraige F., Nignol A.C., Zhang D. and Fach P.* How to characterize genetically modified maize in weakly contaminated seed batches and identify the origin of the adventitious contamination *soumis à « Journal of AOAC INTERNATIONAL »*

## Analyse des effets de modifications génétiques sur la composition chimique et la qualité alimentaire de tubercules de pomme de terre

Présenté par : Jean-Eric CHAUVIN  
Mail : Jean-Eric.Chaudin@rennes.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Analyse des effets de modifications génétiques sur la composition chimique et la qualité alimentaire de tubercules de pomme de terre** (1999-2001), Jean-Eric CHAUVIN<sup>1</sup>, Isabelle QUILLERE<sup>2</sup>, Laura CHAUVIN<sup>1</sup>, Marie-Claire KERLAN<sup>1</sup>, Camille KERLAN<sup>3</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 1999

<sup>1</sup>UMR118 Amélioration des plantes et biotechnologies végétales (APBV), INRA/AgroCampus Rennes, Ploudaniel ; <sup>2</sup>UR 511 Unité de Nutrition Azotée des Plantes (NAP), INRA, Versailles ; <sup>3</sup>UMR1099 Biologie des organismes et des populations appliquée à la protection des plantes (BiO3P) INRA/AgroCampus Rennes, Le Rheu

**Mots-clefs** : pomme de terre, transgène, tubercule, composition biochimique, effet non ciblé, variation somaclonale

### Résumé

Trois constructions moléculaires (protéine capsidale du virus PVY, protéine capsidale du virus LMV, gène de la nitrate réductase -NR- du tabac) ont été introduites *via Agrobacterium tumefaciens* dans différents génotypes de pomme de terre. Plusieurs transformants ont été obtenus avec chaque construction et comparés aux témoins non transformés pour les caractères d'intérêt (résistance au virus PVY, meilleure assimilation du nitrate). Les transformants les plus intéressants, c'est-à-dire ceux exprimant de façon nette le nouveau caractère et dont le phénotype est le moins altéré par rapport à la variété de départ, ont fait l'objet d'études complémentaires. Nous avons notamment proposé l'étude des effets non ciblés induits par les transgènes sur la composition chimique globale et la qualité alimentaire des tubercules. En effet, en termes de risques liés à la transgénèse, c'est surtout dans le domaine de la sécurité alimentaire que des questions restent posées pour la pomme de terre dans la mesure où les autres risques (flux de gènes, dispersion par la graine) sont limités, au moins en Europe, pour cette espèce à multiplication essentiellement végétative.

Un dispositif expérimental au champ a permis de comparer les plantes transformées avec les 3 constructions moléculaires à leurs témoins non transformés dans des conditions agronomiques aussi proches que possible de la normale. Les tubercules ont été récoltés à maturité et analysés pour leur teneur en carbone total, azote total, matière sèche, amidon, sucres réducteurs, saccharose, protéines solubles, acides aminés, nitrate, glycoalcaloïdes. L'analyse comparée montre que les transgènes ont un effet fort sur les caractères ciblés (résistance au virus pour les gènes cp-PVY et cp-LMV, teneur en nitrate dans les tubercules pour le gène de la NR). Pour les caractères non ciblés étudiés, l'effet « nature du transgène » peut être significatif mais il reste toujours très faible par rapport à l'effet du fond génétique. Par contre, une variation plus importante liée à la transgénèse mais pas directement à la nature du transgène est mise en évidence. Ainsi chaque événement de transformation a un comportement unique et la variation aléatoire observée, qui pourrait s'expliquer par un effet de la position du transgène dans le génome ou par de la variation somaclonale, est généralement supérieure à la variation imputable à la seule nature du transgène. Ceci justifie pleinement une étude au cas par cas des événements de transformation. Cependant, tout comme l'effet « nature du transgène », cet effet « événement de transformation » reste, pour la majorité des caractères, inférieur à celui du fond génétique si bien que les teneurs des différents composés étudiés fluctuent dans des limites déjà décrites chez la pomme de terre.

Ces résultats, conformes à ceux qui ont été publiés par d'autres équipes, indiquent que l'ampleur des modifications induites sur la composition chimique du tubercule et donc sa valeur alimentaire est liée à la nature du transgène. Si le transgène affecte une voie métabolique majeure concernant un des constituants présents dans le tubercule, alors la composition biochimique de l'organe consommé pourra subir de grosses modifications dont les effets devront être appréciés au cas par cas. L'expression de la NR du tabac, par exemple, conduit à une baisse importante des teneurs en nitrate dans les tubercules ce qui représente une amélioration du produit. En revanche, si le transgène n'a pas d'effet direct sur un des constituants du tubercule ou si l'on considère les effets non ciblés, nous avons pu constater que les modifications sur la

composition du tubercule ne sont pas plus importantes par la voie de la transgénèse que lorsqu'on emploie des méthodes d'amélioration plus conventionnelles telles que l'hybridation interspécifique. Les mêmes méthodes d'appréciation des tubercules pourraient donc être employées pour évaluer le matériel obtenu par l'une ou l'autre des 2 voies. Compte tenu du nombre de caractères qui peuvent varier suite à l'introduction d'un transgène et/ou suite au passage par une phase de régénération *in vitro*, l'obtention par cette voie de tubercules rigoureusement identiques à ceux produits par la variété témoin paraît peu réaliste. Ces travaux ont été complétés par une analyse toxicologique qui a été conduite sur des rats par l'unité des Xénobiotiques (INRA Toulouse) et a permis de montrer l'innocuité des OGM étudiés.

### **Principaux résultats obtenus et applications envisageables**

- 1) Les effets ciblés des transgènes sont forts et de nouveaux caractères qui sont intéressants s'expriment clairement dans des conditions de culture au champ (exemple de la résistance au virus PVY) chez les variétés de pomme de terre transformées qui sont donc potentiellement intéressantes. L'application pratique se heurte au problème de l'acceptabilité de ce type de matériel par le public.
- 2) Les effets ciblés sur la composition chimique des tubercules sont importants et doivent être pris en compte dans le cas de modifications de certaines voies métaboliques comme celles de l'assimilation du nitrate. Des variétés à teneur très faible en nitrate dans les tubercules peuvent être obtenues par cette voie. L'application pratique se heurte au problème de l'acceptabilité de ce type de matériel par le public.
- 3) Les effets non ciblés sur la plante et le tubercule sont faibles en intensité mais varient d'un événement de transformation à l'autre et sont fréquents. Une étude au cas par cas des événements de transformation est donc justifiée.
- 4) L'étude réalisée au champ a permis de révéler des variations collatérales qui n'avaient pas été mises en évidence lors des essais en serre. Il est donc illusoire de penser que l'on pourra tout modéliser dans ce domaine en travaillant uniquement dans des conditions confinées.
- 5) Compte tenu du nombre de caractères potentiellement affectés par le fait d'insérer un gène dans une variété de pomme de terre, il est souhaitable d'observer un grand nombre d'évènements de transformation avant de tirer des conclusions ou de sélectionner du matériel.

### **Perspectives**

Ce travail d'évaluation des risques alimentaires liés à l'utilisation de pommes de terre transgéniques est maintenant interrompu dans l'attente d'un contexte socio-politique plus favorable au développement de travaux dans ce domaine. Des méthodes et du matériel végétal ont été mis au point et pourront servir ultérieurement. Des transformants de "deuxième génération" sont en cours de création: transfert de constructions moléculaires limitées au seul gène d'intérêt, absence de gène marqueur, utilisation de capsides biosécurité. Des travaux analogues à ceux réalisés ici ont été envisagés avec des pommes de terre exprimant des gènes issus de *Bacillus thuringiensis* (projet ANR-OGM 2006) mais le modèle pomme de terre n'a finalement pas été retenu dans le cadre du projet déposé qui a été axé sur le maïs et le colza.

### **Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI**

Chauvin *et al*; Field behaviour, harvest characteristics and transgene expression in 10 transgenic potato clones expressing virus sequences or tobacco nitrate reductase gene compared with their untransformed controls - En cours de rédaction

Chauvin *et al*; Hierarchization of the factors influencing tuber composition of transgenic potatoes - En cours de rédaction

N. Priymenko, C. Canlet, G. Gottardi, J. Molina, C. Delous, L. Chauvin, M.C. Kerlan, A. Label, I. Quilleré, J.E. Chauvin and A. Paris, 2006 Application of <sup>1</sup>H-NMR-based metabonomics for studying the metabolic adaptation to GM-potato regimen given to growing rats. Congrès SAFE, Budapest, 12-14 juin 2006.

## Caractérisation des empreintes analytiques et toxicologiques ("signatures biologiques") des variétés OGM et non-OGM homologues à l'aide de méthodes globales basées sur l'analyse spectrale multiple

Présenté par : Alain PARIS  
Mail : Alain.Paris@toulouse.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Caractérisation des empreintes analytiques et toxicologiques (« signatures biologiques ») des variétés OGM et non-OGM homologues à l'aide de méthodes globales basées sur l'analyse spectrale multiple** (1999-01), Alain PARIS<sup>1</sup>, Nathalie PRIYMENKO<sup>1</sup>, Benoît JAILLAIS<sup>2</sup>, Cécile CANLET<sup>1</sup>, Gaëlle GOTTARDI<sup>1</sup>, Christiane DELOUS<sup>1</sup>, Nathalie MARTINS<sup>1</sup>, Jérôme MOLINA<sup>1</sup>, Max FEINBERG<sup>2</sup> et Laurent DEBRAUWER<sup>1</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 1999

<sup>1</sup>UMR1089 Xénobiotiques, INRA-ENVT, Toulouse ; <sup>2</sup>UMR Ingénierie Analytique pour la Qualité des Aliments, INA PG, Paris

**Mots-clefs** : OGM, pomme de terre, métabolome, métabonomique, RMN, spectroscopie IR, MAB-ToF MS, chimométrie, alimentation.

### Résumé

L'évaluation de la qualité alimentaire de tubercules de pomme de terre récoltés à partir de variétés génétiquement modifiées (GM) ou isogéniques conventionnelles a été effectuée soit par l'analyse du métabolome en spectrométrie de masse ou par la production d'empreintes analytiques par spectroscopie infrarouge à partir des tubercules, soit par l'analyse métabonomique des urines de rats ayant consommé ces tubercules préalablement cuits et lyophilisés, incorporés à hauteur de 50 % dans un régime équilibré.

Une première série de transformants a été obtenue par l'introduction du gène de la protéine capsidale des virus LMV et PVY conférant à la pomme de terre la résistance au virus PVY. Une seconde série de transformants a été obtenue par l'introduction du gène *nia-2* de la nitrate réductase du tabac. Les cultures de plants de pomme de terre ont été conduites en plein champ sur deux années successives en conditions indemnes de contamination par le virus PVY ou non.

Les empreintes analytiques obtenues en spectrométrie de masse Py-MAB-ToF ou en spectroscopie infrarouge ont permis de révéler une structuration de l'information spectrale prenant en compte d'abord l'origine variétale, puis les conditions d'environnement sanitaire dans lesquelles étaient conduites les cultures et, enfin, les facteurs biotechnologiques impliqués dans la constitution des clones GM.

Une évaluation globale de la qualité alimentaire de chaque variété ou de chaque clone GM a été réalisée à partir des tubercules produits en conditions indemnes de contamination par le virus PVY. Chaque « aliment moyen » représentatif d'une variété ou d'un clone donné a été testé sur 12 animaux. Les rats, de race Wistar, âgés de 35 jours au début de l'expérience, ont été placés en cage à métabolisme et nourris *ad libitum* pendant 22 jours. Les performances de croissance et de consommation ont été enregistrées ainsi que le poids du foie et des reins au moment du sacrifice. Ces données ne font apparaître aucune différence entre les différents groupes d'animaux nourris avec les variétés GM ou isogéniques conventionnelles.

Les empreintes urinaires produites par RMN ont permis de distinguer les animaux nourris avec un régime de référence de ceux nourris avec un régime à base de pomme de terre, quelle qu'en soit l'origine variétale ou clonale. Néanmoins pour ces derniers, il est possible de distinguer la part de la réponse métabolique expliquée principalement par l'origine variétale des tubercules incorporés dans le régime de celle, minime, liée aux variations limitées de la composition de l'aliment résultant de la transformation génétique des variétés, notamment en ce qui concerne les clones exprimant la nitrate réductase.

Les méthodes globales ainsi évaluées laissent envisager la possibilité de repérer d'éventuelles altérations nutritionnelles significatives qui seraient imputables à une modification de la teneur en macroconstituants, en micronutriments ou en métabolites secondaires résultant de la transformation génétique des variétés

conventionnelles. Elles permettraient de fournir des éléments biochimiques pertinents facilitant l'interprétation d'éventuelles disruptions métaboliques à l'origine d'événements subtoxiques inattendus.

### **Principaux résultats obtenus et applications envisageables**

La comparaison des différents clones GM de pomme de terre pour différents événements de transformation cultivés dans les mêmes conditions pédoclimatiques et sanitaires ont permis de hiérarchiser les éléments d'information relatifs à la caractérisation des phénotypes. Pour les trois événements étudiés, la variabilité métabolique s'explique d'abord par un effet cultivar, puis par les conditions agronomiques dans lesquelles les cultures sont conduites, enfin, par une variabilité d'expression inhérente à l'introduction et l'expression des événements génétiques étudiés.

Cette structuration de l'information analysée au travers des effets « cultivar » et « clonal » se retrouve dans la réponse nutritionnelle chez des rats en croissance nourris avec ces différents cultivars. Elle s'explique par une adaptation du réseau métabolique de l'animal aux microvariations de composition en macroconstituants, micronutriments et métabolites secondaires des tubercules, elles-mêmes reflétant une adaptation de l'expression métabolique végétale à l'insertion des gènes.

Cette approche générique permet de déterminer l'importance relative du facteur de transformation génétique et des facteurs génétiques (cultivar), agronomiques (variations pédoclimatiques, facteur année, traitements phytosanitaires) tant au niveau de l'expression phénotypique de la plante elle-même, que de la plante considérée comme matière première des régimes alimentaires testés chez l'animal.

En terme d'évaluation des nouveaux événements de transformation génétique, cette approche permet de hiérarchiser les différents facteurs de variation impliqués dans l'expression phénotypique des nouveaux cultivars telle qu'indiquée par la composition chimique ou l'analyse des variations dans les empreintes métaboliques (fingerprinting). Il est alors possible, de façon systématique, de comparer la variabilité de la transformation génétique pour une construction génétique donnée, la variabilité de différents événements conférant à la plante transformée le même caractère, la variabilité génétique des différentes variétés se prêtant à la transformation génétique, enfin, la variabilité d'origine agronomique. Ces bases de données construites très en amont dans le processus de création variétale permettraient ensuite d'intégrer de nouvelles informations caractérisant des événements apparentés futurs. L'ensemble de ces informations serait alors d'une aide précieuse pour l'exercice de l'expertise en matière d'évaluation de l'innocuité de ces nouvelles variétés consommables.

Un autre volet qui mérite de réaliser des recherches approfondies qui seraient utiles pour conduire une évaluation plus poussée des PGM à vocation alimentaire concerne la capacité des animaux utilisés pour en évaluer expérimentalement « l'alimentarité » à pouvoir s'adapter, au plan métabolique, aux microvariations de composition des aliments, tout en « garantissant » dans une large mesure une réponse nutritionnelle « conforme », c'est-à-dire optimale au regard de la physiologie. Cette plasticité métabolique s'explique vraisemblablement par une redondance partielle des systèmes métaboliques, d'une part, et par une capacité à en faire varier les flux, d'autre part. Le couplage des approches métabonomiques et d'analyse globale des flux métaboliques chez les organismes supérieurs permettrait ainsi de mieux comprendre et de mieux modéliser cette plasticité. Les retombées en physiologie de la nutrition seraient à coup sûr innombrables.

### **Perspectives**

Les principales perspectives de ces approches métaboliques (caractérisation du métabolome végétal) et métabonomiques (réponse nutritionnelle chez l'animal-test) concernent, au niveau de la conduite de l'expertise, le renouveau possible de l'évaluation de l'innocuité de ces nouveaux cultivars qu'on peut espérer voir émerger progressivement, et, si ces bases de données orientées vers l'expertise sanitaire de ces variétés sont créées très en amont dans le processus de création variétale, l'évolution des procédures de création variétale en favorisant la mutualisation des efforts réalisés par les sélectionneurs en matière de production de données de référence à utiliser au titre de l'expertise sanitaire quand ceux-ci s'intéressent à des événements de transformation semblables.

### **Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI**

Publications en cours de rédaction en collaboration avec l'équipe de Jean-Eric Chauvin de l'Inra de Ploudaniel.

## Approches post-génomiques appliquées à l'évolution des effets indirects de modifications génétiques chez les levures œnologiques

Présenté par : Sylvie DEQUIN  
Mail : dequin@ensam.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnatrice

**Approches post-génomiques appliquées à l'évaluation des effets indirects de modifications génétiques chez les levures œnologiques (2002-04), Sylvie DEQUIN<sup>1</sup>**

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001

<sup>1</sup>UMR1083 Sciences pour l'œnologie (SPO), INRA/ENSA-M/Univ. Montpellier I

**Mots clés :** Levure, œnologie, OGM, transcriptome, protéome, profils métaboliques

### Résumé

L'objectif du projet est d'évaluer la pertinence d'approches post-génomiques chez la levure *S. cerevisiae* pour évaluer les impacts, qu'ils soient prévisibles ou inattendus, de modifications génétiques sur le métabolisme à un niveau « global ». Le modèle étudié consiste en une série de souches produisant différents niveaux de lactate, obtenues par expression hétérologue de lactico-déshydrogénases bactérienne. Nous montrons 1) que la combinaison d'approches reposant sur une analyse de profils de métabolites extracellulaires, d'ARN messagers et de protéines permet d'obtenir une vision intégrée et compréhensive de l'impact de la production de lactate sur le métabolisme levurien, à savoir (i) gestion de l'acidité intracellulaire par contrôle des pompes à protons (ii) réorientation des flux au niveau du pyruvate, majoritairement tracté vers la lactate au détriment de l'éthanol, mais également des branches réductrices et oxydatives du TCA (iii) réponse stress (iv) induction des gènes du métabolisme carboné, glycolyse et fermentation, corrélée à une augmentation du niveau de synthèse de certaines protéines de la glycolyse 2) que cette réponse est très dépendante du niveau de lactate produit. Une production de l'ordre de 5 g/L n'a que peu d'impact sur le métabolisme, et aucune variation significative dans l'expression du génome levurien n'est détectable par approche transcriptomique. Par contre, des niveaux de production de 20 et 30 g/L conduisent à des réorientations métaboliques et à une réponse transcriptionnelle qui affecte environ 2.5 % du génome. Globalement, l'analyse transcriptomique permet une analyse très complète et efficace pour détecter des ajustements cellulaires très fins, alors que l'analyse des profils métaboliques, même très fragmentaire, permet d'obtenir une image complémentaire des modifications au niveau du métabolisme central, susceptibles d'affecter la qualité du produit.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Le modèle OGM étudié est basé sur la déviation du flux carboné en bout de chaîne, au niveau du pyruvate, par expression d'une lactico-déshydrogénase bactérienne, qui entre en compétition avec l'alcool déshydrogénase fermentaire levurienne, tant au niveau de l'utilisation du substrat (pyruvate), que du cofacteur NADH. Les analyses ont été réalisées sur une gamme de souches stables (K1-LDH) produisant 5, 10, 20 et 30 g/L de lactate lors de la fermentation œnologique, obtenues par intégration génomique d'une cassette d'expression constituée d'un gène codant pour la lactico-déshydrogénase de *Lactobacillus plantarum* ou de *Lactobacillus casei*, sous contrôle du promoteur fort *ADH1*, dans la souche *S. cerevisiae* œnologique commerciale K1. Cette souche produit naturellement des traces de lactate.

Une analyse phénotypique globale a consisté à déterminer l'impact de l'introduction du gène LDH sur la vitesse de fermentation, la croissance et la viabilité cellulaire, au cours de fermentations en conditions œnologiques (moût synthétique riche en sucres, faible teneur en azote, pH acide). La souche faible productrice de lactate (5 g/L) se comporte comme la souche témoin, excepté une mortalité légèrement accrue en fin de fermentation. A partir de 10 g/L, on observe un allongement de la durée de fermentation et un taux de mortalité plus élevé à partir de la mi-fermentation (20 à 40% contre 5% pour la souche témoin). Pour des niveaux de production supérieurs (20 et 30 g/L) une légère diminution de la biomasse est

observée. Ces effets, graduels, montrent qu'une production d'acide lactique élevée se traduit par des altérations de la croissance, des capacités fermentaires et une perte de viabilité, qui découlent de la nécessité de gérer l'acidité intracellulaire et du stress qui en résulte.

L'analyse de l'évolution des profils métabolites extracellulaires, centrée sur les principaux sous-produits fermentaires, montre que les souches K1-LDH produisant 10 g/L et plus de lactate présentent des difficultés à consommer les sucres en fin de fermentation. On observe une baisse très significative de la production d'éthanol proportionnelle au niveau de lactate produit. Cet effet, attendu, résulte de la compétition pour le NADH entre la LDH et l'ADH levurienne. En ce qui concerne la production d'autres métabolites, aucune différence très significative n'est observée entre les souches K1-LDH5 et K1-LDH10 et la souche témoin, excepté une légère diminution de la production de pyruvate. Par contre, à des niveaux supérieurs, on constate une diminution du pyruvate plus marquée et des réorientations métaboliques se traduisant par une diminution de la production des intermédiaires du TCA  $\alpha$ -cetoglutarate, hydroxyglutarate et succinate et par une augmentation de la production d'acétaldéhyde et d'acétate. A noter que la production de glycérol, qui est le sous produit majeur impliqué dans l'équilibre intracellulaire NADH/NAD, n'est pas affectée de manière significative, ni celle d'acétoïne et de 2,3-butadane diol. Les effets proviennent donc de la compétition au niveau du pyruvate plutôt que d'un déséquilibre redox.

L'analyse transcriptomique a été conduite sur deux souches présentant les niveaux de production extrême, 30 g/L et 5 g/L, comparativement à la souche témoin. Les ARN ont été extraits au stade 45 g/L de CO<sub>2</sub> dégagé, qui correspond à la phase stationnaire à mi-fermentation. Le plan d'expérience repose sur un plan triangulaire avec 4 répétitions biologiques et 2 techniques. La comparaison de la souche forte productrice avec le témoin révèle des changements d'expression affectant 164 gènes dont 81 surexprimés et 83 réprimés d'un facteur supérieur à 1.5 (pvalue<0.0005). L'analyse des données montre l'induction de gènes nécessaires pour protéger la cellule des stress environnementaux codant pour des transporteurs de proton et des protéines de choc thermique. Plusieurs gènes impliqués dans le fonctionnement et contrôle de pompes à protons sont régulés, ce qui indique qu'un aspect important de cette réponse est un contrôle fin de l'acidité intracellulaire. Ceci est cohérent avec la nécessité pour la cellule de mettre en place des mécanismes lui permettant de maintenir le pH intracellulaire, par expulsion des protons. Enfin, de nombreux gènes de la glycolyse sont également activés dans la souche LDH. On peut penser que cette réponse traduit la nécessité de fournir de l'ATP pour alimenter les pompes à protons.

La même analyse, conduite sur la souche faible productrice, n'a permis de détecter que 7 gènes régulés avec une pvalue inférieure à 0.001, pour laquelle on peut attendre de détecter 6 gènes par le fait du hasard. On peut cependant noter que 2 des gènes régulés le sont également dans la souche forte productrice.

L'analyse du protéome de la souche témoin et de la souche K1-LDH30 a été conduite au même stade que l'analyse transcriptomique, et à partir de 2 fermentations indépendantes. Environ 800 protéines ont été visualisées par gel 2D coloré au nitrate d'argent. Respectivement 7 et 8 gels ont été réalisés pour les souches K1-LDH30 et K1. Après analyse, 26 spots significativement différents ont été analysés par spectrométrie de masse et une vingtaine identifiés. L'analyse a principalement permis de confirmer la surproduction de protéines glycolytiques dont le niveau de transcription était augmenté.

## **Perspectives**

Cette étude montre l'intérêt :

- de l'analyse de profils de métabolites extracellulaires pour détecter des effets directement et indirectement liés à la modification, et pouvant affecter la qualité du produit. Cette approche, simple à mettre en œuvre et relativement sensible, devrait être complétée par l'analyse de métabolites secondaires.
- de l'analyse transcriptomique pour détecter des ajustements fins au niveau cellulaire permettant d'accéder aux mécanismes mis en place en réponse à la modification.
- des limites de l'approche protéomique, inhérentes à la technique d'électrophorèse bidimensionnelle qui permet de séparer environ 10% du protéome.

Cette étude montre également la complémentarité des approches métabolique et transcriptomique, et l'intérêt de mettre en œuvre ces deux types d'approche pour obtenir une vision intégrée et compréhensive de l'impact de la modification. La levure est un organisme de choix pour le développement d'approches de type "biologie des systèmes" visant à intégrer des informations de nature différente pour obtenir une vision globale et quantitative à l'échelle de la cellule. En particulier, des approches de fluxomique, permettant une analyse quantitative des flux intracellulaires du métabolisme central ont été récemment développées. Nous avons récemment adapté cette méthodologie pour l'étude du métabolisme carboné central des souches oenologiques lors de cultures en mode continu. Les résultats de cette étude permettent de penser que la

combinaison d'approches fluxomiques et transcriptomique serait très pertinente pour une caractérisation globale et quantitative des effets des modifications.

**Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI**

Valero E, Cambon B, Delobel P., Sauvage FX, Blondin B and Dequin S. Comparative analysis of transcriptome, proteome and metabolite profiles of *Saccharomyces cerevisiae* cells producing lactic acid. En préparation pour Appl. Environ. Microbiol.

Bauer FF, Dequin S, Pretorius IS, Schoeman H, Wolfaardt GM, Schroeder MB and Grossmann MK (2004) The assessment of the environmental impact of genetically modified yeast strains. Bull.OIV 515-528.

Communications orales dans congrès nationaux et internationaux (1 en 2003, 2 en 2004)





## Evaluation des effets indirects de modifications génétiques par comparaison de profils d'expression de bactéries lactiques et leurs dérivés OGM en modèle murin

Présenté par : Pierre RENAULT  
Mail : pierre.renault@jouy.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsable Scientifique des équipes impliquées

Evaluation des effets indirects de modifications génétiques par comparaison de profils d'expression de bactéries lactiques et leurs dérivés OGM en modèle murin (2003-04), Pierre RENAULT<sup>1</sup>, Jamila ANBA<sup>2</sup>  
Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001

<sup>1</sup>UR 895 Génétique microbienne (GM), INRA, Jouy en Josas ; <sup>2</sup>UR 910 Écologie et physiologie du système digestif (UEPSD), INRA, Jouy en Josas

**Mots-Clefs** : OGM, sécurité alimentaire, génomique, effet pléiotropique, effet indirect, tractus digestif

### Résumé

L'évaluation de la sécurité des nouvelles souches introduites dans les procédés alimentaires, en particulier celles qui ont été construites par ingénierie génétique, est perçue comme un des facteurs déterminant pour leur utilisation dans l'alimentation et leur dissémination dans l'environnement. Dans le cadre du programme "Impact des OGM", nous avons réuni l'expertise de deux laboratoires pour mettre au point une méthode d'évaluation globale de l'expression génique dans des bactéries en transit dans le tractus digestif et de franchir ainsi une étape décisive pour générer les connaissances sur la biologie des bactéries ingérées lors de leur transit. Dans cette perspective, il sera alors possible d'enrichir l'étude de l'impact des modifications génétiques des bactéries lactiques à un maillon essentiel de la chaîne alimentaire.

Ce programme a été réalisé en synergie avec un programme Européen, Express-Fingerprints, dans lequel a été développé un outil d'évaluation des risques basés sur *Lactococcus lactis* comme bactérie lactique modèle. Le niveau d'expression de l'ensemble des gènes de *L. lactis* est mesuré par "DNA microarrays" et gel protéique à 2 dimensions pour établir des cartes d'expression de souches naturelles, d'OGM dérivés, et de mutants obtenus soit par mutagenèse classique, soit par auto clonage. Ces données sont analysées par de nouveaux logiciels intégrant les données obtenues, des bases de données génétiques et fonctionnelles et des méthodes statistiques adaptées.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Le traitement des données permet de comparer les différents profils d'expression et de déterminer l'ensemble des différences significatives dans les profils d'expression. Il est alors possible de discriminer entre les effets "attendus" des mutations et les effets *a priori* "inattendus" dus soit à la perturbation métabolique causée par la modification génétique, soit à des aléas des techniques utilisées (par exemple mutagenèse chimique *versus* auto clonage de gènes mutés). Il est aussi possible de comparer les nouveaux profils à ceux d'une banque de profils de souches naturelles et de pointer ainsi des expressions "atypiques" (anormalement hautes ou basses, ou des distributions nouvelles). Ce type d'étude est utilisé pour évaluer la possibilité d'appliquer des concepts de type "équivalence substantielle" à de nouvelles souches (isolats naturels, mutants, OGM...).

Dans le cadre du projet européen, les profils d'expression ont été réalisés avec des bactéries cultivées dans des conditions de croissance contrôlées, d'abord dans des milieux chimiquement définis, puis dans du lait, pour mimer l'environnement des produits. Dans le cadre du projet impact des OGM, nous avons mis au point une méthode pour extraire les ARN messager du tractus digestif de rat en quantité et qualité suffisante pour permettre de réaliser des expériences d'analyse de la transcription globale avec des puces à ADN. Nous avons ensuite analysé les profils de transcription de souches de *L. lactis* ingérées et comparé ces profils entre eux et avec des profils obtenus dans des conditions standards de laboratoire. Il en ressort que plus de 475 gènes sont exprimés de manière significativement différente entre une bactérie en croissance dans un milieu de laboratoire par rapport à une bactérie implantée dans le cæcum de rat. L'étude fine des profils de

transcription montre que ces différences sont cohérentes avec ce qui est connu du milieu digestif. L'étude comparée d'un mutant CodY (de régulation des gènes protéolytique et de la nutrition azotée) montre que la plupart des gènes trouvés dérégulés en milieu de laboratoire se retrouve dérégulé dans le tractus digestif ce qui valide en grande partie les approches *in vitro* pour évaluer les différences substantielles OGM/non OGM tel que défini dans le programme. Des gènes supplémentaires sont aussi révélés, confirmant que certains gènes non exprimés *in vitro* sont exprimés *in vivo*. Le présent travail ouvre donc une porte pour développer des approches de transcriptomique globale pour étudier le comportement des bactéries ingérées dans notre alimentation.

### **Perspectives**

Les buts ultimes sont (i) d'émettre des recommandations avant de permettre l'éventuelle dissémination de ces souches (ii) de contribuer utilement au débat citoyen concernant l'utilisation des techniques de biologie moléculaire pour améliorer les performances de microorganismes utilisés en fermentation. Il est possible que les concepts éprouvés sur les modèles procaryotes simples puissent être étendus dans une certaine mesure à des organismes plus complexes comme les levures, voire les plantes.

### **Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI**

E. Guédon<sup>1</sup>, M. Ladiré<sup>2</sup>, S.D. Ehrlich<sup>1</sup>, P. Renault<sup>1</sup>, G. Corthier<sup>2</sup>, J. Anba<sup>2</sup>. Global analysis of the response of the food bacterium *Lactococcus lactis* to the gastrointestinal environment evaluated by DNA microarrays Eighth Symposium on Lactic Acid Bacteria Egmond aan Zee, the Netherlands August 28 - September 1, 2005. Poster et Présentation en séance plénière

## Evaluation de l'allergénicité des OGM

Présenté par : Karine ADEL-PATIENT

Mail : karine.patient@cea.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnatrice et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

Evaluation de l'allergénicité des OGM (2003-05), Karine ADEL-PATIENT<sup>1</sup>, Didier LERECLUS<sup>2</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001

<sup>1</sup>Unité d'Immuno-allergie alimentaire, INRA, CEA de Saclay; <sup>2</sup>Unité de Lutte Biologique, INRA, Guyancourt

**Mots-clefs** : allergie alimentaire, modèles *in vivo*, sensibilisation, réaction allergique, Cry1Ab

### Résumé

Les allergies alimentaires posent un problème de santé publique du fait de l'augmentation de leur incidence, mais aussi de l'augmentation du nombre d'aliments incriminés et de la gravité des symptômes qu'elles engendrent. Différents niveaux de risques allergiques liés à l'introduction d'un nouveau gène dans le génome d'une plante peuvent être envisagés: la production d'une nouvelle protéine allergique, la modification de structures d'allergènes existants et/ou la modification de l'allergénicité de la plante entière. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la protéine Cry 1Ab issue du microorganisme *Bacillus thuringiensis* et exprimée dans les plantes génétiquement modifiées (PGM) résistantes aux insectes. Il s'agit des principales PGM actuellement présentes sur le marché, notamment le maïs dont différentes variétés correspondant à plusieurs événements de transformation sont cultivées en Europe. L'évaluation du potentiel allergique de la protéine nouvellement exprimée doit être réalisée selon une procédure réactualisée par l'EFSA en 2004. Concernant Cry1Ab, aucune donnée épidémiologique n'est disponible en terme d'allergénicité, et il n'a pas été mis en évidence de présomption d'allergénicité par les tests *in vitro* et *in silico*. Cependant, des modèles plus directs d'analyse de l'allergénicité de ces protéines doivent être développés. Dans ce contexte, notre projet a consisté à utiliser un modèle animal pour répondre à trois questions :

- la protéine Cry 1Ab exprimée dans la PGM est-elle capable d'induire une réponse IgE spécifique chez un individu prédisposé (pouvoir sensibilisant) et peut-on évaluer son pouvoir sensibilisant éventuel par comparaison avec celui d'allergènes connus ?
- cette protéine est-elle capable de déclencher une réaction allergique chez un individu déjà sensibilisé à la même protéine, ou à une protéine plus ou moins apparentée (pouvoir déclenchant) ?
- cette protéine possède-t-elle un effet adjuvant, c'est-à-dire peut-elle favoriser l'induction d'une réponse IgE spécifique d'autres protéines, ou au contraire avoir un effet protecteur ?

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Les différentes expériences ont été réalisées chez la souris Balb/c qui montre une réponse immunitaire orientée vers une réponse de type allergique, mimant ainsi le sujet atopique : nous avons préalablement démontré que ces souris constituent un modèle pertinent pour l'étude de différents allergènes alimentaires. Chez la souris, la réponse allergique, dite réponse de type Th2, se caractérise par la production d'immunoglobulines de type E et G1 (IgE et IgG1) spécifiques de l'allergène, ainsi que par la production de cytokines telles que les interleukines (IL)-4 et IL-5. A l'inverse, la réponse non allergique, dite de type Th1, est caractérisée par la production d'IgG2a spécifiques et d'interféron gamma (IFN $\gamma$ ). Dans le cadre du projet, différents outils ont été développés afin de permettre une analyse quantitative de ces différents paramètres, permettant de conclure quant à l'induction ou non d'une réponse immunitaire spécifique et à son orientation Th1 ou Th2 suite à une sensibilisation expérimentale par la protéine Cry 1Ab .

Dans un premier temps, nous avons cherché à évaluer l'immunogénicité de Cry 1Ab chez la souris, c'est-à-dire sa capacité à induire une réponse immunitaire suite à une administration en absence d'adjuvant. Différentes voies d'administration ont été évaluées : intra-gastrique (i.g.), intra-nasale (i.n.) ou intra-

péritonéale (i.p.). Une orientation Th2 de la réponse immunitaire induite traduirait un potentiel sensibilisant de Cry 1Ab chez la souris. En parallèle, afin d'évaluer si la souris peut permettre une gradation d'un pouvoir sensibilisant, différentes protéines plus ou moins immunogéniques et/ou allergéniques ont été administrées et les réponses immunitaires spécifiques induites ont été comparées. Les protéines références testées sont l'hémocyanine de patelle (KLH) en tant que protéine non allergénique mais fortement immunogénique, la  $\beta$ -lactoglobuline bovine (BLG) allergène majeur du lait de vache considérée comme un allergène modéré, et Ara h1, allergène majeur de l'arachide, protéine reconnue comme fortement allergénique.

L'administration de ces protéines par voie intra-gastrique est peu efficace pour l'induction d'une réponse immunitaire spécifique. Seule la KLH induit une réponse spécifique de type Th1. L'administration i.g. de la protéine isolée et purifiée conduit certainement à sa dégradation rapide et à la perte de tout ou partie de son activité sur la réponse immunitaire.

Aucun des allergènes testés n'a induit de réponse Th2 suite à une administration par voie i.n.. A l'inverse, cette voie semble efficace pour évaluer le pouvoir immunogénique d'une protéine, la KLH et Cry 1Ab apparaissant fortement immunogéniques chez la souris Balb/c.

Toutes les protéines testées ont permis l'induction d'une réponse immunitaire spécifique suite à leur administration par voie i.p., réponse qui semble reproduire le pouvoir immunogénique (KLH) ou allergénique (BLG, Ara h1) des protéines testées. Concernant Cry 1Ab, deux types de réponses sont observés : (i) à faible dose, induction de la synthèse de fortes concentrations d'IgE spécifiques corrélée à une forte sécrétion d'IL-5, ce qui apparenterait Cry 1Ab à un allergène fort du type de Ara h1 (ii) à forte dose, sécrétion importante d'IFN $\gamma$ , ce qui apparenterait Cry 1Ab à une protéine comme la KLH, non allergène mais fortement immunogène. Cry 1Ab apparaît dès lors comme ayant un pouvoir sensibilisant intrinsèque plus important que la BLG mais moins efficace que Ara h1. Parallèlement, Cry 1Ab apparaît comme un fort immunogène chez la souris, comme en témoigne les sécrétions d'IFN $\gamma$  proches de celles observées par la KLH, et confirmant les résultats obtenus par voie intra-nasale.

Nous avons ensuite évalué la capacité de Cry 1Ab à induire le déclenchement d'une réaction allergique chez des animaux sensibilisés expérimentalement à cette protéine. Nous avons alors démontré que les souris sensibilisées expérimentalement par Cry 1Ab développent une réaction allergique suite à un test de provocation par cette même protéine. Il est à noter que ce déclenchement est d'intensité comparable que la protéine déclenchante soit la protéine naturelle (issue de *B. thuringiensis*) ou la protéine recombinante (produite chez *E. Coli*, mimant la protéine exprimée dans la PGM).

Enfin, nous avons évalué l'éventuel pouvoir adjuvant de Cry 1Ab, en co-administrant cette protéine avec la BLG, en absence de tout adjuvant. Ces expériences ont démontré qu'aucune modification significative de la réponse immunitaire, cellulaire ou humorale, spécifique de la BLG n'est observée suite à l'administration intra-nasale de BLG en présence de Cry 1Ab comparée avec l'administration de BLG seule. Par contre, un faible mais significatif effet adjuvant Th2 de Cry 1Ab est observé suite à la co-administration de Cry 1Ab à faible dose et de BLG par voie intra-péritonéale.

## Perspectives

L'ensemble des travaux réalisés dans le cadre du projet « Allergénicité des OGM » a permis de mieux caractériser la réponse immunitaire induite chez la souris Balb/c suite à l'administration de Cry 1Ab et de différentes protéines plus ou moins allergéniques via différentes voies d'administration. Il ressort de ces études que, chez la souris Balb/c, la protéine Cry 1Ab possède un potentiel sensibilisant, déclenchant et adjuvant. Cependant, ces résultats ont été obtenus sur un modèle animal qui ne peut reproduire la réponse immunitaire telle qu'elle se développerait chez l'homme et qui sera fonction de facteurs génétiques et environnementaux, des habitudes alimentaires, des doses rencontrées, de l'âge du sujet... Des études complémentaires devront être menées, utilisant plus d'animaux et plus de protéines références, afin de conclure quant à la présomption ou non d'allergénicité de Cry 1Ab et afin de proposer le présent modèle comme un outil fiable pour l'évaluation de l'allergénicité d'une protéine.

## Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

En cours de préparation

# *Évaluation et gestion des impacts agri- environnementaux liés à la culture d'OGM*

*Flux de gènes intra- et interspécifiques  
Agro-systèmes et dynamiques d'introgression  
Transferts horizontaux. Impacts écologiques au niveau du sol*



**Invited talk:**

**Upscaling leads to the unexpected in GM risk assessment**

**Keynote speaker: Geoffrey SQUIRE**

Professor at the Scottish Crop Research Institute, Scotland, UK

Mail: Geoff.Squire@scri.ac.uk

**Curriculum vitae**

Geoff Squire is a research ecologist with interests in population biology, food webs, ecological change and optimising biophysical and economic resilience. He coordinates a range of projects on geneflow, GM impacts and biodiversity in the UK and across Europe funded by the Scottish Executive, Defra and the EU, in the latter as coordinator of a major workpackage in the SIGMEA project. He has academic links with several universities in the UK, has advised governments, international bodies, farmers and the public on biotech crops, biodiversity, and primary production, and with colleagues pioneers educational work that takes research to the school curriculum. He was educated in Botany and Biology at Oxford (BA) and Lancaster (PhD), had formative years in an environmental physics group at Nottingham, from where he worked on tropical systems, and is now based at SCRI, Dundee.

**Abstract**

The tiered approach to introducing crop biotechnology in Europe proceeds by stepwise progression from containment to commercial practice. The consequence of moving from one tier to the next above is not always predictable, however. Four case studies are here considered in which some phenomenon is observed that was not expected from knowledge at the lower scale of measurement. The examples are – the effect of GM herbicide management on plant biodiversity; the persistence over time of GM herbicide tolerant oilseed rape (both in the UK's Farm Scale Evaluations); geneflow in landscapes of high and low erucic acid oilseed rape (a surrogate of commercial GM cropping); and the *Beta* complex of crop, weed and sea beet in Europe. So far, most such emergent effects have been small or moderate relative to other impacts of crops, climate or human intervention. Perhaps therefore we should not be alarmed by emergent behaviour, but should expect it and learn from it. Can we dissect the causes of the discrepancy in each of these cases to reveal some general pattern of events or common causation? The presentation will consider this question.





## Modélisation de la dispersion de transgènes à différentes échelles : synthèse des travaux réalisés en France ces dernières années

Présenté par : Claire LAVIGNE  
Mail : claire.lavigne@avignon.inra.fr

**Titre des projets récemment soutenus dans le cadre de l'ACI " Impact des OGM dans les agro-écosystèmes" et du programme OGM de l'ANR, Coordonnatrices et Responsables Scientifiques des équipes impliquées**

**Modélisation de la dispersion de transgènes à l'échelle de paysages agricoles (2003-06)**, Claire LAVIGNE<sup>1</sup>, Frédérique ANGEVIN<sup>2</sup>, Etienne KLEIN<sup>3</sup>, Jean-Marc MEYNARD<sup>4</sup>, Marianne LE BAIL<sup>5</sup>, Nathalie COLBACH<sup>6</sup>, Marc BENOIT<sup>7</sup>, Catherine MIGNOLET<sup>7</sup>, Katarzyna ADAMCZYK<sup>8</sup>, Florence LE BER<sup>9</sup>, Antoine MESSEAN<sup>2</sup>, Christophe SAUSSE<sup>10</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001*

**GCOM2AP - Apports de la modélisation dans une approche pluridisciplinaire pour gérer la coexistence de filières OGM et non OGM chez le maïs (2007-09)** Frédérique ANGEVIN<sup>2</sup>, Benjamin LOUBET<sup>11</sup>, Sylvain DUPONT<sup>12</sup>, Hervé MONOD<sup>8</sup>, Daniel GUERIN<sup>13</sup>, Joaquina MESSEGUER<sup>14</sup>, Stefan AMBEC<sup>15</sup>, Marion DESQUILBET<sup>16</sup>, Corinne LANGINIER<sup>17</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

**GMBIOIMPACT - Flux des (trans-)gènes et impact sur la biodiversité (2007-10)**, Jane LECOMTE<sup>1</sup>, Frantz DEPAULIS<sup>18</sup>, Jacques BAUDRY<sup>19</sup>, Yves BRUNET<sup>12</sup>, Etienne KLEIN<sup>20</sup>, François ROUSSET<sup>21</sup>, Catherine LAREDO<sup>8</sup>, Bernard VAISSIERE<sup>22</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2006*

<sup>1</sup>UMR 8079 Ecologie, Systématique et Evolution, Université Paris-Sud 11/Unité UPS-CNRS-ENGREF, Orsay; <sup>2</sup>UAR1240 Impact écologique des innovations en production végétale, INRA, Grignon; <sup>3</sup>UMR BIA, INRA/INA-PG; <sup>4</sup>UMR211 Agronomie INRA-INA PG., INRA, Grignon; <sup>5</sup>UMR1048 Systèmes agraires et développement:activités, produits, territoires, INRA-INA PG Paris; <sup>6</sup>UMR1210 Biologie et gestion des adventices INRA-ENESAD-Univ. Bourgogne; <sup>7</sup>UR55, Station de Mirecourt SAD, Mirecourt; <sup>8</sup>UR341 Mathématiques et informatique appliquées (MIA), INRA, Jouy en Josas; <sup>9</sup>UMR 7503 LORIA et INRIA, Nancy; <sup>10</sup>Centre Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitains (CETIOM), Grignon; <sup>11</sup>UMR 1091 Environnement et Grandes Cultures, INRA, Grignon; <sup>12</sup>UR 1263 Ecologie Fonctionnelle et Physique de l'Environnement, INRA, Bordeaux; <sup>13</sup>Unité Distinction, Homogénéité, Stabilité – maïs, Groupement d'étude des variétés et des semences (GEVES), Guyancourt; <sup>14</sup>Unitat de cultiu in vitro, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Barcelone, Espagne; <sup>15</sup>UMR1215 Laboratoire d'Economie Appliquée de Grenoble (GAEL), INRA-Univ. Grenoble II, Grenoble; <sup>16</sup>UR 685 Economie et sociologie rurales, INRA, Toulouse; <sup>17</sup>Iowa State University (ISU), Ames, Etats-Unis; <sup>18</sup>UMR 7625 Fonctionnement et Evolution des Systèmes Ecologiques, UPMC/CNRS/ENS Paris, Paris; <sup>19</sup>FR2116 Centre Armoricaïn de Recherche en Environnement (CAREN), CNRS, Rennes; <sup>20</sup>UR 546 Unité de Biométrie, INRA, Avignon; <sup>21</sup>UMR 5554 Institut des Sciences de l'Evolution, CNRS/Univ. Montpellier II, Montpellier; <sup>22</sup>UMR 406, Ecologie des invertébrés, INRA/ Univ. d'Avignon et de Pays de Vaucluse (UAPV), Avignon

**Mots clefs** : Description de paysages, paysages probabilistes, pollen, graines, filières, coexistence, flux de gènes, maïs, colza, modélisation, réglementation

### Résumé

La mise au point de modèles de flux de gènes à l'échelle d'un paysage agricole, incluant les systèmes de cultures, a été au cœur des recherches menées par plusieurs équipes françaises ces dernières années dans le cadre de plusieurs appels d'offres financés par l'INRA, le ministère de la Recherche et le CNRS. Ces équipes figurent toutes dans les trois projets présentés ci-dessus. Nous tenterons de résumer ici les principaux résultats obtenus en matière de modélisation de dispersion de gènes et de présenter les perspectives ouvertes par les deux nouveaux projets soutenus dans le cadre de l'appel d'offre ANR-OGM de 2006.

## Principaux résultats obtenus et applications envisageables

La perspective de la culture de variétés transgéniques pose, pour de multiples raisons, le problème de la ségrégation de filières de production basées sur la même espèce dans les paysages agricoles : demande d'une filière « sans OGM » ; coexistence avec les cultures biologiques, de productions alimentaires et non alimentaires. Dans ce contexte, il est important de pouvoir estimer a priori le taux d'impuretés OGM dans les récoltes de parcelles non OGM, en fonction de leur organisation spatiale et du climat, mais aussi de comprendre et prédire l'effet de modifications de pratiques agricoles sur ce taux.

Nous ne présenterons que les travaux obtenus par les équipes françaises concernant les flux de gènes intra-spécifiques. Les deux espèces cultivées principalement concernées par ces études sont le colza et le maïs qui diffèrent à la fois par leur mode de pollinisation (pollinisation mixte entomophile et anémophile pour le colza vs anémophile pour le maïs) et par la capacité de leurs graines à survivre aux hivers froids (dispersion spatio-temporelle pour le colza vs purement spatiale pour le maïs en France). Quelques études ont également été menées sur la betterave et seront présentées par ailleurs.

### **Modélisation de la dispersion du pollen à l'échelle d'une parcelle puis de quelques parcelles**

Si les mesures de dispersion de pollen ont été une préoccupation des producteurs de semences depuis plus de 50 ans, leur modélisation dans le cadre de la mise en culture des plantes transgéniques est plus récente. Deux approches coexistent, la première reposant sur une modélisation statistique de la dispersion qui décrit à l'aide de relations relativement simples (exponentielles, géométrique...) voire quasi mécanistes la probabilité d'une fécondation d'un ovule par un grain de pollen à une distance donnée d'une source. Elle intègre la libération du pollen, sa dispersion et la fécondation de la fleur femelle, sur l'ensemble de la période de floraison [23,24,27,28]. Il s'agit donc d'une mesure de la dispersion efficace du pollen. La seconde, physique, prend en compte explicitement, de manière mécaniste, l'influence de la turbulence atmosphérique sur le transport de pollen [15].

La modélisation statistique de la dispersion a d'abord été développée en couvert homogène à l'échelle d'une parcelle ou de deux parcelles contiguës. Elle a permis d'une part de prendre en compte les formes et tailles des parcelles ainsi que certaines caractéristiques variétales dans les prédictions [23,26] et, d'autre part, d'explicitier les différences qualitatives qui existent entre différents types de fonctions, et en particulier, de montrer que les fonctions de type exponentielle décroissante qui étaient classiquement utilisées dans la littérature sous-estimaient largement la dispersion à longue distance [12,13,22]. La prise en compte de ce phénomène oblige à passer d'un couvert végétal continu (la parcelle) à un couvert hétérogène (plusieurs parcelles séparées par d'autres éléments paysagers). Depuis le début des années 2000, se sont donc développés des travaux sur la prise en compte des discontinuités du couvert végétal (autres cultures, haies, sol nu...). Celle-ci peut être statistique, mais cette paramétrisation n'a été effectuée que sur quelques expérimentations [25,31,33] et les difficultés associées ont conduit à s'orienter parallèlement vers l'utilisation de modèle physique de dispersion du pollen.

Ces modèles reposant sur la modélisation des processus de libération, de transport et de dépôt du pollen, permettent, comme les précédents, de prédire la proportion de pollen issue d'une ou plusieurs sources atteignant une parcelle cible : modèles Aquilon [18,15,16], ARPS [14] et SMOP [21]. Cette approche prend en compte explicitement, de manière mécaniste, l'influence de la turbulence atmosphérique sur le transport de pollen. Le modèle lagrangien SMOP, calcule ainsi les trajectoires des grains de pollen, pour un environnement turbulent prescrit *a priori*. Les modèles, Aquilon et ARPS, vont plus loin dans la mesure où ils calculent eux-mêmes les champs de vent et de turbulence, tels qu'ils sont affectés par les caractéristiques structurelles du paysage, et utilisent ces champs pour simuler la dispersion.

### **Modélisation de la dispersion du pollen à l'échelle d'un paysage donné**

Le passage des modèles à l'échelle d'un paysage a été effectué bien avant que l'on ne sache prendre en compte l'effet d'hétérogénéités paysagères sur la dispersion. Les modèles MAPOD-maïs [3,5] et Genesys-colza [7,8] modélisent à la fois les flux de gènes et l'effet des systèmes de culture sur ces processus. Ils ont servi dans plusieurs études de coexistence de filières [4, 29, 30]. Ces deux modèles utilisent jusqu'à présent des modèles statistiques de dispersion. Le modèle maïs fonctionne sur une base annuelle - alors que GeneSys est un modèle pluriannuel - afin de prendre en compte les capacités de survie des graines d'une année sur l'autre.

MAPOD-maïs utilise une fonction de dispersion statistique adaptée de celle estimée à l'échelle d'un champ par Klein et al. [24]. L'extrapolation de cette fonction à l'échelle d'un paysage semble globalement bien validée lorsque l'on considère le taux d'impuretés moyen des parcelles [2]. En revanche, la distribution des pollinisations croisées à l'intérieur des champs est mal prédite (principalement les forts taux dans les premiers rangs). Le développement de modèles physiques permettra sans doute de mieux prendre en

compte ces hétérogénéités intra-parcellaires, même si des difficultés subsistent à modéliser les effets de bord [14,15].

Le passage à l'échelle du paysage a soulevé de nombreuses questions dans le cas du colza. La première concerne la dispersion du pollen. Le pollen de colza est en effet en partie transporté par les insectes et il n'existe à ce jour aucun modèle validé de dispersion entre champs qui prenne explicitement cette composante en compte. Le modèle GeneSys utilise donc aussi un modèle statistique de dispersion. La fonction utilisée n'a cessé d'évoluer au fur et à mesure que de nouveaux résultats expérimentaux étaient disponibles. La première fonction disponible avait été estimée à l'échelle d'une seule parcelle [23] et sous-estimait largement la dispersion à longue distance [9]. Une nouvelle fonction, estimée grâce à une expérimentation à l'échelle d'une quarantaine de km<sup>2</sup> [12], prédit cette fois mieux la dispersion à longue distance mais il semble que les patrons de pollinisations croisées observés ne puissent être expliqués simplement par des fonctions de dispersion [11]. Par ailleurs, l'effet des hétérogénéités paysagères sur la dispersion reste une thématique de recherche ouverte chez cette espèce. La deuxième question soulevée concerne la modélisation des sources de pollen. En effet, chez le colza, les sources de pollen sont non seulement constituées des champs de colza, mais également des populations hors-champs qui poussent le long des routes et chemins ou dans des terres non cultivées, et des repousses des cultures antérieures de colza dans les cultures actuelles. La modélisation des flux de transgènes chez cette espèce passe donc également par la modélisation de la dynamique de ces différentes sources. Dans GeneSys ces processus sont pris en compte grâce au fonctionnement d'une banque de graines dans le sol et par une dispersion à courte distance des graines (dispersion balistique), toutes deux calibrées sur des jeux de données expérimentaux acquis en France ou à l'étranger à des échelles locales. Des travaux en cours tentent de modéliser cette dynamique à l'échelle d'un paysage, en prenant notamment en compte la dispersion à longue distance des graines pour comprendre l'origine et la dynamique des populations hors-champs. Ces modèles sont fondés sur de grands jeux de données acquis sur une zone d'étude de 42 km<sup>2</sup> située dans le Loir et Cher (Selommes). Deux approches sont utilisées. La première consiste à estimer des fonctions de dispersion dans le cadre de modèles d'apparementement, comme cela est fait pour le pollen [19]. La seconde consiste à modéliser la probabilité de présence d'une population hors champs sur un fragment de route ou de chemin en fonction de l'historique de la culture de la zone (localisation passée et actuelle des champs et populations hors-champs de colza) [32]. Des estimations de paramètres sont aussi menées à partir de données de suivi mensuel de populations hors-champs afin d'affiner les projections de persistance issues des modèles de dynamique de populations [20]. Ces approches sont encore trop récentes pour avoir été intégrées ou couplées avec GeneSys.

### **Modélisation de paysages**

Les premières conclusions issues des modèles GeneSys et MAPOD étaient fondées sur un petit nombre de paysages disponibles à cette époque. La question s'est donc posée de savoir si les résultats obtenus dépendaient des caractéristiques des paysages utilisés comme base des simulations et s'ils pouvaient être extrapolés à d'autres contextes. Il a donc été proposé de développer un programme de simulation de paysages « réalistes » mais différents par quelques caractéristiques mesurables. Au préalable un travail de numérisation et caractérisation de paysages existants a été nécessaire [6]. Le programme Genexp qui en résulte permet de simuler différents types de parcelles sur une surface et d'attribuer des cultures aux parcelles [1,28]. Ces parcelles simulées peuvent ensuite être utilisées en entrée des deux modèles de flux de gènes. Cependant, leur réalisme vis-à-vis des caractéristiques importantes pour les flux de gènes est encore en cours d'étude.

### **Conclusions**

Les travaux menés sur la dispersion ces dernières années ont permis dans un premier temps de construire un cadre de modélisation de la dispersion, la fonction de dispersion individuelle, qui a été intégré dans les modèles GeneSys et MAPOD. Une fois ce cadre établi, parallèlement à un travail théorique sur les différences qualitatives entre types de fonctions, les recherches ont porté sur les estimations de ces fonctions individuelles de dispersion, tout d'abord sur un couvert végétal homogène, puis à l'échelle d'un paysage comprenant des discontinuités du couvert et des sources multiples de pollen et de graines lorsque les résultats ont mis en évidence l'importance de la dispersion à longue distance. Ce changement d'échelle a nécessité la mise en place de dispositifs expérimentaux originaux et l'exploitation de vastes jeux de données d'observations sur des cultures commerciales. Il a suscité des collaborations fructueuses sur le long terme entre chercheurs appartenant à différents champs disciplinaires.

En dix ans, notre vision de la dispersion du pollen a radicalement changé et, même s'il reste de toute évidence des progrès à faire, notre capacité de prédiction s'est considérablement accrue, permettant le test, par des modèles, de scénarios de coexistence entre cultures OGM et non OGM et l'utilisation de leurs résultats par les sciences économiques et de gestion.

## Perspectives

Les perspectives qui se dégagent de nos études visent à améliorer les prédictions de dispersion et à rendre les modèles existants plus opérationnels. Elles se structurent en 5 axes, qui sont :

- (1) La prise en compte des discontinuités paysagères dans la dispersion du pollen de maïs à l'aide de modèles mécanistes. Les simulations de ces modèles demandent beaucoup trop de temps de calcul pour qu'ils puissent être intégrés dans des modèles opérationnels à l'échelle de paysages. La solution envisagée dans le cadre du projet GCOM2AP est de prendre en compte, dans MAPOD-maïs, les effets de différents types de discontinuités par des déformations métriques qui auront été, au préalable, calibrées à partir d'un grand nombre de simulations effectuées à l'aide des modèles mécanistes.
- (2) Une meilleure compréhension des processus impliqués dans les flux de gènes à l'échelle du paysage chez le colza. Ceci passe par une poursuite, à plus grande échelle des travaux menée sur l'estimation de la dispersion des graines et d'une meilleure estimation de la fréquence de dispersion à longue distance notamment celle liée aux insectes pollinisateurs, par une approche de génétique des populations spatialisées sur l'origine et la dynamique des populations hors-champs, et par une mesure plus globale de l'impact des gestions des bordures sur les flux de gènes. Ces différents aspects seront abordés dans le cadre du projet GMBIOIMPACT. D'autre part une homogénéisation des protocoles de prise de données est en cours avec d'autres équipes portant des projets similaires au niveau européen.
- (3) Les nombreuses questions qui restent ouvertes suite au projet « paysage » qui se termine sur (i) les caractéristiques des paysages « à risque » vis-à-vis des flux de gènes et sur (ii) les parts respectives des caractéristiques des paysages, des environnements parcellaires et des parcelles elles-mêmes dans les variations observées des taux d'impuretés des parcelles non OGM. De nombreux paysages numérisés commencent à être disponibles au niveau européen et MAPOD et GeneSys sont maintenant couplés à un SIG dans le cadre du projet européen SIGMEA. Les paysages simulés auront donc surtout un rôle à jouer dans des scénarios prospectifs.
- (4) Les moyens de simplifier les modèles de dispersion sur des paysages pour les rendre opérationnels sans perdre trop de précision. Diverses voies d'approches sont envisagées pour cette simplification, fondées sur l'utilisation de méthodes statistiques (analyses de sensibilité, fouille de données) qui permettent de rechercher les paramètres ou processus (spatiaux, biologiques ou agronomiques) dont la variation a le plus d'effet sur les taux d'impuretés variétales prédits par les modèles [10,17]
- (5) Le couplage des modèles de flux existants avec des modèles socio-économiques qui étudient les possibilités de concertations entre agriculteurs afin de gérer à leur échelle la coexistence entre différents types de cultures (projet GCOM2AP).

## Références

Les références précédées d'un astérisque sont au moins partiellement issues du présent projet « Modélisation de la dispersion de transgènes à l'échelle de paysages agricoles », soutenu dans le cadre de l'ACI 2001

- [1]\*Adamczyk K., K.Kiêu, H.Monod, R. Stoica. 2006. Tessellation model for agricultural landscape. Presentation in 6th French-Danish Workshop on Spatial Statistics and Image Analysis in Biology (SSIAB), Skagen, Denmark.
- [2] Angevin, F., A. Gauffreteau, E. Klein, C. Lavigne, A. Messéan, and J.M. Meynard. 2006. Modélisation de la dispersion du pollen : Validation du modèle d'aide à la décision MAPOD
- [3]Angevin, F., E.K. Klein, C. Choimet, A. Gauffreteau, C. Lavigne, A. Messéan, and J.M. Meynard. Soumis. Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross pollination in agricultural landscapes: The MAPOD model.
- [4] Angevin, F., Colbach N., J.M. Meynard, and C. Roturier. 2002. Analysis of necessary adjustments of farming practices, pp. 145 *In* A.-K. Bock, Lheureux, K., Libeau-Dulos, M., Nilsagard H., Rodriguez-Cerezo, E., (ed.) Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission.
- [5]Angevin, F., E.K. Klein, C. Choimet, J.M. Meynard, A. de Rouw, and Y. Sohbi. 2001. Modélisation des effets des systèmes de culture et du climat sur les pollinisations croisées chez le maïs, p. 21-36 Pertinence économique et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM, Vol. Rapport du groupe 3. INRA – FNSEA.
- [6]\*Castelazzi M. S., J. N. Perry, N.Colbach, H. Monod, K. Adamczyk, V. Viaud, K. F. Conrad. 2006. New measures and tests of temporal and spatial pattern of crops in agricultural landscapes Agriculture, Ecosystems & Environment, accepté
- [7]Colbach, N., C. Clermont-Dauphin, and J.M. Meynard. 2001. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. Agriculture, Ecosystems & Environment 83:235-270.

- [8]Colbach N., F.Angevin, J.M.Meynard, A. Messéan 2004. Using the GeneSys model quantifying the effect of cropping systems on gene escape from GM rape varieties to evaluate and design cropping systems. *OCL* 11, 11-20
- [9]Colbach N., A. Fargue, C.Sausse and F.Angevin 2005. Evaluation and use of a spatio-temporel model of cropping system effects on gene flow. Example of the GeneSys model applied to three co-existing herbicide tolerance transgenes. *European Journal of Agronomy* 22, 417-440
- [10]\*Colbach, N., N. Molinari, J.M. Meynard, and A. Messean. 2005. Spatial aspects of gene flow between rapeseed varieties and volunteers. *Agronomy for Sustainable Development* 25:355-368.
- [11]Devaux C., Klein E.K., C. Lavigne, C. Sausse and A. Messéan. Environmental and landscape effects on cross-pollination rates observed at long-distance among French oilseed rape (*Brassica napus*) commercial fields. soumis à *Journal of Applied Ecology*.
- [12]\*Devaux C., C.Lavigne, F.Austerlitz, E. K. Klein (sous presse) Inferring oilseed rape pollination patterns from microsatellite markers data at the landscape scale. *Molecular Ecology*.
- [13]Devaux C., C.Lavigne, H.Falentin-Guyomarc'h, S.Vautrin, J.Lecomte, E.K. Klein 2005. High diversity of oilseed rape pollen clouds over an agro-ecosystem indicates long-distance dispersal. *Molecular Ecology* 14:2269-2280.
- [14]Dupont S., Y. Brunet. 2006. Influence of foliar density profile on canopy flow: a large-eddy simulation study. *Agric. For. Meteorol.* (soumis)
- [15]Dupont S., Y. Brunet, N.Jaroz. 2006. Eulerian modelling of pollen dispersal over heterogeneous vegetation canopies. *Agric. For. Meteorol.*, sous presse. .
- [16]Dupont S., Y.Brunet 2006. Simulation of turbulent flow in an urban forested park damaged by a windstorm. *Boundary-Layer Meteorol.*, 120: 133-161.
- [17]Dzeroski, S. N.Colbach, A.Messéan. 2005. Analysing the effect of field characteristics on gene flow between rapeseed varieties and volunteers with regression trees. Second GMCC conference, Montpellier. 14-15 November 2005, Agropolis Productions Eds, pp 207-211.
- [18]Foudhil H., Y. Brunet, J.P. Caltagirone 2005. A fine-scale k-ε model for atmospheric flow over heterogeneous landscapes. *Environmental Fluid Mechanics*, 5: 245-267.
- [19]Garnier A. 2006. Dynamique et dispersion d'une espèce échappée des champs : le cas du colza. Thèse de doctorat de l'Université Paris-Sud 11, pp. 214.
- [20]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.
- [21]Jarosz, N., B. Loubet, and L. Huber. 2004. Modelling airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Atmospheric Environment* 38:5555-5566.
- [22] Klein, E., C. Lavigne, and P.-H. Gouyon. 2006. Mixing of propagules from discrete sources at long distance: comparing a dispersal tail to an exponential. *BMC Ecology* 6:3.
- [23]\*Klein, E.K., C. Lavigne, H. Picault, R. Michel, and P.H. Gouyon. 2006. Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology* 43:141-151.
- [24]Klein, E.K., C. Lavigne, X. Foueillassar, P.H. Gouyon, and C. Laredo. 2003. Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecological Monographs* 73:131-150.
- [25]Larédo, C., and A. Grimaud. soumis. Stochastic models and statistical inference for plant pollen dispersal.
- [26]Lavigne, C., E.K. Klein, P. Vallee, J. Pierre, B. Godelle, and M. Renard. 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.
- [27]Lavigne, C., B. Godelle, X. Reboud, and P.H. Gouyon. 1996. A method to determine the mean pollen dispersal of individual plants growing within a large pollen source. *Theoretical and Applied Genetics* 93:1319-1326.
- [28]\* Le Ber F., C. Lavigne, J.-F. Mari, K. Adamczyk, F. Angevin. 2006 GenExP, un logiciel pour simuler des paysages agricoles, en vue de l'étude de la diffusion de transgènes. In : Actes du Colloque International de Géomatique et d'Analyse Spatiale (SAGEO 2006), Strasbourg, éd. par C. Weber et P. Gançarski, Cdrom.
- [29]Messéan, A., Angevin F, M. Gómez-Barbero, K. Menrad, and E. Rodríguez-Cerezo. 2006. New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture.
- [30]Meynard, J.M., and M. Le Bail. 2001. Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ INRA-FNSEA.
- [31]Milhem H., H. Picault, M. Renard, and S. Huet. soumis. Effect of a crop discontinuity on the oilseed rape pollen dispersal function.
- [32]Pivard S., K. Adamczyk, J. Lecomte, C. Lavigne, A. Bouvier, A. Deville, PH Gouyon, S. Huet Where do the feral oilseed rape populations come from? A large-scale study of their possible origin in a farmland area. En révision pour *Journal of Applied Ecology*.
- [33]Reboud, X. 2003. Effect of a gap on gene flow between otherwise adjacent transgenic *Brassica napus* crops. *Theoretical and Applied Genetics* 106:1048-1058.



## Dispersion du pollen de maïs à longue distance : sources, transport, dépôt

Présenté par : Yves BRUNET  
Mail : Yves.Brunet@bordeaux.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Dispersion du pollen de maïs à longue distance : sources, transport, dépôt** (2004-06), Yves BRUNET<sup>1</sup>, Laurent HUBER<sup>2</sup>, Xavier FOUEILLASSAR<sup>3</sup>, Jean-Pierre PINTY<sup>4</sup>, Pierre TULET<sup>5</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2004

<sup>1</sup>UR1263 Écologie fonctionnelle et physique de l'environnement (EPHYSE), INRA, Bordeaux ; <sup>2</sup>UMR 1091 Environnement et grandes cultures (EGC), INRA, Grignon ; <sup>3</sup>Arvalis, Institut du Végétal, Montardon ; <sup>4</sup>UMR 5560 Laboratoire d'Aérodynamique (LA), CNRS, Toulouse ; <sup>5</sup>Centre National de Recherches Météorologiques (CNRM), Météo-France, Toulouse.

**Mots Clefs** : Pollen, maïs, émission, dispersion, transport, viabilité, longue distance, dépôt, fécondation, modélisation, mesures aéroportées

### Résumé

Suite à des observations révélant la présence de pollen de maïs viable dans toute la couche limite atmosphérique (les 1-2 premiers km de l'atmosphère), ce projet s'intéresse à la problématique de la dispersion à (très) longue distance. Sur la base d'expérimentations en laboratoire, de mesures in situ, d'observations spatiales et de modélisation, il aborde l'ensemble des processus impliqués : localisation des sources, déterminisme de l'émission, viabilité dans l'atmosphère, transport à l'échelle régionale, dépôt et fécondation éventuelle. Les résultats obtenus permettent de caractériser la dispersion à longue distance, d'en comprendre les mécanismes et de quantifier ses conséquences en terme de dissémination génétique.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

#### 1. Une caractérisation du transport et du dépôt de pollen de maïs à longue distance

##### *Transport de pollen en altitude*

Une série de mesures aériennes entreprises de 2002 à 2005 pendant la période de pollinisation du maïs visait à caractériser la présence éventuelle et la viabilité du pollen dans la couche limite atmosphérique (CLA, environ les 2 premiers km de l'atmosphère), au-dessus d'une vaste zone de mélange maïs-forêt (sud-Gironde, nord-Landes). A l'aide d'un dispositif original de piégeage de pollen, permettant de mesurer à la fois sa concentration dans l'air et sa viabilité, des résultats très clairs ont été obtenus : (1) en conditions convectives, fréquentes en juillet, on trouve du pollen dans toute la CLA, avec une concentration typique de 1 grain m<sup>-3</sup> ; (2) les variations temporelles et verticales de concentration sont typiques d'une CLA, en présence d'une source surfacique active en milieu de journée ; (3) la viabilité décroît avec l'altitude et le temps écoulé depuis l'émission, tout en restant significative.

##### *Viabilité du pollen dans l'atmosphère*

Des mesures complémentaires réalisées en chambre climatisée en 2004, sur toute une gamme de températures et d'humidité, montrent que la durée de vie du pollen est étroitement liée au déficit de saturation de l'air, et donc à la vitesse de dessèchement du grain. Elles indiquent que les conditions thermohydriques rencontrées en altitude allongent sa durée de vie de plusieurs heures par rapport à ce qu'elle est au sol dans les conditions typiques de juillet.

##### *Dépôt et fécondation à longue distance*

Un dispositif d'une quinzaine de mini-parcelles pièges de maïs à grains blancs a été installé dans la région d'étude en 2005 et 2006. Chacun de ces essais se trouvait à plusieurs kilomètres de toute parcelle de maïs commercial, en terrain dégagé ou dans de petites clairières. Les résultats, confortés par électrophorèse, montrent l'existence systématique de fécondations à longue distance, avec un taux moyen allant de 0.05% à 0.25% (selon que les plants étaient ou non castrés).



## 2. Vers une modélisation du transport de pollen à longue distance

### **Cartographie régionale des sources**

Une cartographie des surfaces cultivées en maïs dans notre région d'étude a été réalisée à partir d'images SPOT acquises en 2003 à deux dates clés du cycle de croissance de cette culture (semis, le 30 mai, et LAI vert maximal, le 19 juillet). A une résolution de 20 m, ces images ont été traitées sous Système d'Information Géographique et combinées à des couches d'informations spatiales. La cartographie a servi à guider et interpréter les mesures aéroportées et va permettre d'alimenter la modélisation du transport à l'échelle régionale.

### **Emission du pollen de maïs : étude expérimentale et modélisation**

Sur la base des données de concentration et de dépôt de pollen de maïs acquises à Grignon de 2004 à 2006 (avec chaque fois plusieurs dates de semis), une analyse de l'émission a été conduite en vue de sa modélisation, développée pour générer le terme source des modèles de transport pollinique. Deux types de modèles sont développés : biophysique et statistique (Marceau, 2006). La modélisation biophysique repose sur une estimation du potentiel d'émission durant la période de floraison (à partir du pic d'émission et de la dynamique journalière de floraison), puis de l'influence du climat (humidité relative, rayonnement global, pluie) sur ce potentiel (avec une paramétrisation climatique de l'écart entre émissions potentielle et réelle). L'approche statistique repose sur les séries temporelles où l'émission est décomposée en tendance, période et résidus ; cette méthode permet d'identifier les journées durant lesquelles la concentration s'est écartée notablement de l'allure générale gaussienne.

### **Viabilité du pollen au voisinage de la source**

Cinq expérimentations en plein champ ont été réalisées en 2005, avec une source constituée de 15 plants de maïs. A chacun des couples distance (0.5 m, 2 m, 4 m) - hauteur (0.1 m, 0.9 m, 2.1 m) ont été placés des capteurs de pollen (milieux de germination). La majorité des grains tombe à une distance inférieure à 2 m et leur viabilité diminue quand la distance à la source, ou la hauteur de capture, augmente. Le pollen viable, plus lourd, chute ainsi plus rapidement que le pollen non viable. Les mesures ont également montré qu'il fallait une vitesse minimale de  $2 \text{ m s}^{-1}$  pour obtenir ce tri du pollen.

### **Vitesse de dépôt du pollen**

Des travaux précédents avaient permis de développer une technique de mesure en chambre de la vitesse de sédimentation, puis de la relier à la teneur en eau du grain de pollen. Pendant ce projet, la technique a été validée par l'utilisation de billes de verre calibrées (Loubet et al., 2006).

### **Mise en place de la modélisation du transport à l'échelle régionale**

Un programme de modélisation du transport de pollen à l'échelle régionale a été mis en place avec le code atmosphérique communautaire Méso-NH. Une première journée de validation a été choisie (10 juillet 2003) et fait l'objet d'un travail sur la dynamique et la thermique de l'atmosphère. Quatre nouveaux compartiments ont été introduits de manière à prendre en compte la dispersion de pollen (concentrations en pollen vivant et mort, teneurs en eau associées). La mise en place des fonctions d'émission, d'évolution de la teneur en eau des grains et des vitesses de dépôt se fera prochainement, au fur et à mesure de la finalisation des étapes précédentes.

## Perspectives

Les perspectives du travail convergent vers l'utilisation de Méso-NH qui constituera le gros du travail dans l'année à venir. Deux phases de travail sont prévues : (1) une phase de validation du transport de pollen simulé par Méso-NH par rapport aux mesures aériennes effectuées sur la région landaise ; (2) une seconde phase consistant à évaluer numériquement les possibilités de parcours dans l'atmosphère du pollen et sa retombée à l'échelle de la région ; les simulations viseront en particulier à tester plusieurs types de conditions climatiques (plus ou moins convectives) et plusieurs types d'occupation du sol (champs de maïs de plus ou moins grande dimension, divers degrés de fragmentation ou de localisation des parcelles, etc).

## Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

Plusieurs articles sont en cours de rédaction sur les différentes composantes du projet. Ne sont mentionnées ici que quelques publications ou communications effectivement réalisées.

Brunet Y., 2006. On maize pollen transport in the atmospheric boundary layer. 27th Conference on Agricultural and Forest Meteorology, San Diego, CA, USA, 22-25 May 2006.

Brunet Y., 2006. Upscaling transfer processes from plant scale to regional scale: application to pollen dispersal. Workshop "Up-scaling effects of genetically modified organisms to the landscape level", Brême, Allemagne, 30-31 January 2006.

Brunet Y., Foueillassar X., Audran A., Garrigou D., Dayau S., 2004. Evidence for long-range transport of viable maize pollen. 16th Conference on Biometeorology and Aerobiology, Vancouver, Canada, 23-27 August 2004.

- Foueillassar X., Audran A., Tardieu L., Loubet B., Brunet Y., 2005. Variation of viability and fecundation capacity of maize pollen with transport distance. Proceedings of GMCC-05, 2nd International Conference on Co-existence between GM and non-GM based agricultural supply chains, Montpellier, 14-15 November 2005, 255-259.
- Loubet B., Saint-Jean S., Jarosz N., Huber L., 2006. A method for measuring the settling velocity distribution of pollen. *Aerobiologia* (soumis).
- Marceau A. 2006. Etude de l'émission du pollen de maïs. INRA, UMR Environnement et Grandes Cultures. Master professionnel de Bioinformatique et Biostatistique, Paris XI.



## Rôle des diplogamètes dans les échanges de gènes au sein d'un complexe d'espèces polyploïdes : cas du blé dur et d'*Aegilops ovata*. Suivi de populations d'*Aegilops* au contact de blés cultivés et étude des phénomènes d'introgression

Présenté par : Jacques DAVID  
Mail : Jacques.David@ensam.inra.fr

### Titre des projets concernés, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Rôle des diplogamètes dans les échanges de gènes au sein d'un complexe d'espèces polyploïdes : cas du blé dur et d'*Aegilops ovata*** (2003-06), Jacques DAVID<sup>1</sup>, Sylvain SANTONI<sup>1</sup>, Jean-Claude DUSAUTOIR<sup>1</sup>, Agnès MIGNOT<sup>2</sup>, James MOLINA<sup>3</sup>, Elena BENAVENTE<sup>4</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projet 2002 du CNRS

**Suivi de populations d'*Aegilops* au contact de blés cultivés et étude des phénomènes d'introgression** (2005-07), Jacques DAVID<sup>1</sup>, Sylvain SANTONI<sup>1</sup>, Jean-Claude DUSAUTOIR<sup>1</sup>, Agnès MIGNOT<sup>2</sup>, James MOLINA<sup>3</sup>, Elena BENAVENTE<sup>4</sup>, Marta CIFUENTES<sup>4</sup>, Olivier CORITON<sup>5</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2004

<sup>1</sup>UMR1097 Diversité et génome des plantes cultivées (DGPC), INRA/ENSA-M/IRD, Montpellier, <sup>2</sup> UMR 554, Institut des Sciences de l'Evolution, Université Montpellier, <sup>3</sup>Conservatoire Botanique National Méditerranéen de Porquerolles, <sup>4</sup> ETSIA, Universidad Politécnica, Madrid, UMR 118 Amélioration des plantes et Biotechnologies Végétales Rennes

**Mots clefs** : flux de gènes, hybrides interspécifiques, gamètes non réduits, hybridation in situ, triticum, *Aegilops*, blé, fertilité, amphiploïdie

### Résumé

Depuis quelques années, les flux de gènes sont étudiés entre les blés cultivés, blé dur et tendre, et quelques espèces qui leur sont apparentées ; spp. notamment *Aegilops ovata*. Le taux d'hybridation en condition naturelle de contact est d'environ  $10^{-4}$  hybride interspécifique par graine d'*Aegilops ovata*. L'étude de ces hybrides a montré qu'existait une variation de la fertilité entre hybrides en fonction de leur géniteurs, cultivés ou sauvage. Le phénomène principal de la restauration de la fertilité, observé tant *in natura* qu'au laboratoire passe par la production chez les hybrides interspécifiques de gamètes non réduits dans les voies mâles comme femelles. Ces diplogamètes sont vraisemblablement issus d'une non division de la cellule mère des gamètes lors de la première division de la méiose. Cette aberration conduit à transmettre l'ensemble de l'information chromosomique et au rétablissement d'une méiose stable par le doublement du stock chromosomique. Ces formes fertiles sont des amphiploïdes spontanés. Toutefois, de nombreuses aberrations sont observées, les chromosomes sont porteurs de recombinaisons inter-génomiques, soit entre chromosomes des deux espèces soit entre chromosomes de la même espèce (les deux espèces génitrices étant elles-mêmes allo-tétraploïdes). Ceci suggère que la méiose est très perturbée chez les hybrides interspécifiques et que les diplogamètes permettent la transmission des recombinants. Il y a donc nombre de différences entre amphiploïdes issus du même hybride. Des études cytogénétiques utilisant les techniques de GISH (*genomic in situ hybridization*) sur des cellules en méiose chez les hybrides interspécifiques ont montré un appariement préférentiel entre les chromosomes d'*Ae. ovata* et les chromosomes du génome A du blé. Environ 60% d'associations chromosomiques cultivé-sauvage s'observent dans chacune des cellules en méiose. Il reste à vérifier que les amphiploïdes spontanés sont préférentiellement porteurs de translocations avec les chromosomes A. Une variation génétique a été observée sur les niveaux d'appariement chromosomique selon la variété de blé dur parente des hybrides.

La production de diplogamètes est sujette à des variations d'origine environnementale et génétique. Des croisements contrôlés ont permis de vérifier que certaines variétés de blé dur (Ardente par exemple) donnent très régulièrement des hybrides producteurs de diplogamètes tandis que d'autres donnent des hybrides fortement stériles. Les effets annuels sont également importants, l'année 2006 ayant révélé une forte productivité en diplogamètes dans les conditions du laboratoire et donc une forte production d'amphiploïdes spontanés. L'utilisation d'un compteur de cellules et la mise au point d'un procédé de

digestion des anthères permet désormais un haut débit d'analyses de la composition des pollen d'un hybride interspécifique.

L'existence d'une base génétique pour la production de diplogamètes pose des questions sur sa signification évolutive. Un modèle a montré qu'en cas de succès reproducteur de la nouvelle forme amphiploïde et de flux de gènes même faibles entre l'amphiploïdes et ses formes parentales, un gène qui améliorerait la production de diplogamètes chez l'hybride augmenterait fortement en fréquence chez les formes parentales, entraînant une boucle de rétro-action positive sur la production d'amphiploïdes. Ce phénomène pourrait être une des explications de la dynamique de la polyploïdisation dans certains complexes d'espèces.

Toutefois, les observations de terrain n'ont pas révélé de peuplement établi d'amphiploïdes blé x *Aegilops*. En dehors de tout gène venant du blé conférant un avantage sélectif dans le milieu sauvage, il semble que les flux réels soient très limités, voire indécélables avec des techniques de marquage ne couvrant pas une portion significative de génome. Une expérience de renforcement démographique d'amphiploïdes dans une parcelle expérimentale simulant une population naturelle est en cours. Les premiers résultats permettent d'envisager des éléments d'explication de la non-observation de peuplement établis d'amphiploïdes : chez la forme sauvage d'*Aegilops*, le rachis cassant à maturité permet à l'épi de s'implanter dans le sol et la germination démarre dès les premières pluies d'automne. Chez les amphiploïdes, les épis restent dressés et attachés à la tige. Peu finissent par tomber au sol, s'implanter et germer au bon moment. Cette expérimentation sera suivie sur plusieurs années pour vérifier cette hypothèse et étudier la valeur sélective des formes hybrides en milieu naturel.

Des outils pour la recherche d'introggression de blé dans l'espèce sauvage sont en cours de développement à partir de l'hybridation différentielle des différents génomes de blé et d'*Aegilops* sur des mini filtres portant 1536 clones BAC issus d'un génotype de blé dur. Des clones spécifiques de chacun des génomes A et B du blé ont été détectés et validés pour leur spécificité ; de même 10 clones ont donné une hybridation sur des membranes de nylon avec les sondes « A+B » mais pas avec la sonde « UM » (sondes AB+/UM-) et 15 clones ont donné un signal réciproque (sondes AB-/UM+). Toutefois leur utilisation en BAC Fish sur des éléments chromosomiques n'a pas permis pour l'instant une discrimination correcte des chromosomes des deux espèces au sein d'un amphiploïde. La mise en place de ces outils est un préalable nécessaire pour entamer une étude des flux de gènes effectifs (anciens) entre le blé et les espèces sauvages apparentées. Pour l'instant en effet, si les éléments nécessaires au transfert de gènes entre le blé et des formes sauvages sont en place (sympatrie, hybridation, restauration de fertilité), nous n'avons pas de preuves que le processus finissent par aboutir au transfert effectif d'information chromosomique de la forme cultivée à la forme sauvage étudiée ici (ce qui ne présume pas de ce qui pourrait se passer pour d'autres espèces apparentées). L'utilisation d'un gène chez le blé (par voie classique ou par transgénèse) pourrait modifier la valeur sélective des amphiploïdes et changer les conclusions de cette étude.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

- Mise en place d'une collaboration multi disciplinaire
- Mise au point d'une méthode d'étude du pollen d'analyse pollinique : comptage automatique, haut débit
- Suivi pluri annuel d'un réseau de populations par le spécialiste du conservatoire
- Identification de clones bac spécifiques de génomes de blé pour le développement de marqueurs d'introggression
- Mise en évidence d'un appariement interspécifique préférentiel
- Confirmation d'une base génétique chez le blé dur pour la production de gamètes non réduits

### Perspectives

- Vérification de la spécificité des clones BACs identifiés sur une collection d'*Aegilops*, d'amphiploïdes
- Utilisation des sondes BAC pour préciser les zones impliquées dans les recombinaisons homéologues
- Développement de marqueurs spécifiques d'introggression à partir des BAC identifiés
- Recherche du gène responsable de la fabrication des gamètes 2X : production de matériel végétal et cartographie, effet des conditions environnementales
- Suivi multi annuel du réseau de populations d'*Aegilops* par le conservatoire Botanique national
- Suivi multi- annuel de la valeur sélective de la population expérimentale d'amphiploïdes

**Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI ou de l'appel à projets du CNRS**

- Benavente E, Alix K, Dusautoir J-C, Orellana J, David JL 2001 Early evolution of the chromosomal structure of two *Triticum durum* x *Aegilops ovata* amphiploids carrying and lacking the *Ph1* gene. **Theor. And Appl. Genet** 103:1123-1128.
- David JL, Benavente E, Brès-Patry C, Dusautoir JC, Echaide M. 2004. Are neopolyploids a likely route for a transgene walk to the wild? The *Aegilops ovata* x *Triticum turgidum durum* case. Leitch, A. R.; Soltis, D. E.; Soltis, P. S.; Leitch, I. J.; Pires, J. C. **Biological Journal of the Linnean Society** 82 (4) : 503-510.
- Cifuentes M, Blein M., Blein and E. Benavente 2006. A cytomolecular approach to assess the potential of gene transfer from a crop (*Triticum turgidum* L.) to a wild relative (*Aegilops geniculata* Roth.). *Theoretical and Applied Genetics*, (112) , 657-664



## Analyse des flux de gènes *in natura* et de leur contrôle *in planta* dans le cadre du modèle colza-ravenelle

Présenté par : Anne-Marie CHÈVRE  
Mail : Anne-Marie.Chevre@rennes.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnateurs et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Analyse des flux de gènes *in natura* et de leur contrôle *in planta* dans le cadre du modèle colza-ravenelle** (2005-07), Anne-Marie CHÈVRE<sup>1</sup>, Eric JENCZEWSKI<sup>2</sup>, Frédérique EBER<sup>1</sup>, Sabrina DELAUNAY<sup>1</sup>, Juliette MONTEIL<sup>1</sup>, Cyril FALENTIN<sup>1</sup>, Virgine HUTEAU<sup>1</sup>, Olivier CORITON<sup>1</sup>, Katarzyna ADAMCZYK<sup>3</sup>, Catherine LAREDO<sup>3</sup>, Hervé MONOD<sup>3</sup>, Etienne KLEIN<sup>4</sup>, Claire LAVIGNE<sup>5</sup>, Jane LECOMTE<sup>5</sup>, Xavier PINOCHET<sup>6</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2004

<sup>1</sup>UMR118 Amélioration des plantes et biotechnologies végétales (APBV) INRA/AgroCampus Rennes, Le Rheu ; <sup>2</sup>Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes, INRA Versailles ; <sup>3</sup>Unité de Mathématique et Informatique Appliquées, INRA, Jouy en Josas ; <sup>4</sup>Unité de Recherche Biométrie, Avignon ; <sup>5</sup>UMR 8079 Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution, Orsay ; <sup>6</sup>CETIOM, Thivernal Grignon

**Mots clefs** : Flux de gènes, Colza, Ravenelle

### Résumé

Deux stratégies sont possibles pour évaluer les risques de dissémination, par reproduction sexuée, des gènes présents dans le génome des espèces cultivées (dont le transgène) vers celui des espèces sauvages apparentées : soit mesurer les probabilités de réalisation du croisement initial et suivre au fil des générations de pollinisation par l'espèce sauvage les possibilités d'introggression dans son génome (stratégie *in planta*), soit sonder les populations naturelles pour y rechercher *a posteriori* les traces d'introggression de l'espèce cultivée (stratégie *in natura*). La plupart des études réalisées ont appliqué la première démarche qui permet d'acquérir des connaissances sur les mécanismes génétiques en jeu, en ayant une connaissance précise des espèces donneuses et receveuses initiales, la plupart d'entre elles n'entretenant qu'un degré de parenté partiel. De façon générale, ces travaux montrent qu'au moins quelques hybrides primaires peuvent se former spontanément et présenter une valeur sélective non nulle. Cependant, peu de travaux ont abordé la question de la position initiale du (trans)gène dans l'espèce cultivée, qui joue certainement un rôle déterminant dans sa probabilité de transfert dans le génome de l'espèce sauvage. L'évaluation *a posteriori* nécessite de disposer de marqueurs permettant de discriminer de façon non ambiguë les gènes de l'espèce cultivée dans les populations sauvages. Ces flux dépendent de l'historique de coexistence des deux espèces ainsi que des localisations des gènes tels que mentionnés dans le premier point.

Nous avons appliqué ces deux stratégies dans le cadre du modèle colza-ravenelle. Nous avons démontré antérieurement que parmi les adventices les plus fréquentes dans les conditions de culture françaises, la ravenelle (*Raphanus raphanistrum*, RrRr, 2n=18) est celle qui présente une aptitude à l'hybridation spontanée avec le colza (*Brassica napus*, AACC, 2n=38) et une fréquence élevée d'appariements chromosomiques intergénomiques (Chèvre et al. 2004). L'étude de générations avancées, en situations optimales en présence de ravenelle comme pollinisateur, n'ont pas permis d'obtenir une plante à 18 chromosomes comme la ravenelle et contenant le gène *bar* qui confère la résistance à un herbicide total, le Basta® ; cependant, un seul site d'insertion de ce gène a été analysé. Aucune étude n'avait été réalisée à partir de populations de ravenelles présentant des historiques différents vis à vis de la culture du colza faute de marqueurs espèce spécifique, le colza et la ravenelle partageant un ancêtre commun.

Pour l'approche *in planta*, nous avons produit à partir de 7 lignées de la variété de colza, Westar, issues de 7 événements indépendants de transformation pour le gène *Brx* qui confère la résistance aux Oxylnils, 7 hybrides F1 de colzas mâles stériles sur la variété Fu Brutor. Nous avons montré par cartographie génétique et analyse d'un demi-diallele que tous les sites d'insertion étaient indépendants. Les hybrides ont été placés au champ, en présence de ravenelle comme pollinisateur, pendant 5 générations ; à partir de la seconde génération, nous avons constitué deux groupes de plantes par origine, traitées à l'herbicide ou non, un traitement ayant été appliqué systématiquement dans les premières générations. Les structures génomiques observées au fil des générations nous ont permis de mettre au point un modèle de régression linéaire qui a été utilisé pour analyser les effets génération, lignées et pression de sélection sur l'évolution des structures



chromosomiques (Chèvre et al. 2006). Parallèlement, l'étude comparée des variétés de colza utilisées et de bulks de ravenelle, représentatifs de la population pollinisatrice, à l'aide de marqueurs moléculaires bien répartis sur la carte génétique du colza, nous ont permis d'identifier 100 marqueurs spécifiques du colza couvrant 75% du génome de colza (Pietro et al. 2005). Ils ont été utilisés pour analyser 400 hybrides de la 5<sup>ième</sup> génération. L'analyse montre que seules cinq régions du colza semblent avoir subi des remaniements avec le génome de la ravenelle. La caractérisation cytogénétique de ce matériel est en cours.

Pour l'approche *in natura*, après avoir testé une gamme de 8 variétés de colza comparée à des bulks de ravenelle, nous avons montré que 41 marqueurs sur les 100 marqueurs précédemment identifiés étaient spécifiques du colza et bien répartis sur le génome. Ils ont été utilisés pour rechercher des introgressions dans des populations de ravenelle. Ces dernières ont été collectées dans des régions présentant un historique différent vis à vis de la culture du colza : une cohabitation de plus de 100 ans en Normandie (18 populations, 712 plantes) ou 10 à 30 ans dans le Cher et à Selommes (77 populations, 833 plantes). L'analyse des marqueurs a révélé que seules les populations de Normandie présentaient des marqueurs du colza et une nouvelle collecte en 2006 devrait permettre de confirmer la présence d'introgressions et leur nature.

Les travaux réalisés nous ont permis de préciser l'évolution chromosomique des hybrides qui peuvent se former au champ et l'impact de la localisation des gènes du colza sur leur possible transfert dans le génome de la ravenelle. L'ensemble des outils développés devrait permettre de préciser des outils de biovigilance à mettre en œuvre dans ce modèle.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

- Modélisation de l'évolution des structures génomiques dans le cadre du modèle colza-ravenelle
- Identification de marqueurs moléculaires spécifiques du colza par rapport à la ravenelle
- Evaluation de l'effet de la localisation génétique des gènes de colza sur leur possibilité de transfert dans le génome de la ravenelle
- Premiers screenings de populations de ravenelle pour rechercher les traces d'introgression

Ces travaux devraient avoir des applications :

1. pour l'exploitation de modèle pour les suivi de flux de gènes interspécifiques
2. pour l'identification de régions du génome du colza présentant un risque moindre d'être transférées dans le génome de la ravenelle
3. pour la mise au point d'outils de suivi dans le cadre de programmes de biovigilance

### Perspectives

1. Développer des modèles prenant en compte la fertilité et la pression de sélection au cours des générations
2. Préciser les régions génomiques du colza présentant un risque moindre de transfert dans le génome de la ravenelle
3. Développer un modèle à partir des données recueillies par analyse *a posteriori* et recherche historique permettant de préciser les vitesses de développement du risque d'introgression en fonction des conditions ou durées de cohabitation colza / ravenelle. Ce modèle intégrera à terme la valeur sélective du transgène dans les populations de ravenelle adjacentes aux autres.

### Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

- CHEVRE A.M., ADAMCZYK K., EBER F., HUTEAU V., CORITON O., LETANNEUR J.C., LAREDO C., JENCZEWSKI E., MONOD H., 2006. Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. 1. Evolution of chromosome structure. *Theor. Appl. Genet.* (accepted)
- CHEVRE A.M., AMMITZBØLL H., BRECKLING B., DIETZ-PFEILSTETTER A., EBER F., FARGUE A., GOMEZ-CAMPO C., JENCZEWSKI E., JØRGENSEN R., LAVIGNE C., MEIER M.S., den NIJS H., PASCHER K., SEGUIN-SWARTZ G., SWEET J., C. N. STEWART Jr., WARWICK S., 2004. A review on interspecific gene flow from oilseed rape to wild relatives. In: *Introgression from Genetically Modified Plants into wild relatives*. Edts H.C.M. den Nijs, D. Bartsch, J. Sweet. CABI Publishing, Cambridge, pp 235-251
- CHÈVRE A. M., ADAMCZYK K., EBER F., HUTEAU V., CORITON O., LETANNEUR J.C., LAREDO C., MONOD H., MONTEIL J., DELAUNAY S., FALENTIN C., X.PINOCHET, JENCZEWSKI E., 2006. Assessment of interspecific gene flow from oilseed rape to wild relatives. 15<sup>th</sup> Crucifer genetics Workshop: Brassica 2006. 30<sup>th</sup> September- 4<sup>th</sup> October 2006, Wageningen. [invited paper]
- PRIETO J.L., POUILLY N., JENCZEWSKI E., DERAGON J. M., CHEVRE A. M., 2005. Development of crop-specific transposable element (SINE) markers to study gene flow from oilseed rape to wild radish. *Theor. Appl. Genet.* 111: 446-455

**Propagation potentielle de transgènes dans un genre entier. Deux cas de plantes domestiquées par reproduction végétative : *Manihot*, Euphorbiacées (manioc) et *Arracacia*, Ombellifères (arracacha) : reproduction sexuée résiduelle et introgressions réciproques avec des espèces éloignées.**

**Présenté par : Gérard SECOND**

Mail : gerard.second@mpl.ird.fr

**Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées**

Propagation potentielle de transgènes dans un genre entier. Deux cas de plantes domestiquées par reproduction végétative : *Manihot*, Euphorbiacées (manioc) et *Arracacia*, Ombellifères (arracacha) : reproduction sexuée résiduelle et introgressions réciproques avec des espèces éloignées, (2003-06), Gérard SECOND<sup>1</sup>, Eduardo MORILLO<sup>2</sup> et Jean Louis PHAM<sup>1</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets 2002 du CNRS

<sup>1</sup>UMR Diversité Génétique et Génomes des Plantes Cultivées, IRD, INRA, ENSAM, Montpellier ; <sup>2</sup>Instituto Nacional Autonomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), EESC, DENAREF, Quito, Equateur.

**Mots clefs** : Manihot manioc, Arracacia arracacha, flux de gènes, risques OGM, marche génomique, SSR

**Résumé**

Le manioc, domestiqué dans les régions chaudes d'Amérique du Sud, est la plante cultivée à racines la plus importante dans le monde tropical. L'arracacha fait partie de l'important groupe de plantes à racines ou tubercules domestiquées dans les Andes (dix plantes cultivées, dont huit sont propagées végétativement, appartenant à dix familles botaniques) qui, à l'exception de la pomme de terre, n'ont pas eu un grand succès dans le monde, tout en présentant, au moins pour certaines, un fort potentiel. L'arracacha est à la fois la seule ombellifère domestiquée au Nouveau Monde et aussi la seule de la famille à avoir été domestiquée par la reproduction végétative. Cela confirme l'existence d'un patron de domestication en Amérique Latine favorisant la reproduction végétative.

L'existence de traditions de gestion dynamique de la diversité génétique du manioc en milieu traditionnel amazonien brésilien et guyanais, par l'assemblage d'une large diversité dans un seul champ et le recrutement de germinations vigoureuses de graines sexuées, a été largement documentée. Ces traditions sont aussi observables en Equateur mais uniquement du côté amazonien, pas dans la plaine côtière Pacifique où pourtant tout porte à croire qu'il s'agit aussi d'une zone de domestication du manioc, en particulier de son type « doux ». De telles traditions n'ont pas été observées pour l'arracacha, bien qu'il soit rapporté que certaines communautés amérindiennes de Colombie utilisent sa reproduction par graines. Il est vraisemblable que la plupart des traditions de domestication amérindiennes ont disparu suite à la colonisation européenne qui, avec les épidémies, a conduit à l'effondrement rapide de leur civilisation, particulièrement dans les zones côtières et d'altitude.

Pour les deux genres entiers concernés ici, les limites entre espèces sont imprécises et aussi entre genres voisins, particulièrement dans le cas de l'arracacha. La distribution des genres s'étend de l'Amérique Centrale (y compris le Sud des Etats-Unis pour Manihot) au Nord de l'Argentine.

Dans le cas du manioc, il est connu que: i) il n'existe pas de barrière reproductive dans le genre entier bien qu'une grande diversité soit observée, largement structurée géographiquement et ii) une introgression artificielle, effectuée en Afrique au début du XXème siècle à partir de *Manihot glaziovii* introduit d'Amérique en vue de sa production de latex, est à la source de la première résistance connue du manioc à la mosaïque virale, maladie la plus importante du manioc dans l'Ancien Monde. En Amérique, la mosaïque virale n'est pas connue mais son introduction est redoutée. Des sources de résistance sont donc recherchées, tout en étant délicates à tester pour l'Amérique. Par contre, la bactériose du manioc, qui est la maladie la plus redoutable du manioc en Amérique, a été introduite accidentellement en Afrique. Il est connu qu'un QTL porté par le groupe de liaison D confère une résistance croisée à ces deux maladies. Ce QTL est porté par l'introgression artificielle mentionnée.

La diversité comparée (SSR, AFLP), tant du manioc que de l'arracacha avec celle de leurs ancêtres sauvages, confirme l'existence d'un brassage génétique qui ne peut être dû qu'à la recombinaison génétique. Alors que la diversité des formes sauvages présente une composante géographique forte, des combinaisons différentes regroupées selon une structure autre apparaissent parmi les cultivars. De plus, les deux espèces présentent une autre singularité commune dans le sens où une part de la diversité des cultivars ne s'explique pas par celle de l'ancêtre sauvage. Nous avons donc testé l'hypothèse que des introgressions, éventuellement réciproques entre cultivars et espèces sauvages éloignées, étaient à l'origine de cette observation. Cette hypothèse avait été avancée pour le manioc sur la base de résultats préalables au projet mais n'avait pu être validée de manière incontournable, d'une part en relation avec un possible polymorphisme allélique ancestral partagé entre espèces et, d'autre part, par manque de robustesse de la phylogénie allélique obtenue.

L'approche méthodologique choisie dans ce projet est de repérer des locus microsattellites (cartographiés génétiquement dans le cas du manioc) présumés introgressés et d'en séquencer les régions flanquantes du motif SSR. Une marche génomique préalable, à partir des clones SSR, permet d'allonger cette région pour augmenter le polymorphisme de séquence observé et donc la robustesse des phylogénies. L'analyse phylogénétique des différents allèles observés à ces locus, parmi les cultivars et différentes espèces sauvages, permet d'en déterminer éventuellement l'origine spécifique et, dans certains cas parmi les deux genres étudiés, de valider l'hypothèse d'allèles introgressés à partir d'espèces éloignées.

Dans le cas du manioc, l'utilisation de trois locus du groupe de liaison D permet de réfuter l'interprétation d'un polymorphisme ancestral partagé pour expliquer des rapprochements phylogénétiques interspécifiques et aussi de renforcer, globalement pour le groupe, la robustesse de la phylogénie, en particulier dans le cas où les trois locus pointent vers les mêmes introgressions pour le même individu. Pour les deux espèces, l'introgression a pu être confirmée dans des variétés traditionnelles sud-américaines. Dans le cas du manioc, différentes combinaisons d'allèles indiquent que l'introgression artificielle obtenue en Afrique et celle retrouvée dans des variétés traditionnelles sud-américaines représentent bien des événements distincts d'introgression à partir de la même espèce.

L'introgression est aussi démontrée réciproque car des allèles de la forme cultivée sont retrouvés dans des espèces sauvages éloignées. Dans le cas d'un locus de l'arracacha, l'introgression aurait conduit à l'existence de deux groupes d'allèles représentés à la fois parmi les cultivars, ses formes ancestrales et chez une espèce éloignée (*A. acuminata* - elle fut classée dans un genre différent- connue pour être fréquemment au contact des cultivars en particulier dans la zone de Colombie où les Amérindiens utilisent la reproduction de l'arracacha par graines). Des allèles recombinants sont observés parmi cette espèce sauvage, impliquant des recombinaisons répétées entre les deux groupes d'allèles distingués en phylogénie. L'hypothèse d'une origine anthropique de cette espèce éloignée peut être avancée. Chez *Manihot*, deux groupes d'accessions sont aussi distingués sur une base multilocus dans *M. glaziovii*, une espèce du complexe *M. carthaginensis*, l'un des plus éloignés du manioc parmi le genre. L'un de ces deux groupes est plus apparenté au manioc et pourrait aussi être d'origine anthropique.

### **Principaux résultats obtenus et applications envisageables**

Nous avons d'une part confirmé que des flux de gènes existent entre les cultivars et les formes sauvages des genres *Manihot* et *Arracacia* - qui atteignent les espèces du genre les plus éloignées génétiquement des cultivars - et, d'autre part, documenté une approche méthodologique originale de la question initiale proposée sur le risque de diffusion de trans-gènes à des genres entiers.

Dans le cas du manioc, un résultat important en pratique bien qu'indirectement en relation avec le projet, est la suggestion forte que certaines variétés traditionnelles d'Amérique du Sud pourraient être résistantes à la mosaïque virale africaine, dans la mesure où elles présentent une introgression similaire à celle qui confère la résistance en Afrique.

Dans le cas de l'arracacha, un résultat inattendu, directement utilisable du point de vue conservation et amélioration, est la mise en évidence de deux groupes de variétés bien distinguables au niveau moléculaire pour certains marqueurs probablement issus d'introgression ; cette différenciation n'était pas apparente sur la base des analyses morphologiques ou des données moléculaires antérieures. Cette différenciation pourrait pour partie être expliquée par la méthode d'analyse multivariée.

## Perspectives

Il apparaît possible d'appliquer, tant le concept que l'approche méthodologique, au cas de la pomme de terre, qui appartient au groupe andin de racines et tubercules.

Parmi d'autres plantes ciblées en priorité par la technologie OGM, une application possible semble être en particulier la vigne, pour les raisons suivantes : i) il s'agit d'une autre plante domestiquée avec la reproduction végétative (utilisée traditionnellement jusqu'à l'introduction d'Amérique du phylloxéra à la fin du XIXème), ii) la création ancienne de variétés par croisements spontanés entre cépages d'origines variées a été documentée et iii) le genre *Vitis* distribué en Eurasie et Amérique du Nord, ne semble pas comporter de barrière reproductive forte avec la vigne.

## Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

Eduardo MORILLO, Gérard SECOND, Jean Louis PHAM and A. Marie RISTERUCCI. 2004. Development of DNA microsatellite markers in the Andean root crop arracacha: *Arracacia xanthorrhiza* Banc. (Apiaceae). Molecular Ecology Notes, 4: 680-682.

Eduardo MORILLO, M. Hermann, Jean Louis PHAM and Gérard SECOND. 2006. Cryptic genetic structure and origin of the Andean root crop arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr. Umbellifereae) revealed by AFLP and chloroplast DNA polymorphism analysis. Accepté par Génome sous réserve de modifications.

Eduardo Morillo. 2006. Origine de la diversité de plantes domestiquées par la reproduction végétative en Amérique du Sud : reproduction sexuée résiduelle et introgression d'espèces éloignées. Exemples de l'arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr. Umbellifereae) et du manioc (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae). Thèse qui doit être soutenue le 4 décembre 2006. ENSAM.



## Impact du développement des plantes transgéniques dans les systèmes de culture

### Synthèse des travaux réalisés en France ces dernières années

Présenté par : Antoine MESSÉAN

Mail : messean@grignon.inra.fr

**Titre des projets soutenus récemment dans le cadre de l'ACI " Impact des OGM dans les agro-écosystèmes") ou du programme OGM de l'ANR**

**Impact du développement des plantes transgéniques dans les systèmes de culture** (2003-05), Antoine MESSÉAN<sup>1</sup>, Daniel BLOC<sup>2</sup>, Marc RICHARD-MOLARD<sup>3</sup>, Jean-Luc VERDIER<sup>4</sup>, Jacques GASQUEZ<sup>5</sup>, Nathalie COLBACH<sup>5</sup>, Enrique BARRIUSO<sup>6</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001 (MR2)*

**Evaluation et amélioration du modèle GENESYS-Betterave des effets des systèmes de culture sur le flux de gènes entre betterave sucrière et betterave adventice** (2006-07), Nathalie COLBACH<sup>5</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets ANR-OGM 2005*

<sup>1</sup>Centre Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitain (CETIOM) et Eco-Innov, INRA, Thiverval-Grignon ; <sup>2</sup>AGPM-Technique, Baziège ; <sup>3</sup>Institut Technique Français de la Betterave Industrielle (ITB) ; <sup>4</sup>Institut Technique des Céréales et des Fourrages (ITCF) ; <sup>5</sup>UMR1210 Biologie et gestion des adventices (BGA) INRA/ENESAD-Univ. Bourgogne, Dijon ; <sup>6</sup>UMR EGC INRA/AgroParisTech, Grignon

**Mots clefs** : Effets cumulatifs - Gestion de systèmes de culture - Ecobilan - Plantes-formes

### Résumé

Les premières demandes de mise sur le marché en Europe, au milieu des années 90, ont mis en lumière la nécessité de mieux apprécier l'effet des systèmes de culture et des pratiques agricoles sur l'impact des OGM sur l'environnement. Comme toute autre innovation, l'introduction d'OGM en agriculture engendre des modifications plus ou moins importantes dans le fonctionnement et la dynamique d'évolution des agro-écosystèmes, de par les interactions écologiques ou en raison des modifications induites dans les différentes composantes de l'itinéraire technique (i.e., travail du sol, désherbage). Or, ces effets indirects et/ou retardés sont en général mal pris en considération dans le cadre de l'évaluation réglementaire. Si ces questions ne sont pas nécessairement spécifiques aux OGM, ces derniers font l'objet d'exigences particulières en terme de prédiction des effets systémiques et ils constituent, par ailleurs, un excellent modèle d'étude. C'est ainsi que la nécessaire prise en compte de l'effet des pratiques agricoles a donné lieu en 1995, d'une part à la mise en place de dispositifs d'observation des effets cumulatifs d'OGM cultivés dans des conditions proches de la pratique actuelle (observatoires inter-instituts 1995-2004) et d'autre part au développement de modèles mathématiques permettant de prédire le comportement des OGM sur le long terme en prenant en compte les pratiques agricoles (projet GeneSys). Malgré des résultats originaux et leur contribution aux décisions publiques (e.g., moratoire colza), les dispositifs expérimentaux mis en place jusqu'à présent ont montré leurs limites, et la question des observatoires de longue durée reste aujourd'hui largement à traiter. En revanche, l'intérêt et la faisabilité de développer des modèles d'évaluation de l'effet des pratiques agricoles pour l'aide à la décision publique ou privée ont été démontrés. Malgré l'insuffisance des données expérimentales à grande échelle, ces modèles ont directement contribué à l'aide à la décision publique européenne et à la mise en place d'une communauté de recherche à l'échelle européenne au travers du projet européen SIGMEA ([23]).

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

#### **Contribution des plates-formes inter-instituts à l'étude des effets cumulatifs des OGM**

Les plates-formes inter-instituts ont été initialement mises en place afin d'observer principalement les effets à long terme ou inattendus d'OGM tolérants à un herbicide et/ou résistant à certains lépidoptères cultivés en rotation dans des conditions proches de la pratique agricole ([6], [7]). Outre de nombreux résultats techniques sur l'efficacité des technologies proposées ([1]), elles ont alimenté la prise de décision publique concernant les moratoires colza et betterave ([14], [18]). Elles ont constitué par ailleurs un support d'observation pour plusieurs projets de recherche dont les résultats sont rapportés par ailleurs (transfert

horizontal du gène de résistance à l'ampicilline vers les bactéries du sol – P. Simonet ; croisement interspécifique colza – crucifères adventices – A.-M. Chèvre).

1. Impact des repousses de colza dans la rotation. Les plates-formes inter-instituts ont permis de mieux connaître la dynamique des pertes de colza à la récolte et leur devenir dans la rotation en fonction des pratiques agricoles. Un volume important de graines (1000 à 6000 graines par m<sup>2</sup>) reste sur le sol de la parcelle de culture après la récolte. Ces graines entrent en dormance, pour plusieurs années et peuvent devenir des mauvaises herbes dans les cultures de la rotation. Ces colzas adventices constituent alors une nouvelle source potentielle d'émission de pollen et de graines. Le nombre de repousses par unité de surface est fonction notamment de l'humidité du sol et des pratiques agricoles à l'interculture. Dans les cultures de rotation, le type de culture, le travail du sol et le désherbage conditionnent le nombre de repousses au m<sup>2</sup>.

Ces résultats permettent d'évaluer la faisabilité d'une coexistence entre colza OGM et colza conventionnel dans le cadre de rotations culturales en estimant le taux de graines OGM retrouvées dans une culture conventionnelle implantée de 3 à 8 années après une culture de colza transgénique. Sur les situations observées dans les plates-formes, dans 6 cas sur 18, ce taux se situe au-dessus du seuil officiel de 0,9% rendant obligatoire l'étiquetage. Ce taux est très variable selon les lieux et les années mais le fond génétique des variétés cultivées ressort comme un élément déterminant. Par ailleurs, le pouvoir compétitif de la variété conventionnelle (e.g., hauteur des variétés) joue également un rôle important. Il en résulte que, si les pratiques agricoles au cours de la rotation (travail du sol) constituent un levier essentiel pour limiter la persistance dans le temps des repousses OGM, le choix variétal, et par-delà ce choix, la sélection variétale joue un rôle déterminant, ce qui rend encore plus délicate l'évaluation a priori des impacts des repousses dans la rotation ([20]).

2. Contribution des plates-formes à l'analyse de la dispersion à longue distance chez le colza

La dispersion à longue distance (de 500 m à 1500 m) a été observée, sur deux sites (Bourgogne et Champagne-Ardenne) et six années, dans les parcelles commerciales de colza situées autour des dispositifs expérimentaux inter-instituts. Les taux de pollinisation croisée font logiquement ressortir une grande variabilité en fonction des lieux, des années et des variétés. Alors qu'il est généralement admis que la dispersion décroît avec la distance, dans une situation (Bourgogne), on n'observe pas de décroissance avec la distance. Par ailleurs, l'ensemble des modèles de flux de pollen testés sous-estime les observations réelles. Malgré les difficultés d'interprétation inhérentes à ce type de dispositif, ces résultats soulignent la difficulté d'établir des courbes de dispersion à l'échelle du paysage à partir d'une simple source ([12]).

3. Contribution à l'analyse du flux de gènes chez la betterave

Des betteraves sucrières résistantes aux herbicides glufosinate et glyphosate ont été cultivées de 1996 à 2002 sur des champs d'un hectare en rotation avec du colza transgénique, du blé d'hiver et des jachères. Le flux de gènes depuis des betteraves sucrières ayant fleuri ont été mesurés chez les betteraves adventices spontanées ou repiquées dans le champ et dans la jachère. En moyenne, ce sont les betteraves sucrières transgéniques montées à graine qui ont produit la majorité des semences résistantes. Les flux de pollen issus des betteraves sucrières ne sont directement responsables que de 1,6 % des semences résistantes produites par des betteraves sensibles (tous types confondus). En revanche, les descendants d'hybrides entre les sucrières transgéniques et les adventices ont produit 10,9 % du total des semences résistantes. Ces résultats montrent qu'il faut contenir le flux de gènes dans sa phase initiale si on veut pouvoir utiliser durablement les variétés transgéniques en évitant les fuites de gènes et leurs conséquences agronomiques. Ils renforcent la nécessité de sélectionner des variétés résistantes à la montée, de bien contrôler la qualité des semences, et d'arracher soigneusement les montées au champ.

4. Bilan environnemental de cultures tolérantes à un herbicide

L'introduction de plantes génétiquement modifiées résistantes à des herbicides à large spectre, comme le glyphosate, modifie profondément les pratiques de désherbage. Un travail d'évaluation environnementale comparée de l'utilisation du glyphosate par rapport à l'utilisation des herbicides sélectifs couramment employés sur des cultures de colza, de betterave et de maïs a été réalisé.

L'évaluation a été réalisée à partir de la modélisation du devenir des herbicides et des produits issus de leur dégradation (les métabolites) dans le sol, l'eau, l'air, et les plantes, pour différents scénarios agronomiques. Les simulations sont basées sur des situations réelles fournies par les trois plateformes inter-instituts OGM en France. Le modèle décrivant le devenir des herbicides a été paramétré avec des données acquises au laboratoire, et testé en confrontant les simulations à des observations in situ. Les concentrations en herbicides simulées dans les différents compartiments de l'environnement ont ensuite été combinées à l'aide d'un second modèle permettant d'estimer l'impact des herbicides. Les résultats ont montré que l'impact environnemental du glyphosate est plus faible que celui des herbicides sélectifs. Néanmoins, les modèles prédisent à long terme une accumulation d'un métabolite du glyphosate, l'AMPA, dans le sol. Cette accumulation est d'autant plus sensible que la fréquence du retour des cultures génétiquement modifiées dans la rotation est élevée, ce qui soulève le problème de la durabilité de cette innovation ([15], [16], [17]).

## 5. Dérive de flore

Tout changement de régime de désherbage entraîne une dérive de flore et peut donner lieu, en cas de pression de sélection très forte, à l'apparition de résistance. C'est ainsi que les résistances au glyphosate se sont multipliées depuis le développement des cultures tolérantes au glyphosate aux États-Unis. Les plates-formes ont permis de mettre en évidence la perte d'efficacité et le développement de certaines graminées liés à la mise en œuvre d'une stratégie de désherbage de post-levée uniquement.

### ***Evaluation ex ante des impacts et conséquences pour la gestion***

Pour évaluer les impacts, directs ou indirects, immédiats ou différés, de l'introduction d'OGM dans les différents systèmes de production européens afin de mettre au point les modes de gestion adaptés et identifier les indicateurs biologiques et écologiques pertinents pour la biovigilance, il nous faut connaître le flux de gènes et l'effet des pratiques agricoles à l'échelle des agro-écosystèmes. Les études expérimentales ne sont plus suffisantes à cette fin, même si elles restent nécessaires pour mieux appréhender certains processus écologiques. Afin de développer nos capacités prédictives en termes d'impacts en prenant en compte la diversité des paysages agricoles et des pratiques agricoles, la modélisation est indispensable et vient compléter l'expérimentation et la nécessaire surveillance a posteriori.

Les travaux de modélisation du flux de gènes et de l'effet des systèmes et des pratiques agricoles se sont largement développés ces dernières années, notamment en France où, grâce à la collaboration entre des généticiens, des agronomes, des écologistes et des statisticiens, deux familles de modèles d'aide à la décision ont été mises au point : GeneSys-colza ([8]) dont il existe une version adaptée à la culture de la betterave et MAPOD-maïs ([2]).

#### 1. Construction de modèles d'étude de l'effet des systèmes et des pratiques agricoles.

En ce qui concerne la modélisation de l'effet des systèmes et des pratiques agricoles, le modèle GeneSys-Colza permet de prédire, au cours du temps, l'effet des parcelles agricoles, des règles d'allocation des cultures sur ce parcellaire, des pratiques agricoles appliquées pour les parcelles et leurs bordures et des structures génétiques des variétés cultivées sur la parcelle (OGM, non-OGM par exemple) des plantes et des graines en chaque point de l'espace. Ce modèle a été validé en utilisant des données recueillies sur les plates-formes inter-instituts ([10]). Les taux de croisement intra-spécifique dans les différentes parcelles de colza, les densités de repousses et leur profil (transgène porté) ont été observés sur plusieurs années et comparés aux sorties fournies par GeneSys-Colza. Globalement, les profils des récoltes et des repousses dans les champs de colza sont bien prédits. En revanche, les prédictions sont médiocres dans les bords de route et de champ. Par ailleurs, les repousses dans les cultures de printemps et la dispersion à longue distance sont sous-estimées, ce qui a amené à modifier la courbe de dispersion du pollen en tirant profit des travaux menés par ailleurs. Une analyse de sensibilité aux structures parcellaires et aux systèmes de culture a permis d'identifier que la présence d'OGM dans une parcelle de colza conventionnel était principalement déterminée par les pratiques culturales des 3 dernières années des parcelles situées dans un rayon de 200 à 400m ([11]).

Le modèle GeneSys a été adapté au cas de la betterave afin d'évaluer le risque de flux de gènes entre la betterave cultivée et la betterave adventice qui, dans le cas d'un OGM tolérant à un herbicide, conduit à l'apparition d'adventices résistantes à l'herbicide, soulevant ainsi des problèmes agronomiques. GeneSys-Betterave ([21], [22]) quantifie les effets des systèmes de culture sur le flux de gènes entre betteraves cultivées et adventices dans le cadre d'un parcellaire régional.

#### 2. Applications à l'évaluation a priori et à la gestion

Les modèles développés ces dernières années ont été utilisés à des fins d'aide à la décision publique dans le contexte particulier de la coexistence entre filières de production OGM, biologiques et conventionnelles. Trois études d'envergure, menées ces cinq dernières années, se sont appuyées sur ces modèles afin d'évaluer la faisabilité de la coexistence en fonction des contextes régionaux, des systèmes et des pratiques, d'identifier les mesures additionnelles qui devraient être mises en œuvre par les agriculteurs et d'en évaluer le coût :

- Pertinence et faisabilité d'une filière sans OGM portant sur le maïs et le soja ([3]);
- Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture traitant du colza et du maïs ([4]);
- New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture prolongeant l'étude précédente sur maïs et colza et l'étendant au cas de la betterave ([16]).

Dans le cas du maïs, le modèle MAPOD permet de définir les modalités d'agencement des parcelles dans le temps et dans l'espace pour limiter les croisements entre cultures génétiquement modifiées et



conventionnelles ou biologiques. Ainsi, des stratégies d'isolement des champs de maïs qui devraient être mises en œuvre pour respecter différents seuils de pureté des récoltes ou des productions de semences ont été identifiées et des tables d'aide à la décision élaborées ([3], [16]). En fonction du contexte régional, des systèmes de culture, des pratiques agricoles et des scénarios d'introduction des OGM, il est ainsi possible de d'évaluer si la coexistence est possible, de déterminer les éventuelles mesures que les agriculteurs devraient adopter (distances d'isolement, décalages de floraison, bordures non transgéniques) et d'estimer les coûts additionnels.

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 d'OGM dans les productions conventionnelles difficile à prédire du fait de l'effet majeur de l'ensemble des pratiques agricoles du système de culture sur de longues années. Ainsi entrent en jeu par exemple : la pratique du labour ou du travail simplifié, l'efficacité des herbicides pour le contrôle des repousses dans les cultures de céréales, les moyens employés pour nettoyer les bordures de parcelles, la présence de cultures de printemps dans la rotation... Ces caractéristiques expliquent aussi que l'effet du niveau initial d'impuretés OGM dans les semences est important, surtout dans le cas de grandes exploitations, mais reste moins déterminant que l'effet des pratiques agricoles. Si des simulations sur 50 ans montrent que, après l'introduction de variétés OGM dans une région, le niveau de présence fortuite d'OGM 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, notamment en termes d'organisation spatiale des cultures. L'utilisation de semences de ferme conduit, quant à elle, à une augmentation continue du taux de présence des OGM au cours du temps ([4], [9], [19]).

En ce qui concerne la betterave, différents scénarios de conduites de culture de betteraves OGM tolérantes à un herbicide ont été évalués dans le contexte de la Picardie et de la Bavière. Les bonnes pratiques agricoles permettant de limiter le risque d'apparition de betteraves adventices tolérantes à un herbicide chez les producteurs conventionnels ont été identifiées ([19]).

Outre l'aide à la décision des décideurs, des agriculteurs et des organismes collecteurs, ces différents modèles constituent également de véritables outils de dialogue et de négociation au sein des filières ou des territoires concernés par la coexistence. Dans le cadre du projet SIGMEA, des groupes d'agriculteurs sont ainsi réunis pour discuter des sorties du modèle et proposer des mesures de gestion qui soient à la fois efficaces et acceptables par les acteurs.

## **Perspectives**

### ***La question des observatoires longue durée et/ou des dispositifs de surveillance générale reste entière***

Au-delà des dispositifs spécifiques (comme les plates-formes inter-instituts ou le dispositif d'observation de Selommes), il apparaît un manque de données expérimentales à l'échelle des systèmes de culture. L'élaboration, sous l'égide des pouvoirs publics, d'un observatoire sur la dynamique de la flore dans les systèmes de culture français constitue probablement un exemple à consolider et à étendre. Compte tenu des nombreuses interactions à l'échelle des agro-écosystèmes, le suivi des impacts des OGM ne peut se concevoir que dans le cadre d'un réseau de surveillance de l'impact des systèmes de culture et des pratiques agricoles sur l'environnement. Les travaux menés à l'aide des modèles prédictifs doivent permettre d'aider à l'élaboration d'un tel réseau.

### ***Validation et analyse de sensibilité des modèles***

Dans l'esprit de ce qui a été fait dans le cas du modèle GeneSys-Colza, la validation et l'analyse de sensibilité des modèles d'effet des pratiques et des systèmes sur le flux de gènes se poursuit. Ce travail est engagé pour le modèle MAPOD depuis deux années et devrait déboucher rapidement.

En ce qui concerne le modèle GeneSys-betterave, la validation vient de débiter. Il s'agit d'en évaluer la validité à partir d'analyses de sensibilité du modèle et de comparaisons des simulations à des observations indépendantes de terrain, en particulier celles des plateformes INRA-ICTA ou collectées dans le projet européen SIGMEA. En fonction de ces résultats, le recueil de nouvelles données expérimentales pourra s'avérer nécessaire. Plusieurs voies peuvent déjà être envisagées, telles que la dispersion du pollen en fonction des contraintes du milieu, la compétition pollinique, la présence de gènes importants non encore pris en compte, ou la croissance et le développement des betteraves mauvaises herbes dans les espaces non cultivés.

Outre la validation du modèle, afin de le mettre à disposition des professionnels du secteur et des autorités publiques pour organiser sans risque la culture des betteraves OGM, l'enjeu est aussi de démontrer la versatilité et l'adaptabilité de GeneSys afin d'en généraliser l'usage pour diverses cultures et systèmes de cultures (Cf. point suivant).

### **Extension de la plateforme générique de modélisation à d'autres espèces**

S'appuyant sur les atouts du modèle GeneSys – la prise en compte du parcellaire – et tenant compte de ses limites (interface utilisateur, prise en compte de l'hétérogénéité des paysages, passage de la parcelle à la région agricole), le projet de recherche européen SIGMEA se donne pour objectif de développer une plateforme générique, intégrant les modèles existants et prenant en charge d'autres espèces comme le blé ou le riz. Un premier prototype de cette plateforme sera disponible en 2007 et son utilisation en situation de décision par les opérateurs sera alors envisagée. Cette plateforme pourra également être étendue à l'analyse d'autres flux biologiques (comme le flux de spores) pour lesquels la prise en compte de phénomènes spatialisés complexes est essentielle.

### **Utilisation des modèles comme outil de médiation entre acteurs dans différentes situations de décision**

Les modèles développés jusqu'à présent ont cherché à concilier qualité de prédiction et facilité d'usage dans une situation de décision. Il est ainsi possible de déterminer assez facilement dans quelles conditions le respect d'un seuil de 0,9 % dans les productions conventionnelles est possible et de formuler des recommandations générales. Néanmoins, deux écueils restent présents :

- à l'échelle locale, les mesures de gestion générales peuvent s'avérer inopérantes, inapplicables ou trop coûteuses à mettre en œuvre. En revanche, les agriculteurs et/ou les organismes de collecte et de stockage peuvent construire des solutions adaptées. C'est pourquoi la mise en œuvre de « focus groups » utilisant les modèles ci-dessus comme outil de médiation sont essentiels. Les remontées de ces groupes, actuellement mises en œuvre dans le projet SIGMEA (Alsace, Centre, Aquitaine, Ecosse et Aragon) aideront à passer de prototypes à des outils utilisables en situation de décision ;
- Il est des situations de décision où la qualité de prédiction des modèles reste à améliorer sensiblement comme pour le respect de seuil de présence très bas et des données d'entrée plus précises et plus complexes, qui ne seront pas facilement accessibles, seront nécessaires. Des outils de décision simple (arbres de décision, [5]), spécifiquement adaptés à une situation de décision particulière et ne nécessitant qu'un nombre limité de données d'entrée, sont en cours d'élaboration à partir de bases de données constituées de simulations réalisées avec les modèles « complets » mis en œuvre dans des situations représentatives totalement décrites ([13]).

### **Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI et de l'appel à projets de l'ANR**

Les références précédées d'un astérisque sont au moins partiellement issues des projets mentionnés

- [1]\*Astoin M.-F., Champolivier J., Messéan A. 2000. Evaluation des impacts du flux de transgènes de tolérance à différents herbicides à large spectre. *Oléagineux, Corps Gras et Lipides*, 7:345-349, 2000.
- [2] Angevin, F., E.K. Klein, C. Choimet, A. Gauffreteau, C. Lavigne, A. Messéan, and J.M. Meynard. Soumis. Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross pollination in agricultural landscapes: The MAPOD model.
- [3] Angevin, F., Colbach N., J.M. Meynard, and C. Roturier. 2002. Analysis of necessary adjustments of farming practices, pp. 145 In A.-K. Bock, Lheureux, K., Libeau-Dulos, M., Nilsagard H., Rodriguez-Cerezo, E., (ed.) Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission.
- [4] Angevin, F., E.K. Klein, C. Choimet, J.M. Meynard, A. de Rouw, and Y. Sohbi. 2001. Modélisation des effets des systèmes de culture et du climat sur les pollinisations croisées chez le maïs, p. 21-36 *Pertinence économique et faisabilité d'une filière sans utilisation d'OGM*, Vol. Rapport du groupe 3. INRA – FNSEA.
- [5] Bohanec M., Dzeroski S., Znidarsic M., Messéan A., Scatasta S., Wesseler J. 2004. Multi-attribute modelling of economic and ecological impacts of cropping systems. *Informatica*, Vol. 28, p. 387-392
- [6] Champolivier, J. ; Gasquez, J. ; Messéan, A. ; Richard-Molard, M. Management of transgenic crops within the cropping system. *Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops* ; 1999/04/12-14 ; Keele (GBR). Lutman, P.J.W. *Gene Flow and Agriculture relevance for transgenic crops*. Farnham (GBR) : British Crop Protection Council ; 1999, 233-240.
- [7] Champolivier J., Messéan A., Prunier J.-P. 2001. Culture de variétés de colza tolérantes à un herbicide : de l'évaluation à la biovigilance. *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France* : séance du 4 avril 2001 - Gestion des cultures de colza transgénique : progrès récents des recherches agronomiques, CRAA n°5, 31-49, 2001
- [8] Colbach, N., C. Clermont-Dauphin, and J.M. Meynard. 2001. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 83:235-270.
- [9] Colbach N., F. Angevin, J.M. Meynard, A. Messéan 2004. Using the GeneSys model quantifying the effect of cropping systems on gene escape from GM rape varieties to evaluate and design cropping systems. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, Vol. 11, 11-20
- [10]\* Colbach N., A. Fargue, C. Sausse and F. Angevin 2005. Evaluation and use of a spatio-temporel model of cropping system effects on gene flow. Example of the GeneSys model applied to three co-existing herbicide tolerance transgenes. *European Journal of Agronomy* 22, 417-440

- [11]\* Colbach, N., N. Molinari, J.M. Meynard, and A. Messean. 2005. Spatial aspects of gene flow between rapeseed varieties and volunteers. *Agronomy for Sustainable Development* 25:355-368.
- [12]\* Devaux C., Klein E.K., C. Lavigne, C. Sausse and A. Messéan. Environmental and landscape effects on cross-pollination rates observed at long-distance among French oilseed rape (*Brassica napus*) commercial fields. soumis à *Journal of Applied Ecology*.
- [13]\* Dzeroski, S. N.Colbach, A.Messéan. 2005. Analysing the effect of field characteristics on gene flow between rapeseed varieties and volunteers with regression trees. Second GMCC conference, Montpellier. 14-15 November 2005, Agropolis Productions Eds, pp 207-211.
- [14]\* Fellous M., Messéan A. 2004. Potential environmental impacts associated with large-scale herbicide-tolerant GM oilseed rape crops: scientific opinion issued by the Biomolecular Engineering Committee (CGB). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, Vol. 11, n° 4, 246-252
- [15] \*Mamy, L. & Barriuso, E. 2005. Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate-resistant crops. *Chemosphere*, 61, 844–855.
- [16] \*Mamy, L., Barriuso, E. & Gabrielle, B. 2005. Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamilon and sulcotrione compared with that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 61, 905–916.
- [17] \*Mamy, L. & Barriuso, E. 2006. Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils, *European Journal of Soil Science*,
- [18] Messéan A. 2001. Monitoring case report : impact of transgenic plants within cropping systems. In *LMOs and the Environment, Proceedings of and International Conference, OECD, Raleigh (USA), 26-30 november, 2001*, edited by Craig Roseland, pp 207-215.
- [19] \*Messéan, A., Angevin F, M. Gómez-Barbero, K. Menrad, and E. Rodríguez-Cerezo. 2006. New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture. Technical Report Series of the Joint Research Center of the European Commission.
- [20]\* Messéan A., Sausse C., Gasquez J., Darmency H. 2006. Occurrence of genetically modified oilseed rape seeds in the harvest of subsequent conventional oilseed rape in the rotation. Soumis à *European Journal of Agronomy*
- [21] Sester M., Delanoy M., Colbach N., Darmency H. (2004) Crop and density effects on weed beet growth and reproduction. *Weed Research* 44, 50-59
- [22] Sester M., Dürr C., Darmency H., Colbach N. (2005) Evolution of weed beet (*Beta vulgaris* L.) seed bank: quantification of seed survival, dormancy, germination and pre-emergence growth. *European Journal of Agronomy* (sous presse)
- [23] SIGMEA "Sustainable Introduction of GMOs into European Agriculture". FP6 STREP, 2004-2007. <http://sigmea.dyndns.org/>

## Conséquences écologiques et agro-économiques de l'introduction de cotonniers transgéniques dans un agrosystème tropical : le cas du Coton Bt chez les petits paysans des Makhathini Flats (Afrique du Sud)

Présenté par : Jean-Luc HOFs

Mail : jean-luc.hofs@cirad.fr

**Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées**

**Conséquences écologiques et agro-économiques de l'introduction de cotonniers transgéniques dans un agrosystème tropical : le cas du Coton Bt chez les petits paysans des Makhathini Flats (Afrique du Sud)** (2003-05), Jean-Luc HOFs<sup>1</sup>, Bernard HAU<sup>1</sup>, Catherine PANNETIER<sup>2</sup>, Maurice VAISSAYRE<sup>3</sup>, M. FOK<sup>4</sup>, A-M. K. KUNERT<sup>5</sup>, A. SCHOEMAN<sup>6</sup>, J.KIRSTEN<sup>7</sup>, G. VAN ROOYEN<sup>8</sup>, Anne-Marie CHEVRE<sup>9</sup>, J. PIERRE<sup>9</sup>, E. KLEIN<sup>10</sup>.

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001

<sup>1</sup>UPR Systèmes cotonniers en petit paysannat, CIRAD, Montpellier ; <sup>2</sup>UR501 Laboratoire de Biologie Cellulaire (LBC) INRA/CIRAD, Versailles-Grignon ; <sup>3</sup>CIRAD ; <sup>4</sup>CIRAD, <sup>5</sup>Université de Pretoria FABI, <sup>6</sup>Université de Pretoria Dept.of Entomology, <sup>7</sup>Université de Pretoria, <sup>7</sup>Université de Pretoria Dept.of Rural development, <sup>8</sup>Université de Pretoria Dept.of Botany, <sup>9</sup>UMR118 Amélioration des plantes et biotechnologies végétales (APBV), INRA/AgroCampus Rennes, Rennes, <sup>10</sup>Unité de Biométrie INRA Avignon Domaine Saint Paul.

**Mots clefs** : Cotonnier, transgène, *Bacillus thuringiensis*, dissémination, environnement, économie.

### Résumé

Dans les pays en développement et émergents, tels que l'Afrique du Sud, l'introduction des plantes génétiquement modifiées est en constante progression. La culture commerciale du cotonnier génétiquement modifié (CGM) résistant aux insectes (Coton Bt, qui exprime le gène *cry1Ac*) remonte à 1998 et s'est rapidement répandue chez les petits et les grands exploitants agricoles. L'introduction des cultivars Bt a un impact positif sur les rendements et les marges nettes en grande culture irriguée alors que les avantages sont aléatoires en petit paysannat (culture pluviale). L'usage du cotonnier Bt réduit les quantités d'insecticides pyréthrinoides mais n'a pas influencé l'emploi des autres classes de pesticides.

Sur le plan agro-économique, le cotonnier Bt ne constitue pas une solution miracle pour le développement durable et l'éradication de la pauvreté en petit paysannat (sud) africain mais doit être considéré comme élément utile de l'itinéraire technique et de la conduite intégrée de la culture cotonnière. L'étude des impacts environnementaux a porté sur les flux de gènes, les vecteurs du transport de pollen et les risques d'hybridation entre le cotonnier cultivé et le cotonnier sauvage présent en Afrique du Sud. Concernant le flux de gènes entre cotonniers cultivés (cas de populations homogènes), les flux de pollen se réduisent rapidement en fonction de la distance à la source (moins de 0,4% au-delà de 15m). Par contre, lorsque la parcelle émettrice est séparée de la parcelle réceptrice, les taux d'hybridation sont sensiblement plus élevés à distance égale de la source (17,8% au-delà d'une séparation de 10m). La pollinisation du cotonnier en Afrique du Sud est indépendante de la nature transgénique des cultivars et est principalement assurée par les hyménoptères et les coléoptères dont *Astylus atromaculatus* (Coleoptera : Melyridea), particulièrement actif dans les zones de haut plateau. Les résultats des hybridations entre *G. hirsutum* et *G. herbaceum* (et le croisement réciproque) suggèrent que les deux espèces peuvent s'intercroiser naturellement, mais ont peu de chance de générer des hybrides fertiles du fait de leur différence de ploïdie. Toutefois, la production de gamètes non réduits chez l'un des parents rend théoriquement possible l'existence de descendances fertiles. Finalement, la dispersion intraspécifique des gènes, qui ne connaît pas de barrière génétique, pourrait poser un problème de coexistence des filières en petit paysannat.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

#### Introduction

Dans les pays en développement, l'introduction des plantes génétiquement modifiées va en s'accroissant sous la pression des entreprises multinationales distributrices de semences. Au cours de l'année 2005,

l'accroissement relatif de leurs surfaces a été aussi important dans les pays en développement que dans les pays du nord (11%). Nous avons analysé l'impact de ces OGM dans un agrosystème basé sur de petites exploitations, dans lequel voisinent cultures de rentes et production vivrière et où existent, dans le voisinage de ces cultures, des espèces sauvages susceptibles de se croiser avec les plantes transformées. En Afrique du Sud, la culture du cotonnier génétiquement modifié (CGM) résistant aux insectes (Coton Bt) a été introduite depuis 1998 aussi bien chez les grands exploitants qu'auprès des petits agriculteurs des Makhathini Flats. Elle y a connu un réel succès : 90% des 1600 ha cultivés par ces derniers en 2004-2005 ont été emblavées avec la variété Deltapine NuOpal<sup>®</sup>, qui exprime le gène *cry1Ac*. L'entrée en force des cultivars transgéniques a eu des répercussions sur le paysage variétal en provoquant la disparition des variétés locales au profit des cultivars américains, même non transgéniques.

### **Aspects agro-économiques**

L'engouement pour le cotonnier Bt, en condition de grande culture commerciale pour laquelle les facteurs limitants du rendement sont relativement bien maîtrisés (irrigation, fertilisation...), s'explique aisément par les gains significatifs de production (+ 13%) observés chez les adoptants. Cependant, ce constat ne s'applique pas entièrement au petit paysannat (en conditions de culture pluviale), généralement caractérisé par un niveau de technicité déficient, où les rendements de coton-graine sont très faibles (600 kg/ha) et variables. Le coût élevé de la technologie Bt et l'espérance aléatoire de rendement en petit paysannat rendent la culture cotonnière peu ou pas rentable dans 30 % des exploitations. L'introduction du cotonnier Bt a pu réduire l'usage des insecticides pyréthrinoides sans toutefois avoir un impact sur les autres classes de pesticides : c'est le cas des insecticides organophosphorés plus préjudiciables à la santé humaine que les pyréthrinoides.

### **Impacts environnementaux**

L'étude des impacts environnementaux, qui couvrait deux saisons culturales, a porté sur la dispersion du pollen et ses vecteurs de transport ainsi que sur les risques d'hybridation entre le cotonnier cultivé (*Gossypium hirsutum* L.) et le cotonnier sauvage (*G. herbaceum* L.) présent en Afrique du Sud.

Les flux de pollen ont été étudiés à partir de dispositifs comprenant deux parcelles : une parcelle émettrice (ou source) contenant un cultivar résistant au RoundUp<sup>®</sup> (cotonnier RR) et une parcelle réceptrice sensible à l'herbicide. L'effet de la distance sur le taux d'hybridation est significatif pour les deux saisons culturales. En population homogène (en l'absence d'espacement entre la source de pollen et la parcelle réceptrice), la distribution des fréquences d'hybridation observées en fonction de la distance à la source indiquait une probabilité comprise entre 1% et 2,5%, selon l'année, dans les environs immédiats de la source. Dans les 15 premiers mètres la proportion d'hybrides variait entre 1,00% et 0,40% et s'estompait au-delà de cette distance. Durant la première année d'essai, la dispersion du pollen s'est opérée de manière préférentielle, perpendiculairement aux lignes de semis. Ces différences ne se sont pas vérifiées l'année suivante. La différence interannuelle est significative ( $P=0,0314$ ) et résulte essentiellement des écarts des fréquences d'hybridation observés dans les dix premiers mètres. L'interaction distance x année était forte ( $P=0,0012$ ). Le cas de la dispersion du pollen à partir de la source génétiquement modifiée lorsqu'elle est séparée de la parcelle réceptrice par une discontinuité de culture est très différent. Dans ces conditions les taux d'hybridation sont sensiblement plus élevés à distance égale de la source (17,8% à 15 mètres de la source avec une séparation de 10 mètres). Dans l'attente du développement d'un modèle de dispersion, les résultats obtenus en Afrique du Sud suggèrent que les conséquences du flux de gènes sur cotonnier seront différentes selon les agrosystèmes.

S'il existe encore un choix variétal en petit paysannat, la dispersion de petites parcelles cultivées proches l'une des autres générera un problème de coexistence des filières OGM et non OGM. Dans le domaine de la multiplication semencière, les standards d'isolement (200 m) en vigueur dans certains pays du Sud devront être revus, respectés et fréquemment contrôlés.

La pollinisation du cotonnier est essentiellement entomophile et cette activité est principalement réalisée par les hyménoptères et les coléoptères. Aucune différence significative n'est apparue dans la comparaison entre la diversité et l'abondance des espèces ou familles inventoriées durant deux saisons dans les champs Bt et non-Bt (conventionnel). Il en est de même pour le cotonnier Bt et RR. L'inventaire de l'entomofaune floricole du cotonnier en Afrique du Sud a permis de remarquer l'existence d'un coléoptère Melyridae, *Astylus atomaculatus*, qui n'avait pas été mentionné en tant qu'insecte floricole sur cette plante en Afrique du Sud. Des expérimentations de pollinisation en cage avec cette espèce et le comptage des grains de pollen récoltés sur des individus présents dans les fleurs de cotonniers ont permis de démontrer son action pollinisatrice. Ces résultats soulignent l'importance d'entreprendre des études d'impact complètes, au cas par cas, dans les différents types d'environnement concernés par l'introduction des OGM.

Les recherches de terrain ont démontré l'existence de populations férales de cotonniers le long des axes routiers empruntés par les machines agricoles et les camions affectés au transport des graines. Les plantes

issues des germinations sauvages peuvent sans difficulté accomplir leur cycle de reproduction et subsister plusieurs années. Une forte proportion de ces plantes sont transgéniques : nous avons détecté 27% de plants RR et 100% de plants Bt dans des localités distinctes.

En Afrique du Sud, le cotonnier cultivé peut coexister en sympatrie avec le cotonnier sauvage africain et différentes autres genres de Malvacées (*Sida*, *Hibiscus*, *Thespesia*, *Abutilon*...). La floraison du cotonnier cultivé, étalée dans le temps, est souvent synchrone avec celle des espèces de Malvacées sauvages qui partagent certains pollinisateurs. Le risque de transfert de pollen entre ces espèces sauvages et le cotonnier cultivé est probable.

Le succès d'une hybridation intergénérique avec le cotonnier n'a jamais été rapporté et les croisements interspécifiques entre *G. hirsutum* (tétraploïde de génome AADD) et *G. herbaceum* (de génome AA) produisent presque toujours, lorsque la graine est viable, des hybrides possédant trois génomes. Les trois génomes étant d'origine différentes, aucun appariement ne peut se faire et la mitose réductionnelle échoue. Les plants triploïdes ainsi obtenus sont donc totalement stériles. La restauration de la fertilité peut néanmoins être réalisée en doublant le nombre de chromosomes à l'aide de colchicine pour passer au stade hexaploïde ( $2n=6X=78$  chromosomes). Cette possibilité a été amplement utilisée dans des travaux d'hybridation interspécifique pour améliorer le cotonnier. Ce doublement du nombre de chromosomes, ne se réalise pas naturellement. Pour estimer les possibilités de croisements entre le cotonnier cultivé et le cotonnier sauvage présent en Afrique du Sud (*G. Herbaceum*, var *Africanum*) deux types d'études ont été réalisées: 1) l'analyse de plantes issues de la germination de graines récoltées sur des cotonniers sauvages se trouvant à proximité des champs de cotonnier cultivé ; 2) examen des plantes provenant de la germination de graines issues du croisement manuel de plants non castrés. Parmi 500 graines récoltées sur des plants de cotonniers sauvages situés à une distance de 10 à 50 mètres de champs de cotonniers, aucun hybride n'a été détecté. 148 plantes ont été obtenues à partir du croisement *G. herbaceum* x *G. hirsutum*, L'analyse en cytométrie de flux et le traitement statistique des données recueillies qui a pris en compte le fait que la taille des génomes constitutifs des parents est très différente (génome A et génome D), a permis d'associer aux valeurs en cytométrie un nombre de chromosome. Deux plantes sont de nature triploïde et une plante présente un pic qui se situe au-delà de celui de *G. hirsutum*. Cette valeur permet d'émettre l'hypothèse d'une fécondation avec des gamètes non réduits (au moins pour l'un des parents). Un examen des méioses chez les trois hybrides détectés est en cours, il permettra de déterminer avec précision leur statut chromosomique. Pour le croisement *G. hirsutum* x *G. herbaceum*, l'analyse en cytométrie de flux n'a pas permis de détecter de valeur différente de celle du parent *G. hirsutum* sur 500 plantes. Bien que le prélèvement de semences de *G. herbaceum* à proximité des champs cultivés n'a pas révélé la présence d'hybrides naturels. La production de gamètes non réduits chez un des parents constitue cependant un facteur favorisant le passage d'un transgène dans la descendance d'un hybride fertile.

### **Conclusion**

L'introduction des cultivars Bt en petit paysannat africain ne pourra constituer un succès qu'à condition de l'intégrer dans des systèmes de production présentant un bon niveau de technicité. L'adoption des CGM induit un changement important dans la structure des coûts de production, les dépenses en semences devenant l'élément principal des dépenses monétaires. Pour les paysans à faible rendement, l'utilisation du coton Bt n'a été ni justifiée ni rentable. L'utilisation du cotonnier Bt n'est donc pas pertinente si son espérance de rendement lors du semis n'est pas suffisamment élevée. Par conséquent, à terme, la diffusion des variétés transgéniques dans les exploitations les plus économiquement fragiles risque fortement de précipiter leur disparition. L'analyse agroéconomique indique que l'utilisation efficace et durable des CGM doit prendre en compte leur coexistence avec les non-CGM, dans le respect des prises de décision des producteurs. Le deuxième volet de notre étude qui s'intéressait aux flux de gènes a montré que le risque d'hybridation existe entre l'espèce cultivée et l'espèce sauvage, même s'il n'a pas encore pu être démontré en milieu naturel, ainsi qu'entre variétés cultivées. Ces risques d'hybridation posent le problème de la coexistence des filières OGM et non-OGM (conventionnelle et biologique). Il est fort probable que la topographie des terroirs cotonniers et la structure de la filière en Afrique obligeront les exportateurs de coton à rassembler leurs produits sous le seul label OGM.

### **Perspectives**

L'analyse des graines issues des multiples croisements avec le cotonnier sauvage et les espèces apparentées n'est pas encore achevée. Elle se poursuivra dans la mesure des disponibilités en l'espace en milieu confiné.

Les recherches menées dans le cadre de l'ACI en Afrique du Sud ont permis de mettre au point une méthodologie adaptée aux études d'impact des cotonniers transgéniques dans les agrosystèmes tropicaux. Le développement de cette expertise est destiné aux pays producteurs de coton de l'Afrique francophone

qui s'apprêtent à diffuser des variétés de cotonniers génétiquement modifiés. Par ailleurs, un modèle de dispersion du pollen de cotonnier est en cours d'élaboration à partir des données recueillies dans le cadre du projet.

Les recommandations formulées à partir des résultats obtenus en Afrique du Sud faciliteront l'établissement de protocoles expérimentaux destinés aux réseaux de la recherche publique africaine. Cette démarche favorisera la génération de résultats à partir de données locales qui seront utilisées pour l'aide à la décision en matière de réglementation et, plus généralement, de biosécurité (évaluation et maîtrise des risques).

#### **Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI**

##### **Articles**

Hofs J.L., Fok M., Gouse M., Kirsten J., **Diffusion du coton génétiquement modifié en Afrique du Sud: des leçons pour l'Afrique zone Franc.** 2006. (*In Press*) *Revue Tiers Monde* 188: 799-823.

Hofs J.L., Fok M., Vaissayre M. **Impact of Bt cotton adoption on pesticide use by smallholders: A 2-year survey in Makhathini Flats (South Africa).** 2006. *Crop Protection* 25 : 984-988.

Hofs J.L., Hau B., Marais D. 2006. **Boll distribution patterns in Bt and non-Bt cotton cultivars. I. Study on commercial irrigated farming systems in South Africa.** *Field Crops Research* 98: 203-209.

Hofs J.L., Hau B., Marais D, Fok M.. 2006. **Boll distribution patterns in Bt and non-Bt cotton cultivars. II. Study on small-scale farming systems in South Africa.** *Field Crops Research* 98 :210-215.

Hofs J.L., Schoeman A., Mellet M., Vaissayre M., 2005. **Impact des cotonniers génétiquement modifiés sur la biodiversité de la faune entomologique : le cas du coton Bt en Afrique du Sud.** *International journal of tropical insect science*, vol.25, n. 2, p. 63-72.

##### **Communications – Congrès.**

**Distribution of cotton and it's relatives in South Africa. Abstract.** Marais D., Hofs J.L., Fessehazion M.K., 2005. In : SASCP ; SAWSS ; SSSSA ; SASHS, *Combined Congress 2005, 10 - 13 January 2005, Pretoria, South Africa.* s.l, WSS ; SSSSA ; SASHS, s.n., p. 81. Combined Congress 2005, 2005/01/10-13, Pretoria, South Africa.

**Genetically Modified Cotton in Africa: A South African Experience** J-L Hofs, M. Vaissayre, B. Hau, C. Pannetier, D. Marais, K. Kunert. Workshop GeRICO- CFC/ICAC Ouagadougou Décembre 2004.

## Introgression du manioc domestiqué dans les populations d'espèces apparentées sauvages : implications pour la diffusion de transgènes

Présenté par : Doyle Mc KEY  
Mail : doyle.mckey@cefe.cnrs.fr

### Titre des projets concernés, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Propagation de transgènes : le cas du manioc** (2002-04), Doyle Mc KEY<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets 2001 du CNRS*

**Introgression du manioc domestiqué dans les populations d'espèces apparentées sauvages : implications pour la diffusion de transgènes** (2005-07), Doyle Mc KEY<sup>1</sup>, Serge BAHUCHET<sup>2</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2004*

<sup>1</sup>UMR 5175 Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive (CEFE), CNRS/Univ. Montpellier2/ Univ. Montpellier1/Univ. Montpellier3/ENSA-M/CIRAD, Montpellier ; <sup>2</sup>UMR 5145 Ecoanthropologie et Ethnobiologie, CNRS/Univ. Paris 7/ Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris

**Mots clefs** : agroécologie ; banque de graines ; gestion dynamique ; flux géniques ; introgression ; propagation clonale

### Résumé

L'introduction de variétés transgéniques dans les centres de diversité d'une plante est associée à des risques particuliers. Deux problèmes essentiels se posent pour la conservation de la biodiversité : (1) La diffusion de transgènes dans les variétés locales ('landraces') gérées in situ dans des systèmes traditionnels pourrait contribuer à l'érosion de la diversité de ces ressources génétiques importantes. (2) La diffusion de transgènes dans les populations sauvages apparentées aux plantes domestiquées pourrait avoir une diversité de conséquences, allant de l'extinction des populations sauvages par assimilation, à l'évolution de formes envahissantes pouvant devenir des mauvaises herbes très agressives ('superweeds'). Par des mécanismes divers, l'introduction de variétés transgéniques dans les centres de diversité d'une plante pourrait donc conduire à la diminution des ressources génétiques disponibles pour les améliorateurs, mettant en danger la durabilité des rendements. Chez les plantes à propagation clonale, les risques de diffusion de transgènes vers des plantes non ciblées sont souvent supposés moindres. Cependant, l'évaluation des risques est rendue difficile parce que l'incidence de la reproduction sexuée chez ces plantes a été largement sous-estimée. Etudiant le manioc, une plante à propagation clonale domestiquée en Amazonie, nous avons documenté le rôle de la reproduction sexuée dans le fonctionnement des populations domestiquées et démontré l'existence de flux géniques des populations domestiquées vers des populations d'un parent sauvage. Malgré quelques divergences adaptatives entre le manioc domestiqué et ses parents sauvages, les hybrides sont vigoureux, se reproduisent, et semblent avoir une valeur sélective élevée. L'introgression par des gènes domestiqués pourrait donc conduire à l'inondation génétique des populations sauvages. La valeur sélective élevée des hybrides pourrait faciliter la diffusion d'éventuels transgènes. L'existence chez le manioc d'importantes banques de graines dormantes dans le sol augmente la probabilité de flux géniques entre populations sauvages et domestiquées. Des changements sociaux et économiques récents dans le littoral de la Guyane augmentent aussi la probabilité de rencontre, et de flux géniques, entre populations sauvages et domestiquées.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

#### **Le système de reproduction mixte du manioc domestiqué**

L'incidence de la reproduction sexuée, et son rôle dans le fonctionnement des populations domestiquées du manioc, ont été largement sous-estimés par les agronomes. Nous avons documenté le fonctionnement du régime de reproduction mixte clonal / sexué chez les populations de manioc gérées par des agriculteurs amérindiens, dans des systèmes d'agriculture itinérante sur brûlis en Amazonie (Pujol et al. 2005a ; Pujol & McKey 2006). Au début d'un cycle de culture, des plantes « volontaires » issues de graines apparaissent dans la parcelle, recrutées d'une banque de graines dans le sol. Ces graines ont été produites lors du



dernier cycle de culture, sont restées dormantes pendant toute la jachère, et ont germés en réponse au réchauffement du sol mis à nu par le brûlis. Suite à la propagation clonale, dont le but est de multiplier certains génotypes à des fréquences élevées, une proportion considérable de ces plantules est issue de croisements consanguins. Cependant, plusieurs variétés différenciées sont souvent plantées dans la même parcelle et une proportion des plantules est issue de croisements allogames. Les agriculteurs observent les plantules ; celles qui survivent jusqu'à la récolte, et qui attirent l'approbation des agriculteurs, sont susceptibles d'être incorporées dans le stock de boutures, soit multipliées comme nouvelle variété, soit assimilées à une variété existante à qui elles ressemblent phénotypiquement. Durant tout le cycle de culture, une forte sélection humaine et naturelle s'exerce sur ces plantes issues de graines, favorisant à toutes les étapes la survie d'individus fortement hétérozygotes, issus de croisements allogames. Ceux qui survivent jusqu'à la récolte, et qui sont donc susceptibles d'être incorporés dans le stock de boutures, sont un sous-ensemble très hétérozygote, comme les clones constituant les variétés traditionnelles. Ainsi la reproduction sexuée est intégrée dans un régime mixte qui met à profit des avantages des deux modes de reproduction et minimise leurs inconvénients. Ce système, tributaire non seulement de la propagation clonale mais aussi de la reproduction sexuée libre et de tous les facteurs culturels et écologiques qui l'influencent, est pour l'instant mal compris par les gestionnaires professionnels.

Les conséquences potentielles de l'introduction de variétés transgéniques dans un tel système dépendront de la nature du transgène. La complexité de ces conséquences peut être illustrée par deux traits ciblés dans la transformation génétique du manioc. (1) *La résistance aux herbicides*. Selon ceux qui prônent cette innovation, l'utilisation d'herbicides, combinée avec l'introduction d'une variété transformée résistante, serait une contribution au développement car le désherbage manuel, dans les systèmes d'agriculture itinérante sur brûlis, consomme une partie importante du temps des agriculteurs (souvent des femmes). Cependant, une telle innovation changerait de façon fondamentale la dynamique de l'incorporation de plantules issues de graines. Déjà l'application d'herbicides serait par lui-même nuisible à ce processus, car les plantules, comme les autres plantes adventices, seraient éliminées. La présence dans la population d'un transgène conférant la résistance à l'herbicide permettrait la continuité du processus d'incorporation de plantules, mais changerait complètement sa dynamique. Au lieu de favoriser les génotypes les plus hétérozygotes, comme dans le système actuel, la sélection favoriserait les plantes portant le transgène, et pourrait donc accélérer la perte de diversité génétique, au lieu de la maintenir. (2) *L'apomixie*. La plupart des plantes à propagation clonale étant allogames, la recombinaison s'accompagne des inconvénients déjà évoqués. Cependant, le passage par les graines confère un avantage phytosanitaire, nettoyant les jeunes plantes des maladies virales systémiques qui sont facilement transmises par boutures mais ne passent pas la barrière placentaire. L'apomixie permettrait d'avoir cet avantage sans les inconvénients de la recombinaison. L'association de l'apomixie et d'autres traits sélectionnés dans un même clone transformé, peut accélérer la perte de diversité et des processus qui la génèrent. De nombreux autres exemples pourraient être développés ; tout transgène positivement sélectionné, consciemment ou (comme dans ces cas) inconsciemment, pourrait réduire la diversité des populations, fragilisant davantage le potentiel adaptatif des populations de plantes à propagation clonale.

### ***Adaptations divergentes du manioc domestiqué et ses parents sauvages***

Lors de la domestication, le manioc a acquis des adaptations aux milieux agricoles, non seulement par sélection humaine consciente, mais aussi par sélection naturelle. Parmi les adaptations produites par la sélection naturelle, la plus frappante est la morphologie fonctionnelle de la plantule (Pujol et al. 2005b). Chez le manioc sauvage, la germination est hypogée : l'hypocotyle ne grandit pas en longueur, les cotylédons restent dans le testa, jouant uniquement un rôle de stockage et de transfert de nutriments, et l'épicotyle pousse vers la surface. Le premier organe photosynthétique est la première vraie feuille. Chez le manioc domestiqué, par contre, l'hypocotyle effectue une croissance en longueur, les cotylédons sont portés à la surface, et sortent du testa, devenant foliacés et verts. La mise en place très rapide de cotylédons photosynthétiques confère au manioc domestiqué une croissance initiale rapide, favorisée par la relative abondance de ressources (eau, lumière, sels nutritifs) dans les champs agricoles. Cependant, la plante est très sensible à la perte de ses parties aériennes, ne possédant pas de réserves, ni de méristèmes, souterrains. En contraste, la morphologie des plantules du manioc sauvage entraîne une croissance initiale lente (cotylédons non photosynthétiques) mais confère une plus grande tolérance à la perte des parties aériennes, par l'existence de réserves (cotylédons plus hypocotyle) et de méristèmes (axillaires aux cotylédons et sur la partie souterraine de l'épicotyle) au dessous du niveau du sol. Ainsi le manioc sauvage est adapté à des milieux moins riches en ressources et moins prévisibles, où les risques de perte des parties aériennes sont plus importants que dans les milieux agricoles occupés par le manioc domestiqué. Une étude comparant la construction des feuilles et le taux de photosynthèse chez le manioc et son parent sauvage a mis à jour des divergences parallèles dans ce groupe de traits (Pujol et al. soumis a).

### **Flux géniques entre populations sauvages et domestiquées**

Il est important pour plusieurs raisons de savoir si le manioc domestiqué et ses parents sauvages échangent des gènes. Du point de vue fondamental, des données sur l'hybridation aideraient à résoudre le problème de la nature du taxon domestiqué—« compilo-espèce » ou dérivé d'un seul ancêtre sauvage ?—et des processus de domestication. Du point de vue de la gestion des populations domestiquées, le flux de gènes provenant du compartiment sauvage pourrait avoir des impacts positifs ou négatifs selon le contexte. Ainsi, ce flux pourrait élargir la base génétique des populations domestiquées et être source de nouvelles adaptations. Cependant, le flux de gènes sauvages pourrait conduire à l'évolution de mauvaises herbes compétitives dans les champs et peut, par ce mécanisme et par d'autres, réduire le rendement et le degré d'adaptation des populations domestiquées. Du point de vue de la conservation des populations des parents sauvages, le flux de gènes domestiqués est préoccupante, car il peut conduire à « l'inondation génétique » des populations sauvages, voire à leur extinction locale par hybridation. Dans l'éventualité d'introduction de variétés génétiquement modifiées de manioc, l'existence de flux géniques du compartiment domestiqué vers le compartiment sauvage serait encore plus préoccupante, car de tels flux pourraient faciliter la diffusion de transgènes dans le compartiment sauvage.

Nous avons démontré l'existence de zones d'hybridation naturelle entre manioc domestiqué et un parent sauvage en Guyane. Nous avons premièrement montré que les populations sauvages guyanaises sont génétiquement bien différenciées des populations domestiquées, montrant des allèles diagnostiques (au moins dans le contexte local) au locus *G3pdh* (Léotard et al., soumis), et pour les marqueurs microsatellites (Duputié et al., soumis). Cette divergence des compartiments domestiqué et sauvage pour des marqueurs neutres facilite la détection de zones hybrides. L'étude des haplotypes de *G3pdh* a mis en évidence l'existence, dans une population naturelle des savanes côtières de la Guyane française, d'individus issus d'hybridation entre les deux taxons. Les patrons observés pour ce gène indiquaient que ces individus peuvent être des hybrides de première génération ( $F_1$ , sauvage x domestiqué ; individus à phénotype intermédiaire et tous hétérozygotes, avec un allèle 'sauvage' et un autre 'domestiqué' de *G3pdh*), et suggéraient également l'existence d'individus  $F_2$  (un individu à phénotype 'sauvage' mais également hétérozygote). Les individus apparemment hybrides montraient une vigueur apparente supérieure à celle des individus sauvages avoisinants. L'étude plus approfondie conduite par A. Duputié en 2004 (800 individus cartographiés le long d'un transect dans la zone d'hybridation, chacun décrit pour des traits morphologiques et génotypé pour 8 locus microsatellites) a montré que l'introggression des gènes domestiqués dans la population sauvage est importante, et dure depuis plusieurs générations (Duputié et al., soumis). Nous avons également démontré l'introggression (toujours dans le même sens) dans au moins deux autres populations du littoral.

Il est important de comprendre le comportement des agriculteurs qui sont à l'origine des situations de contact entre manioc domestiqué et parent sauvage permettant ces flux géniques. Nous poursuivons actuellement (Lermyte et al., en préparation) cet aspect de l'étude des flux géniques. Dans la région affectée par ce phénomène, la culture du manioc dans les abattis—situation classique pour la Guyane—n'est pas responsable de contacts, car les abattis, en forêt, se trouvent relativement isolés des populations du parent sauvage, trouvées uniquement en savane. A l'origine des situations de contact sont des petites plantations opportunistes, souvent situées dans des terrains vagues (le long d'une route ou d'une fossé de drainage) ou dans des champs en terrain relativement marginal, et plantées le plus souvent par des immigrants sans terres. Ces choix de sites sont liés aux contraintes, en premier lieu foncières (peu d'accès aux terres suite à la politique foncière et agricole de la Guyane et au statut irrégulier des immigrants 'sans papiers'). Il est à noter que les populations domestiquées impliquées dans ces contacts sont presque toujours constituées uniquement de variétés douces de manioc, dont les racines ont de faibles teneurs en glucosides cyanogéniques, et non pas le manioc amer typique de l'agriculture traditionnelle de la Guyane. L'introggression des gènes domestiqués pourrait donc conduire à la réduction de la teneur de cette importante défense chimique chez les populations sauvages dont les racines sont amères. Nous comptons étudier l'effet des modifications de ce trait pour la dynamique des zones hybrides. Il est à noter qu'une autre classe de défenses chimiques, les tanins, sont également présentes en moindre concentration chez le manioc domestiqué que chez ce parent sauvage (Mondolot et al., en préparation).

### **Structuration de la diversité génétique du manioc et ses parents sauvages à l'échelle de la Guyane**

Nous avons pu étudier la structuration de la diversité génétique (8 locus microsatellites) du manioc domestiqué et le parent sauvage (*M. tristis*) à l'échelle de la Guyane, pour un jeu d'échantillons provenant de nos récoltes, et d'autres échantillons mis à notre disposition par des collaborations (Jean-Jacques de Granville, Corinne Sarthou et Philippe Gaucher pour les savanes-roches des inselbergs ; Marie Fleury pour les variétés des Aluku et amérindiens Wayana de Maripasoula ; Sandrine Manusset pour les variétés des Créoles et Palikur du bas Oyapock ; l'herbier de la Guyane pour des échantillons d'herbier des variétés Wayâpi de Trois Sauts). Les résultats de cette étude (Duputié et al., en préparation) soutiennent les conclusions suivantes : (i) Les deux compartiments, sauvage et domestiqué, sont bien différenciés pour ces

marqueurs, comme pour les haplotypes du gène *G3pdh*. Cette forte différenciation des populations domestiquées et sauvages du manioc en Guyane fait de cette région un site de choix dans l'Amazonie (sensu lato) pour l'étude des flux géniques et leurs conséquences pour la gestion et la conservation. (ii) Au sein du compartiment domestiqué, il existe peu de différenciation géographique entre les variétés des trois régions échantillonnées : le bassin de l'Oyapock, Maripasoula, et littoral. Cette faible différenciation est probablement expliquée par des échanges fréquents de boutures. (iii) Au sein du compartiment sauvage, la différenciation entre les populations est plus marquée que chez les populations domestiquées, mais la structuration géographique est complexe. (iv) Plusieurs populations sauvages des savanes côtières (en plus de celles étudiées en détails, voir section précédente) montrent les effets d'introgession de gènes domestiqués. Dans le cas d'introduction d'éventuelles variétés transgéniques de manioc, l'hybridation est donc un phénomène répandu qu'il faudrait prendre en compte dans toute tentative d'introduction de variétés transgéniques.

### ***Les banques de graines dormantes dans le sol : un trait biologique particulier favorisant les flux de gènes***

Nous avons développé (Pujol et al., soumis b) les enjeux pour la gestion et la conservation de l'existence des banques de graines dans le sol chez les populations domestiquées et sauvages du manioc. Nous recommandons une grande prudence dans les actions prises suite à la perte de boutures à cause de crises d'origine naturelle ou anthropique. L'utilisation de plantes issues des banques de graines dans le sol permet aux agriculteurs de régénérer leurs stocks de clones, et l'introduction de boutures non adaptées aux conditions locales pourrait faire plus de mal que de bien. Nous développons aussi les implications de ces banques de graines dans le sol pour la diffusion de transgènes. La dispersion de gènes dans le temps, assurée par les banques de graines dans le sol, augmente la probabilité de diffusion.

## **Perspectives**

Nos résultats montrent la nécessité d'un recensement des populations de manioc sauvage dans les savanes côtières et leur caractérisation génétique, afin d'estimer l'étendue actuelle de l'introgession par le manioc domestiqué. La gestion intégrée des compartiments domestiqué et sauvage est une problématique qui intéresse toute l'Amazonie. Pour plusieurs raisons, la Guyane est un site atelier particulièrement convenable pour l'étude des risques écologiques associés aux flux géniques entre le manioc et ses parents sauvages dans le centre de diversité amazonien de cette plante.

### ***L'étude longitudinale de zones d'hybridation naturelle entre manioc domestiqué et parents sauvages en Guyane***

Les zones d'hybridation naturelle constituent un modèle biologique exceptionnel pour examiner de nombreuses questions d'actualité dans la biologie évolutive, telles que l'interaction entre flux génique et sélection, le rôle de l'hybridation dans l'évolution, et les processus de spéciation. De plus, un certain nombre de caractéristiques font du système manioc un modèle particulièrement intéressant : (1) la disponibilité d'un grand nombre de marqueurs neutres (dont certains sont cartographiés sur le génome); (2) la différenciation des compartiments domestiqué et sauvage pour ces marqueurs, facilitant la détection de l'hybridation ; (3) l'existence de plusieurs traits sous sélection divergente dans les deux compartiments, suggérant des questions intéressantes sur la valeur sélective des hybrides. L'existence de ces divergences adaptatives devrait permettre l'étude de l'interaction entre la migration et la sélection dans la dynamique de la zone hybride. Le suivi de ces zones d'hybridation naturelle est aussi très important du point de vue de la biologie de la conservation des parents sauvages du manioc, permettant d'estimer, et éventuellement de gérer, les risques d'inondation génétique et de diffusion de transgènes. Des études de la morphologie fonctionnelle des plantules hybrides suggèrent que les hybrides peuvent avoir un fitness réduite, au moins dans certains milieux (D. McKey et al., en préparation), suggérant une dynamique complexe des zones hybrides, impliquant des équilibres entre flux génique et sélection. Ces études sur le terrain doivent être complétées par des études de populations expérimentales hybrides, issues de croisements contrôlés entre parents à génotypes connus, et élevées en milieux contrôlés.

### ***Les plantes domestiquées à propagation clonale : une approche comparative***

Des régimes mixtes clonal/sexué semblent caractériser de nombreuses plantes à propagation clonale autres que le manioc, mais des données précises sur leur fonctionnement sont quasi inexistantes. En étudiant dans une optique comparative des modèles biologiques présentant de forts contrastes avec le manioc, et en étudiant ce dernier dans une diversité de contextes écologiques et sociogéographiques, il serait possible de tester la généralité des hypothèses suggérées par nos travaux antérieurs et développer, pour toute cette classe agroécologique de plantes, les connaissances de base nécessaires pour leur gestion raisonnée, y compris l'évaluation des risques associés à la diffusion de transgènes.

**Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI et de l'appel à projets du CNRS**

- Pujol, B., P. David & D. McKey. (2005a). Microevolution in agricultural environments: how a traditional Amerindian farming practice favours heterozygosity in cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae). *Ecology Letters* **8**: 138-147.
- Pujol B., G. Mühlen, N. Garwood, Y. Horoszowski, E.J.B. Douzery, & D. McKey. (2005b). Evolution under domestication: contrasting functional morphology of seedlings in domesticated cassava and its closest wild relatives. *New Phytologist* **166**: 305-318.
- Pujol, B. & D. McKey. (2006). Size asymmetry in intraspecific competition and the density-dependence of inbreeding depression in a natural plant population: a case study in cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae). *Journal of Evolutionary Biology* **19**: 85-96.
- Pujol, B., F. Renoux, M. Elias, L. Rival & D. McKey. (soumis b). The unappreciated ecology of landrace populations. Conservation consequences of soil seed banks in cassava. (soumis à *Biological Conservation*)
- Pujol, B. J.-L. Salager, M., S. Bousquet & D. McKey. (soumis a). Photosynthesis and leaf structure in domesticated cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) and a close wild relative: has leaf construction strategy evolved under domestication? (soumis à *Biotropica*)
- Duputié, A., P. David, C. Debain & D. McKey. (soumis). Natural hybridization between a clonally propagated crop, cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and a wild relative in French Guiana. (soumis à *Molecular Ecology*)
- Léotard, G., F. Kjellberg, E.J.B. Douzery, C. Debain, J.-J. de Granville & D. McKey. (soumis). Phylogeography and the origin of domestication in cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae): insights from a sample including the northern rim of Amazonia. (soumis à *Molecular Ecology*)
- Duputié, A., M. Delêtre, M. Fleury, S. Manusset, J.-J. de Granville & D. McKey. (en préparation). The structure of genetic diversity in populations of cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) and a close wild relative in French Guiana: an analysis using microsatellites.
- Mondolot, L. et al. (en préparation). Tannin concentrations in leaves of domesticated cassava and a close wild relative in French Guiana: was domestication associated with reduced production of an important chemical defense?
- Lermyte, C., S. Bahuchet & D. McKey. (en préparation). The role of farmer behavior in gene flow between domesticated cassava and a wild relative in the coastal savannas of French Guiana.



## Gestion de la résistance des insectes phytophages aux plantes génétiquement modifiées

Présenté par : Denis BOURGUET

Mail : bourguet@ensam.inra.fr

### Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Gestion de la résistance des insectes phytophages aux plantes génétiquement modifiées** (2003-05), Michaël HOCHBERG<sup>1</sup>, Corinne VACHER<sup>1,2</sup>, Marion DESQUILBET<sup>3</sup>, Denis BOURGUET<sup>4</sup>, Stefan AMBEC<sup>5</sup>, Stéphane LEMARIÉ<sup>5</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001

<sup>1</sup>UMR5554 Institut des Sciences de l'Evolution, U. Montpellier2/CNRS, Montpellier ; <sup>2</sup>UMRBiodiversité Gènes et Ecosystème, INRA Bordeaux, <sup>3</sup>UR Economie et Sociologie Rurales, INRA Toulouse ; <sup>4</sup> UMR Centre de Biologie et de Gestion des Populations, INRA Montpellier ; <sup>5</sup>Laboratoire d'Economie Appliquée Grenoble (UMR GAEL), INRA.

**Mots clefs** : modélisation, plantes transgéniques, évolution de la résistance, zones refuges

### Résumé

La culture de plantes transgéniques produisant des toxines de *Bacillus thuringiensis* (plante *Bt*) favorise inéluctablement la sélection de mécanismes de résistance dans les populations des insectes phytophages qui sont la cible de ces toxines. Cette évolution programmée de la résistance pose un problème à la fois économique et environnemental : à terme, les insectes devenus résistants pourront se développer sur les plantes entraînant la perte d'un moyen de lutte moins néfaste pour l'environnement que les pesticides chimiques. Il est possible de ralentir voire d'éviter la sélection de mécanismes de résistance dans le cadre d'une gestion efficace des cultures de plantes transgéniques.

La stratégie de gestion actuellement mise en place aux Etats-Unis, et qui peut être envisagée au niveau Européen, est la stratégie Haute-Dose/ Refuge (HDR). Elle consiste à planter des parcelles de plantes non transgéniques, appelées refuges, à proximité des parcelles de plantes *Bt*. Ces refuges permettent le maintien d'un pool d'insectes sensibles qui vont se croiser avec les individus résistants se développant sur les plantes *Bt*.

La stratégie HDR semble, d'après les simulations informatiques, pouvoir retarder l'évolution de la résistance de plusieurs années. Cependant de nombreux aspects de la génétique, de l'écologie ou de l'environnement des insectes phytophages, susceptibles de modifier les résultats des simulations, ont souvent été négligés. De plus les modèles génétiques ont souvent ignoré les résultats des modèles économiques liés à la mise en place des zones refuge et *vice versa*. Aussi l'objectif de ce projet était de réévaluer l'efficacité des stratégies de gestion de la résistance proposées jusqu'à présent en prenant notamment en compte le coût économique de mise en place et de maintien des stratégies de gestion. L'influence de l'évolution de la préférence des insectes phytophages et celle de l'impact des ennemis naturels des insectes phytophages ont également été étudiés mais pour des raisons de place ne seront pas présentés lors de cette restitution.

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

Nous avons dans un premier temps réalisé une analyse détaillée du plan de gestion des résistances mis en place aux Etats-Unis par l'EPA (Environmental Protection Agency) dans le cas du maïs *Bt*. Cette réglementation – la première qui ait été mise en place à grande échelle et de manière obligatoire pour la gestion des résistances – ne se limite pas seulement à définir une pratique à adopter par les agriculteurs ; elle inclut des procédures pour mesurer et encourager son application effective par les agriculteurs et un suivi de l'évolution de la résistance en champ. A partir d'un travail de documentation et d'une série d'entretiens auprès d'acteurs impliqués dans la mise en place de ce dispositif (EPA, firmes de biotechnologie, semenciers, chercheurs, association de producteur de maïs, Organisations Non Gouvernementales), nous avons montré que ces procédures de suivi du respect de la réglementation et de l'évolution de la résistance présentent certaines limites qui peuvent remettre en cause l'efficacité de la mise en place des zones refuges.

Nous avons dans un deuxième temps développé un modèle d'évolution de la résistance au maïs *Bt* afin de comparer deux stratégies de mise en place des zones refuges. La première repose, comme c'est actuellement le cas dans la stratégie HDR, sur l'obligation de planter des zones refuges tout en vérifiant leur mise en place effective. Une stratégie alternative serait d'augmenter le prix actuel des semences de maïs *Bt* par une taxe de telle sorte que ce surcoût incite – dans le cas de fortes infestations de pyrale – ou réfrène – dans le cas de faibles infestations par ce ravageur – la mise en place – ou non – de ces maïs. Un modèle économique couplé à un modèle de génétique des populations spatialement explicite nous a permis de montrer sur les deux stratégies peuvent limiter voir – sous certaines conditions – éviter l'évolution de la résistance. Toutefois, pour le cas de la pyrale du maïs, nos résultats montrent qu'imposer une taxe sur la semence de maïs *Bt* est une stratégie toujours moins efficace que celle obligeant les producteurs à maintenir des parcelles de maïs conventionnels en guise de refuge.

Cette approche présente les avantages et les limites habituels des modèles de simulation : calibrage soigneux pour représenter un cas réel, versus manque de généralité dans les mécanismes. Pour apporter un éclairage supplémentaire sur cette question, nous développons actuellement une version analytique simplifiée de ce modèle de simulation pour examiner de manière formelle comment l'hétérogénéité des attaques de bioagresseurs et la mobilité des bioagresseurs entre exploitations affectent le classement des deux instruments (taxe et refuge).

### Perspectives

L'analyse des stratégies économiques pourrait être développée dans plusieurs directions. Tout d'abord, les effets d'autres instruments de régulation que la taxe et le refuge pourraient être étudiés. Ensuite, le cadre pourrait être étendu pour prendre en compte la possibilité d'erreurs d'appréciation sur les caractéristiques des populations de pyrale (telles que leur taille). L'objectif serait alors d'étudier comment adapter la réglementation étant données ces erreurs d'estimation et d'estimer l'intérêt de mettre en place un dispositif de biovigilance si celui-ci permet de diminuer les erreurs d'estimation. Enfin, il serait intéressant d'étudier l'effet de l'introduction d'une nouvelle technique de lutte contre la pyrale. Ceci revient à faire varier l'horizon de temps envisagé pour le calcul du profit cumulé. Ensuite, différents scénarios peuvent être envisagés selon la probabilité que les pyrales résistantes aux toxines de *Bt* soient également résistantes à cette nouvelle technique de lutte. Ces recherches sont réalisées actuellement dans le cadre de deux projets pluridisciplinaires financés par programmes ADD et ECOGER.

Enfin, dans la plupart des modèles d'évolution de la résistance des insectes phytophages aux toxines de *Bt*, les différents génotypes ont une survie fixée, déterminée par le type de plantes sur laquelle ils se trouvent. Une des conditions nécessaires à l'efficacité de la stratégie HDR, souvent supposée dans les modèles mais rarement vérifiée dans la pratique, est que la dose de toxine produite par les plantes transgéniques est suffisamment élevée pour que les génotypes hétérozygotes soient tués. Or, la dose de toxine produite par les plantes varie au cours du temps : elle est plus forte en début de saison végétative lors des fortes synthèses protéiques nécessaires à la croissance. La dose de toxine produite peut également varier dans l'espace. Les variations spatiales peuvent aller de l'échelle des différents organes de la plante (expression de la toxine tissu-dépendante) à l'échelle de la région cultivée (utilisation de différents cultivars transgéniques). L'objectif serait d'étudier dans quelle mesure la stratégie HDR reste efficace s'il y a une variabilité inter-individuelle de la dose de toxine ingérée par les larves.

### Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

- Ambec S. Régulation des risques relatifs au développement de résistance chez les insectes. INRA Sciences Sociales, n°4-5/04, janvier 2004, 2 pages. <http://www.inra.fr/esr/publications/iss/pdf/iss04-4Ambec.pdf>.
- Ambec S. & Desquilbet M. Pest resistance regulation and pest mobility. Présenté au congrès de l'American Agricultural Economics Association, Long Beach, 23-26 Juillet 2006.
- Bourguet D., Desquilbet M. & S. Lemarié. 2003. Le dispositif des zones refuges liées au maïs *Bt* aux Etats-Unis: Ce qu'il peut apprendre aux Européens. *Phytoma*. (559), 20-24. Paru aussi dans *Le Courrier de l'Environnement de l'INRA* (48), 82-88. <http://www.inra.fr/dpenv/bourgc48.htm>
- Bourguet D., Desquilbet M. & S. Lemarié. 2005 Regulating insect resistance management: the case of non-*Bt* corn refuges in the US. *Journal of Environmental Management* 76: 210-220.
- Vacher C., Bourguet D., Desquilbet M., Lemarié S., Ambec S. & M.E. Hochberg. 2006. Fees or refuges: which is better for the sustainable management of insect resistance to transgenic *Bt* corn? *Biology Letters*. 2: 198-202.
- Vacher C., Brown S.P. & Hochberg M.E. 2005. Avoid, Attack Or Do Both? Behavioral And Physiological Adaptations In Natural Enemies Faced With Novel Hosts. *BMC Evolutionary Biology* 5: 60.

## Impact des plantes génétiquement modifiées sur la communauté microbienne du sol

Présenté par : Pascal SIMONET  
Mail : pascal.simonet@ec-lyon.fr

### Titre des projets concernés, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Dissémination des (trans)gènes des plantes transgéniques nucléaires et transplastomiques aux microorganismes du sol et de la plante** (2003-06), SIMONET Pascal<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projet 2002 du CNRS*

**Caractérisation des événements de transfert d'ADN se réalisant au champ entre plantes transgéniques et bactéries du sol. Caractérisation génétique et physiologique** (2005-07), SIMONET Pascal<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2004*

**Caractérisation des événements de transfert d'ADN se réalisant au champ entre plantes transgéniques et bactéries du sol. Impact sur la communauté microbienne** (2005-07), SIMONET Pascal<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projet 2004 du CNRS*

**Impact des plantes OGM sur les bactéries du sol. Effet direct du transgène ou après transfert dans une bactérie (PloBen)** (2006-08), SIMONET Pascal<sup>1</sup>, DESSAUX Yves<sup>2</sup>, RATET Pascal<sup>2</sup>, BURET François<sup>3</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projet ANR-OGM 2005*

<sup>1</sup>UMR5557 Ecologie Microbienne, CNRS/Univ. Lyon1, Villeurbanne ; <sup>2</sup>UPR2355 Institut des sciences du végétal, CNRS, Gif sur Yvette, <sup>3</sup>UMR5005 Centre de génie électrique de Lyon, CNRS, Ecully

**Mots clefs** : OGM, Bactéries, transfert de gènes, impact, blaTEM1, sol, communauté microbienne.

### Résumé

L'échange horizontal d'ADN entre bactéries est un mécanisme clé de l'évolution bactérienne et, selon les données de la génomique confirmées par des approches expérimentales ces transferts de matériel génétique peuvent se réaliser à des fréquences importantes dans certains environnements. C'est sur cette base qu'il est apparu indispensable d'évaluer les possibilités de transfert du transgène des plantes OGM vers les bactéries du sol ou de la plante ainsi que l'impact potentiel de tels événements sur la structure de la communauté bactérienne.

Nos stratégies de travail se situent à 2 niveaux : A celui du laboratoire d'abord en recherchant les situations les plus susceptibles de permettre le transfert d'ADN entre plantes et bactéries et en étudiant les différents paramètres tant biotiques qu'abiotiques régulant les transferts d'ADN. Ces approches nous ont conduits à définir 3 types de barrières s'opposant à la dissémination du matériel génétique, les barrières physiques, physiologiques et génétiques. Sous le terme « barrière physique » peut être regroupé tout facteur limitant le contact physique entre l'organisme donneur et plus particulièrement son matériel génétique et la bactérie réceptrice. Par exemple, différents travaux ont déterminé le niveau de dégradation chimique et enzymatique de l'ADN libéré lors de la sénescence des cellules de la plante, le potentiel de persistance de l'ADN dans le sol. Ces travaux ont montré que si la grande majorité de l'ADN est rapidement dégradée, une partie de l'ADN peut persister dans le sol sur plusieurs années et garde la possibilité de transformer génétiquement des bactéries. L'acquisition d'ADN végétal par les bactéries se réalise par le mécanisme de transformation naturelle qui nécessite le développement d'un stade physiologique de compétence. Or, dans un environnement oligotrophe comme le sol, les bactéries survivent principalement dans un stade de vie très ralenti ce qui constitue une « barrière physiologique » au transfert. Enfin, l'ADN exogène qui a pénétré une cellule bactérienne doit échapper à deux types de mécanismes cellulaires, ceux liés à la restriction ou la modification de l'ADN pénétrant et ceux qui vont s'opposer à l'intégration dans le génome récepteur de l'ADN exogène. Cette « barrière génétique » dépend du niveau de similarité entre ADN donneur et receveur et s'oppose par exemple à l'intégration des gènes de la plante (hors transgène) comme le montrent les



données de la génomique bactérienne où très peu de gènes ayant une origine végétale ont été détectés dans les séquences des nombreux génomes bactériens disponibles. Différents types de travaux nous ont permis de montrer qu'il existe plusieurs situations environnementales qui peuvent être qualifiées de « hot spots » au sein desquelles les échanges de gènes entre bactéries et entre organismes eucaryotiques et procaryotiques peuvent se réaliser à des fréquences détectables et même significatives.

Une première situation de « hot-spot » est celle de la plante confrontée à l'infection par un pathogène qui en désorganisant les tissus et lysant les cellules végétales libère l'ADN végétal au contact de cellules bactériennes en phase active de multiplication, que ces cellules soient celles du pathogène ou de bactéries endophytes naturelles ou opportunistes. Une autre situation de type « hot-spot » est constituée par le matériel végétal en décomposition. Les conditions qui prévalent alors accroissent les potentialités de transfert de gènes du fait de la libération de l'ADN végétal et d'une très active multiplication des cellules bactériennes du sol colonisant cet écosystème.

En fait, les résultats expérimentaux obtenus à partir de ces expérimentations réalisées en serres ou en chambres de culture démontrent clairement que la seule barrière susceptible de s'opposer efficacement au transfert d'ADN est la barrière génétique. C'est cependant cette dernière barrière qui, du fait de la présence de séquences procaryotiques dans les génomes végétaux est considérablement affaiblie quand on considère les plantes OGM.

Le second niveau d'étude est celui du terrain pour lequel nos approches ont visé à rechercher des preuves moléculaires d'un transfert d'ADN plantes-bactéries dans du sol de parcelles expérimentales cultivées plusieurs années consécutivement avec des maïs contenant l'événement Bt176. Ces travaux ont été effectués à partir d'isolats résistants à l'ampicilline sur la base d'un possible transfert du gène *bla*<sub>TEM116</sub> du transgène et par une approche métagénomique basée sur l'extraction de l'ADN à partir du sol. Ces objectifs nous ont conduits à étudier la diversité naturelle du gène *bla* *in situ* ainsi que les éléments qui permettraient de démontrer ou réfuter le rôle du maïs Bt176 dans la constitution d'un réservoir de gènes de résistance aux antibiotiques dans les bactéries du sol. Enfin, par une approche de puces à ADN taxonomiques qui présente un niveau de sensibilité de 10 à 100 fois plus élevé que les autres méthodes d'empreintes génétiques nous avons recherché l'impact potentiel qu'aurait pu avoir la culture de ces plantes OGM sur la communauté bactérienne par rapport à la culture de lignées non transgéniques apparentées.

## Principaux résultats obtenus et applications envisageables

### ***Caractérisation de « hot-spots » de transferts de gènes dans les environnements liés à la plante.***

De nombreux travaux ont été réalisés depuis une quinzaine d'années en vue de détecter des événements de transfert de gènes se réalisant dans le sol par le mécanisme de la transformation naturelle. Les résultats ont montré que le développement du stade de compétence des bactéries naturellement transformables est certainement le facteur limitant principal. Toutefois, ces résultats négatifs sont surtout imputables aux limites des méthodologies utilisées qui ne prennent que peu en compte l'hétérogénéité spatiale de la matrice tellurique et souffrent d'un manque de sensibilité. Les preuves indirectes de la réalisation de transferts de gènes dans le sol par transformation génétique naturelle sont nombreuses et en toute logique l'acquisition des gènes des transgènes des plantes transgéniques par les bactéries du sol ne doit pas faire exception. Nous avons cependant montré que les environnements liés à la plante sont susceptibles de permettre le transfert de gènes plantes transgéniques-bactéries à des fréquences plus élevées. En effet, ces environnements que sont une plante infectée par un pathogène ou dans son processus naturel de décomposition réunit les conditions favorables au transfert que sont une active multiplication bactérienne, la possibilité pour les bactéries naturellement transformables de développer un stade de compétence et ceci au contact de l'ADN libéré par la plante. Ces hypothèses ont été confirmées expérimentalement dans le cas d'un tabac transplastomique en décomposition ou infecté par le pathogène *Ralstonia solanacearum* et la bactérie opportuniste *Acinetobacter baylii*. Les objectifs des travaux futurs sont d'affiner cette notion de « hot-spot » de transfert de gènes en incluant par exemple des travaux sur la rhizosphère, interface entre le sol et la plante. Ils sont aussi d'étudier le rôle que peuvent avoir d'autres mécanismes que la transformation génétique naturelle, comme la perméabilisation des enveloppes cellulaires par voie chimique ou physique. Des travaux sont en cours dans le cadre de l'ANR OGM (projet Ploben) pour évaluer l'influence des paramètres électriques liés à la décharge de foudre sur l'électrotransformabilité naturelle des bactéries du sol. Considérant les importantes quantités d'ADN végétal persistant à l'état extracellulaire dans le sol, ces mécanismes de transfert de gènes pourraient avoir un rôle beaucoup plus qu'anecdotique dans la dispersion des transgènes parmi la microflore.

### **Démonstration de l'importance de la barrière génétique comme principal mécanisme régulateur du transfert de gènes plante OGM-bactéries.**

Une question fondamentale dans le débat sur les plantes transgéniques et leur impact sur la microflore du sol concerne la spécificité des gènes des transgènes par rapport aux autres gènes de la plante d'être transférés aux organismes procaryotiques. Les résultats expérimentaux sont très clairs, la présence de séquences d'ADN d'origine procaryotique dans le génome de la plante accroît de façon très importante la capacité d'intégration des gènes correspondant dans les génomes bactériens. La barrière génétique est fortement affaiblie pour ces gènes qui seront reconnus par les bactéries comme d'autres gènes procaryotiques et non pas comme de l'ADN de plante. Des travaux en cours visent à évaluer pour des transgènes modèles les possibilités de recombinaison avec les génomes bactériens (similarité de séquences) et de relier ces potentialités avec la capacité de ces organismes à développer un stade d'(électro-)compétence mais également de coloniser une plante saine ou en décomposition.

### **Visualisation des événements de transformation in situ.**

Un premier élément de réponse concernant la fréquence de réalisation d'événements de transferts de gènes entre plantes et bactéries a été apporté avec l'utilisation d'outils moléculaires et de microscopie qui permettent de visualiser les transformants. Ces méthodologies permettent en effet de différencier entre événements de transferts indépendants et multiplication clonale à partir d'un événement unique.

### **Etude de la diversité naturelle du gène bla dans les bactéries indigènes du sol.**

La principale préoccupation liée à la culture en plein champ de certaines plantes transgéniques concernait la dispersion du gène de résistance à l'ampicilline à la microflore du sol puis aux bactéries pathogènes de l'homme. Selon un tel scénario, les plantes transgéniques pourraient devenir responsables de la perte d'activité de certains antibiotiques en permettant la diffusion des gènes de résistance. Selon, nos travaux (voir plus haut) de tels événements de transferts sont non seulement très probables mais certainement inévitables. Cependant, une autre partie de nos études montre que les conséquences sur la microflore du sol et plus particulièrement sur les germes résistants aux antibiotiques sont nulles. Le sol est en effet un véritable réacteur dans lequel les mécanismes d'évolution des gènes par mutations ponctuelles ou transfert horizontal contribuent à constituer un réservoir de gènes de résistance aux antibiotiques très important disponible pour les microorganismes pathogènes de l'homme.

### **Etude de l'impact de la culture du maïs Bt176 sur la structure de la communauté bactérienne du sol.**

En complément de l'étude d'impact mentionnée ci-dessus mais limitée aux germes résistants aux antibiotiques, des approches d'évaluation de la composition de la communauté bactérienne totale par puces à ADN de type taxonomique ont confirmé l'absence totale d'impact de la plante transgénique (maïs Bt176) par rapport à une plante non transgénique et ceci même sur des sols soumis à une culture intensive de ces végétaux sur une durée supérieure à 10 ans. Il convient toutefois de rappeler que l'impact des plantes transgéniques doit être évalué au cas par cas, la nature du transgène conditionnant la réactivité de la microflore tellurique. Deux cas peuvent se présenter liés soit à l'expression directe des gènes du transgène par le végétal susceptibles d'affecter la microflore endophytique ou rhizosphérique soit au transfert à une bactérie de gènes susceptibles d'accroître sa valeur adaptative (fitness) déséquilibrant ainsi la structure de la communauté. Le projet ANR présenté ci-dessous a été proposé pour répondre à ces deux types de situations.

## **Perspectives**

Les perspectives sont actuellement en cours de réalisation dans le projet ANR-OGM « **Impact des plantes OGM sur les bactéries du sol. Effet direct du transgène ou après transfert dans une bactérie (PloBen)** »

La finalité du projet ANR actuellement en cours de réalisation est directement liée aux conclusions de travaux précédents qui démontraient la nécessité de considérer les études d'impact au cas par cas, l'impact potentiel sur la microflore dépendant de la nature des transgènes. Les expérimentations conduites en conditions confinées dans des systèmes de type micro- ou méso-cosmes ont été définies en choisissant des transgènes susceptibles de maximiser les effets sur la microflore tellurique. Les objectifs sont de pouvoir utiliser ces données comme référence pour définir les risques de transgènes à vocation agronomique.

Comme indiqué dans le titre le projet vise à étudier l'impact direct de la plante sur la communauté bactérienne ou bien après transfert du transgène dans des bactéries du sol.

L'effet direct du transgène sur la microflore sera étudié dans le cadre de plantes GM (tabacs, *Medicago*) dont le transgène code la synthèse de molécules de la classe des N-acyl homosérine lactones (N-AHSL) qui interviennent dans un système de régulation de la transcription chez les bactéries, appelé quorum-sensing (ou QS) couplant densité bactérienne et expression de gènes. Ces véritables « hormones bactériennes », perçues à des concentrations picomolaires, ont été choisies pour leur effet potentiel fort sur la microflore associée au végétal. La seconde série de plantes sera développée pour produire dans la rhizosphère des lactonases qui dégradent les N-AHSL susceptibles d'entraîner également de fortes modifications de la communication cellulaire entre bactéries.

Le second volet de l'étude vise à étudier les fréquences de transfert du transgène à la microflore bactérienne dans les conditions biotiques et abiotiques les plus propices à la réalisation de ces événements de flux de gènes. Du fait du nombre important de copies du transgène par cellule (de 5 000 à 10 000) des plantes transplastomiques contenant des inserts avec des gènes marqueurs hautement sélectifs seront utilisées. La fréquence des transferts sera déterminée dans différents types d'écosystèmes considérés comme des « hot spots » dans lesquels ADN de plante et bactéries sont en contact, comme lors d'une infection par un pathogène ou pendant la décomposition naturelle des tissus de la plante lors de la sénescence. Les travaux se focaliseront sur 2 types de mécanismes de transfert de gènes, la transformation naturelle codée génétiquement et l'électroporation naturelle telle qu'elle peut se produire lors de la décharge de foudre dans le sol. Sur ce dernier point, un important travail de fond sera mené pour déterminer les différents paramètres conduisant à la perméabilisation des cellules et la pénétration de l'ADN. L'impact d'un possible transfert génétique sera étudié dans le cas d'un transgène comportant le gène *linA*, assurant la première étape de dégradation du lindane. Ce gène, absent dans les bactéries de sols non soumis à une pollution récurrente au lindane possède également l'avantage de coder une enzyme très spécifique susceptible de conférer un accroissement du potentiel adaptatif de la bactérie recombinante en présence de lindane.

Les différentes mesures d'impact, que ce soit par expression directe du transgène ou après transfert génétique dans une bactérie du sol seront effectuées sur des populations bactériennes déterminées mais aussi sur la communauté bactérienne dans son ensemble par des techniques PLFA, ARISA, DGGE et puces à ADN taxonomiques (phylochips).

<b>Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI et des appels à projets du CNRS et de l'ANR</b>
--

- Kay, E., T. M. Vogel, F. Bertolla, R. Nalin and P. Simonet. 2002. In situ transfer of antibiotic resistance genes from transgenic (transplastomic) tobacco plants to bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:3345-3351.
- Kay, E., F. Bertolla, T. M. Vogel and P. Simonet. 2002. Opportunistic Colonization of *Ralstonia solanacearum*-Infected Plants by *Acinetobacter* sp. and Its Natural Competence Development. *Microb. Ecol.* 43:291-297.
- Ceccherini, M., J. Pote, E. Kay, V. T. Van, J. Marechal, G. Pietramellara, P. Nannipieri, T. M. Vogel and P. Simonet. 2003. Degradation and Transformability of DNA from Transgenic Leaves. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:673-678.
- Pote, J., M. T. Ceccherini, V. T. Van, W. Rosselli, W. Wildi, P. Simonet and T. M. Vogel. 2003. Fate and transport of antibiotic resistance genes in saturated soil columns. *Eur. J. Soil. Biol.* 39:65-71.
- Kay, E., G. Chabrilat, T. M. Vogel and P. Simonet. 2003. Intergeneric transfer of chromosomal and conjugative plasmid genes between *Ralstonia solanacearum* and *Acinetobacter* sp. BD413. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 16:74-82.
- Cérémonie, H., F. Buret, P. Simonet and T. M. Vogel. 2004. Isolation of lightning-competent soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6342-6346.
- Mercier, A., E. Kay and P. Simonet. 2006. Horizontal gene transfer by natural transformation in soil environment. In Nannipieri, P. and K. Smalla (ed.), *Nucleic Acids and Proteins in Soils*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Cérémonie, H., F. Buret, P. Simonet and T. M. Vogel. 2006. Natural Electrotransformation of Lightning-Competent *Pseudomonas* sp. Strain N3 in Artificial Soil Microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:2385-2389.

Autres publications en préparation.

## Persistence des *Agrobacterium* vecteurs de transformation au cours des générations dans les *Arabidopsis* transformés.

Présenté par : Xavier NESME  
Mail : nesme@univ-lyon1.fr

**Titre du projet concerné, Coordonnateur et Responsables Scientifiques des équipes impliquées**

**Devenir des agrobactéries - espèces-pivots de la dissémination des gènes - dans le sol et la plante**  
(2003-05), Xavier NESME<sup>1</sup>, Annie CHABOUD<sup>2</sup>, Philippe OGER<sup>3</sup>

Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001

<sup>1</sup>UMR5557 Ecologie Microbienne, CNRS/UCB-Lyon1/INRA, Villeurbanne ; <sup>2</sup>UMR5667 Reproduction et Développement des Plantes, CNRS/INRA/ENS-Lyon/UCB-Lyon1, Lyon ; <sup>3</sup>Laboratoire de Sciences de la Terre, ENS-Lyon, Lyon

**Mots clefs :** *Agrobacterium*, persistance, vecteur, plasmide binaire, plantes transgéniques, endophyte.

### Résumé

La bactérie *Agrobacterium* est largement employée pour la transformation génétique des plantes. Des publications ont montré que, malgré les traitements antibiotiques destinés à les éliminer, les agrobactéries transformantes pouvaient persister plusieurs mois dans des plantes transformées obtenues par culture de tissus ou régénération et multipliées de manière végétative. Cependant, les agrobactéries étaient localisées dans les parties basales des plantes et n'étaient pas détectées dans les apex ou organes floraux. *Agrobacterium* est également utilisée pour la construction d'*Arabidopsis* mutants par transformation directe du gamétophyte femelle. Dans ce cas, la transformation se fait par trempage des hampes florales, et production de graines hémizygotés pour le transgène parmi la descendance. La sélection est opérée tardivement sur les plantes issues des semences produites par les fleurs immergées sur la base de la résistance à un herbicide apportée par le T-DNA. Cette méthode de sélection ne nécessitant pas l'utilisation d'antibiotique, les agrobactéries transformantes sont donc susceptibles de persister dans les plantes inoculées, et à ce jour, rien n'est connu de leur transmissibilité par les semences. Dans le cadre de l'étude de l'impact des OGM et de la possible dissémination des transgènes dans l'environnement, nous nous sommes intéressés à évaluer la persistance dans la plante des agrobactéries utilisées pour transformer *Arabidopsis*. Pour cela, nous avons construit un plasmide vecteur binaire (pTEST-OGM) dérivé de pCAMBIA 3300 présentant le gène *bar* de résistance au glufosinate dans le T-DNA pour la sélection des plantes transgéniques, le gène *nptIII* de résistance à la kanamycine et à la néomycine et le gène de la GFP tous deux exprimés dans la bactérie pour en faciliter l'isolement et le repérage dans les tissus végétaux. pTEST-OGM a été introduit dans une souche dérivée d'*Agrobacterium* C58 résistante à la rifampicine et hébergeant le plasmide Ti désarmé pMP90 portant le gène de la résistance à la gentamicine. La souche C58 (pMP90, pTEST-OGM) a été utilisée pour transformer des plants d'*Arabidopsis thaliana* cv. Col 0 par trempage des hampes florales. La présence de C58 (pMP90, pTEST-OGM) a ensuite été recherchée dans les plantes et les semences obtenues aux générations T0, T1, T2 et T3 en utilisant le marquage à la GFP et les résistances aux antibiotiques. Nos résultats d'isolement sur milieux sélectifs montrent sans ambiguïté que C58 (pMP90, pTEST-OGM) persiste au cours des générations successives d'*Arabidopsis* impliquant la transmission des agrobactéries par les semences. De plus, les bactéries hébergeant le plasmide binaire contenant le transgène peuvent persister plusieurs mois dans les semences sèches à température ambiante sans pression de sélection favorable (i.e. kanamycine). Le taux de contamination est cependant très bas, de l'ordre de 1 ufc (unité formatrice de colonie) par lot de 450 graines. Cette contamination à bas bruit rend difficile la localisation précise des agrobactéries dans les tissus végétaux. Néanmoins, des tests complémentaires suggèrent que les agrobactéries colonisent l'intérieur des téguments de la graine et seraient ainsi protégées des désinfections de surface. Les agrobactéries étant des micro-organismes telluriques, leur possible transmission par les semences pourrait en outre conduire à la contamination des substrats de culture des plantes. Nos résultats confirment la nécessité de vérifier systématiquement l'absence des agrobactéries utilisées comme vecteur pour la construction de plantes transgéniques sélectionnées sur la base de leur résistance à un herbicide y compris les PGM multipliées par semences. Il convient également de rester vigilant et de détruire les substrats horticoles pour éliminer tout risque de dissémination accidentelle de la bactérie transformante.

## Principaux résultats obtenus et applications envisageables

### Principaux résultats

- 1- Tout de suite après la récolte des graines, la majorité des lots de semences obtenues à partir des hampes florales immergées dans une suspension de C58 (pMP90, pTEST-OGM) – génération T0 - hébergent la bactérie.
- 2- Des semences issues des plantes transgéniques sélectionnées ultérieurement sur la base de leur résistance au glufosinate – générations T1, T2, T3 - hébergent C58 (pMP90, pTEST-OGM). Le taux de contamination est faible, de l'ordre de 1 agrobactérie pour 6 lots de 450 graines. Ce résultat témoigne néanmoins de la capacité endophyte de C58 – la souche d'agrobactérie la plus utilisée en génie génétique au-moins vis-à-vis d'*Arabidopsis thaliana*. Cv. Col 0.
- 3- Le plasmide binaire portant le transgène (pTEST-OGM) se maintient plusieurs mois chez *Agrobacterium* hébergé par des semences conservées à température ambiante même en absence de pression de sélection favorable (i.e. kanamycine). C'est donc le système générateur de plantes transgéniques dans son intégralité – et donc potentiellement fonctionnel vis-à-vis de nombreux végétaux - qui persiste et peut être disséminé au cours des générations.
- 4- Une stérilisation de surface des graines par des vapeurs de chloroforme n'élimine pas les agrobactéries qui semblent de ce fait protégées par les téguments, suggérant la nature endophyte des agrobactéries transmises par les semences.

### Applications envisageables

Nos résultats confirment la nécessité de vérifier systématiquement l'absence des agrobactéries utilisées pour construire des plantes transgéniques sélectionnées sur la base de leur résistance à un herbicide y compris les PGM multipliées par semences. Il convient également de rester vigilant et de détruire les substrats horticoles pour éliminer tout risque de dissémination accidentelle de la bactérie transformante.

## Perspectives

L'utilisation de bactéries transformantes ne présentant pas de capacités endophyte ou tellurique (i.e. ne survivant pas dans les plantes ou dans les substrats horticoles) permettrait d'augmenter le degré de confinement des manipulations génétiques. Cette précaution réduirait le risque de dissémination involontaire non seulement du transgène mais du système biologique mis au point pour générer des PGM avec la plupart des plantes dicotylédones ou gymnospermes.

## Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI

Chapulliot D., Oger P., Chaboud A., Chambrier P., Monier J.M., Oger-Desfeux C., Nesme X. 2006. Persistence des *Agrobacterium* vecteurs de transformation au cours des générations dans les *Arabidopsis* transformés. 7<sup>e</sup> « Rencontres Plantes-Bactéries », Aussois. (affiche)

Chapulliot D., Oger P., Chaboud A., Chambrier P., Monier J.M., Oger-Desfeux C., Nesme X. Persistence of engineered *Agrobacterium* in transformed *Arabidopsis* over generations. (en préparation)

## Etude d'interactions écologiques : impact de plantes génétiquement modifiées sur la microflore de la rhizosphère

Présenté par : Yves DESSAUX  
Mail : dessaux@isv.cnrs-gif.fr

### Titre des projets concernés, Coordonnateurs et Responsables Scientifiques des équipes impliquées

**Etude d'interactions écologiques : impact de plantes génétiquement modifiées, productrices de quoromones sur la microflore de la rhizosphère** (2003-05), Yves DESSAUX<sup>1</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'appel à projets 2002 du CNRS*

**Impact de plantes génétiquement modifiées sur la microflore de la rhizosphère : cas d'une culture de maïs GM, cas de Tabac GM producteurs de quoromones** (2003-05), Fabrice MARTIN-LAURENT<sup>1</sup>, Yves DESSAUX<sup>2</sup>

*Projet soutenu dans le cadre de l'ACI 2001*

<sup>1</sup>UMR1229 Microbiologie et Géochimie des Sols (MGS), INRA/Univ. Bourgogne, 21065 Dijon ; <sup>2</sup> UPR 2355 Institut des Sciences du Végétal, CNRS, Gif sur Yvette

**Mots clefs** : OGM végétaux, impact, rhizosphère, maïs Bt, quorum-sensing, quoromone, microflore du sol.

### Résumé

Les projets proposés visaient à évaluer l'**impact de la culture de plantes génétiquement modifiées sur la microflore bactérienne et fongique qui colonise la rhizosphère des végétaux**. Deux modèles végétaux ont été retenus : le maïs avec 2 types d'OGM (Bt et résistance of glyphosate ; plantes d'intérêt agronomique) et le tabac producteur de molécules signal bactériennes très puissantes – dites quoromones – les N-acyl-homosérine lactones (N-AHSL ; démonstrateur pour les études d'impact).

#### 1. Cas du maïs transgénique :

Des expérimentations visant à évaluer l'impact de la culture de maïs transgénique et des pratiques culturales associées sur la microflore du sol et de la rhizosphère, ont été menées sur une parcelle plantée d'une lignée de maïs résistante au glyphosate (NK603) et de deux lignées BT (BT11 et BT176) depuis 1995. Les analyses des paramètres physico-chimiques et de certains paramètres biologiques (biomasse microbienne notamment) ont révélé l'existence d'un gradient physico-chimique important dans la parcelle. La mesure de l'impact de la culture des différentes lignées de maïs transgéniques sur la structure (a) des communautés microbiennes (mesurée par A-RISA), (b) des communautés fongiques (mesurée par T-RFLP), (c) la structure et l'activité de communautés dénitrifiantes, et (d) la densité et l'activité de communautés dégradant l'atrazine n'a pas mis en évidence d'effet génotype. Seuls des effets temporels et rhizosphère ont été mis en évidence. Enfin, l'analyse de la structure des communautés des symbiotes libres fixateurs d'azote et celle des populations de champignons mycorhizogènes ne permettent pas de conclure quant à un effet éventuel des maïs transgéniques. **En résumé, les différentes approches mises en jeu n'ont pas révélé d'effet significatif de la culture de maïs transgéniques sur la structure, la densité et l'activité des communautés microbiennes fonctionnelles telluriques analysées.**

#### 2. Cas des végétaux producteurs de quoromones :

Deux lignées quasi – isogéniques ont été cultivées en sol de référence non stérilisé, l'une sauvage et l'autre produisant de l'hexanoyl homosérine lactone (C6-HSL) et son dérivé céto, la 3O-C6-HSL. Les populations bactériennes colonisant la rhizosphère de ces plantes ont été analysées à différents stades de la culture et en comparaison avec celles du sol nu. Les dénombrements de diverses populations bactériennes n'ont **pas fait ressortir de différence majeure entre individus issus de la rhizosphère de la lignée sauvage et ceux issus de la rhizosphère de la lignée productrice de N-AHSL**. Un **résultat similaire** est observé lors du dénombrement des membres des communautés utilisatrices de signaux N-AHSL ou dégradant ce signal. La plupart (90 à 98%, selon les auteurs) des microorganismes telluriques et rhizosphériques restant non cultivables, ces populations ont dû être étudiées par des techniques permettant de s'affranchir de leur état de cultivabilité (l'analyse des profils d'esters méthyliques d'acide gras ou FAME et l'analyse en gradient dénaturant d'amplifiats du gène *rrs* ou DGGE). **L'analyse FAME ne révèle pas de différence de structure de population, fonction de la rhizosphère d'origine**, ni de différence relative à l'état de stress (vis à vis

des nutriments ou de la présence d'antibiotiques). **L'analyse par DGGE** a permis d'accéder à des genres qui auraient été masqués lors des analyses impliquant la cultivabilité de l'échantillon mais **n'a pas révélé, non plus, de différence majeure entre les échantillons** issus de la rhizosphère de plantes sauvages et ceux issus de la rhizosphère de plantes transgéniques. Une analyse plus fine a été conduite en analysant le positionnement taxonomique des membres des communautés dégradant et communiquant par N-AHSL. Là aussi, **aucun impact du génotype végétal n'a été observé.**

### Principaux résultats obtenus et applications envisageables

#### 1. Cas du maïs transgénique :

Nos travaux ont révélé l'existence d'un gradient physico-chimique important dans la parcelle interférant avec l'effet biologique possible de la culture de maïs sur les paramètres microbiens évalués. Toutefois, elle a aussi révélé que la plupart des paramètres microbiens mesurés (structure globale des communautés microbiennes et fongiques, structure et activité des communautés dénitrifiantes, densité et activité des communautés dégradant l'atrazine) étaient affectés par des paramètres physico-chimiques (tel que la teneur en calcaire), temporels (temps de prélèvement) ou spatiaux (rhizosphère) tandis **qu'aucun effet lié à la culture des différentes lignées de maïs transgénique n'a été rapporté.**

#### 2. Cas des végétaux producteurs de quorumones :

**Aucun impact du génotype végétal n'a été observé** sur des populations bactériennes choisies arbitrairement, ainsi qu'aucun impact sur la microflore bactérienne cultivable et non cultivable, et sur des communautés fonctionnelles émettant, percevant et/ou dégradant le signal..

### Perspectives

#### 1. Cas du maïs transgénique :

Au regard des résultats obtenus au cours de cette étude, les perspectives de nos travaux s'inscrivent dans une démarche expérimentale qui sera menée dans des conditions contrôlées (expérimentation en serre) avec des lignées de maïs transgéniques (Bt) et les lignées isogéniques correspondantes de manière à évaluer l'impact de la culture de maïs OGM par comparaison à la lignée isogénique correspondante, sur la structure, la diversité et la densité de la microflore du sol en faisant abstraction des variations physico-chimique et spatio-temporelle.

#### 2. Cas des végétaux producteurs de quorumones :

La libération de quantités minimales de molécules dans les sols, parmi les plus actives connues à ce jour, n'affecte pas la composition de la microflore (voir données, *supra*). La comparaison des résultats présentés ci-dessus et ceux obtenus dans les études impliquant des plantes génétiquement modifiées productrices d'opine (Oger et al., *Nat/Biotechnol.* 15, 369-372, 1997 ; Oger et al., *Mol. Ecol.* 9, 881-890, 2000) suggère sans le démontrer que l'élément déterminant générateur d'un biais éventuel serait la quantité de carbone remise à disposition des micro-organismes via la rhizodéposition. Ce point là mériterait d'être vérifié.

### Publications issues des travaux soutenus dans le cadre de l'ACI et de l'appel à projets du CNRS

*Note : Les trois communications du partenaire 1 à des colloques ne sont pas listées ci-dessous.*

D'Angelo-Picard, C., D. Faure, A. Carlier, S. Uroz, A. Raffoux, R. Fray and Y. Dessaux (2004). Bacterial populations in the rhizosphere of tobacco plants producing the quorum-sensing signals hexanoyl-homoserine lactone and 3-oxo-hexanoyl-homoserine lactone. *FEMS Microbiology Ecology* 51, 19-29.

D'Angelo-Picard, C., D. Faure, I. Penot and Y. Dessaux (2005). Diversity of N-acyl homoserine lactone-producing and -degrading bacteria in soil and tobacco rhizosphere. *Environmental Microbiology* 7, 1796-1808

D'Angelo-Picard, C. (2005). Communication quorum-sensing : régulation génique chez *Pseudomonas* et structuration des populations rhizosphériques. *Thèse de doctorat en sciences*, Université de Paris XI, Orsay.

Philippot, L., Kuffner, M., Chénéby, D., Depret, G., Laguerre, G., Martin-Laurent F. (2006) Genetic structure and activity of the nitrate-reducers community in the rhizosphere of different cultivars of maize. *Plant and Soil* 287, 117-186.